

Polinización con abejas en la producción de soja.

Campaña 2023-2024. Resultados preliminares

Cavigliasso, Pablo. Grupo de Gestión Ambiental, Manejo y Conservación de Suelo y Agua. Estación Experimental Marcos Juárez (INTA). Ruta 12, km 3. Programa Nacional Apicultura (PROAPI). E-mail: cavigliasso.pablo@inta.gob.ar

La polinización es crucial para el 80% de las plantas con flores y mejora la producción del 75% de los cultivos importantes a nivel mundial (Dainese et al., 2019; Breeze et al., 2016). La disminución de los polinizadores plantea un riesgo para la producción agrícola (Potts et al., 2010; IPBES, 2016). La conservación de hábitats seminaturales cerca de áreas de producción intensiva puede beneficiar a los polinizadores y mejorar el rendimiento de los cultivos (Tscharntke et al., 2005; Garibaldi et al., 2016). Sin embargo, la dependencia de los polinizadores en cultivos intensivos, como la soja, aún no está completamente entendida (Reilly et al., 2020).

La soja, que domina la producción en Argentina con más de 15,8 millones de hectáreas anuales, es principalmente autógama pero también se beneficia de la polinización cruzada por insectos (Huais et al., 2020). Aunque la polinización por insectos mejora la producción de soja, los estudios muestran una reducción promedio del 30% en el rendimiento cuando los polinizadores están ausentes (da Cunha et al., 2023). La soja presenta un sistema reproductivo mixto con flores casmógamas y cleistógamas, lo que afecta su dependencia de los polinizadores en función del ambiente (Khan et al., 2008; Strelin et al., 2023).

Las abejas son los principales polinizadores de soja y su contribución económica es significativa en Argentina, estimada en 3330 millones de dólares anuales (Basualdo & Cavigliasso, 2023). Aunque la soja es autógama, permitir la polinización por abejas puede incrementar el rendimiento, con un aumento del 18.1% cuando se introducen colmenas de abejas (Milfont et al., 2013). Por lo tanto, se propusieron tres objetivos: estimar el efecto de la polinización biótica en la soja, determinar la contribución de *Apis mellifera*, y evaluar la rentabilidad de un servicio profesional de polinización.

Metodología

El área bajo estudio se encuentra dentro de la Estación Experimental Agropecuaria Marcos Juárez (Lat: 62°03'40"S; Lon: 32°42'48"O) del INTA y consta de 3 secciones productivas equivalentes (de ahora en más lotes) de ~26 ha cada una. Para nuestro estudio seleccionamos el lote intermedio (denominación de catastro "L14-2") para contar con información del contexto. Además, el mismo presentaba un área natural (macizo

arbóreo) de aproximadamente 1 ha en su zona central (Fig. 1) que nos permite aportar información sobre los efectos dados por estos componentes espaciales.

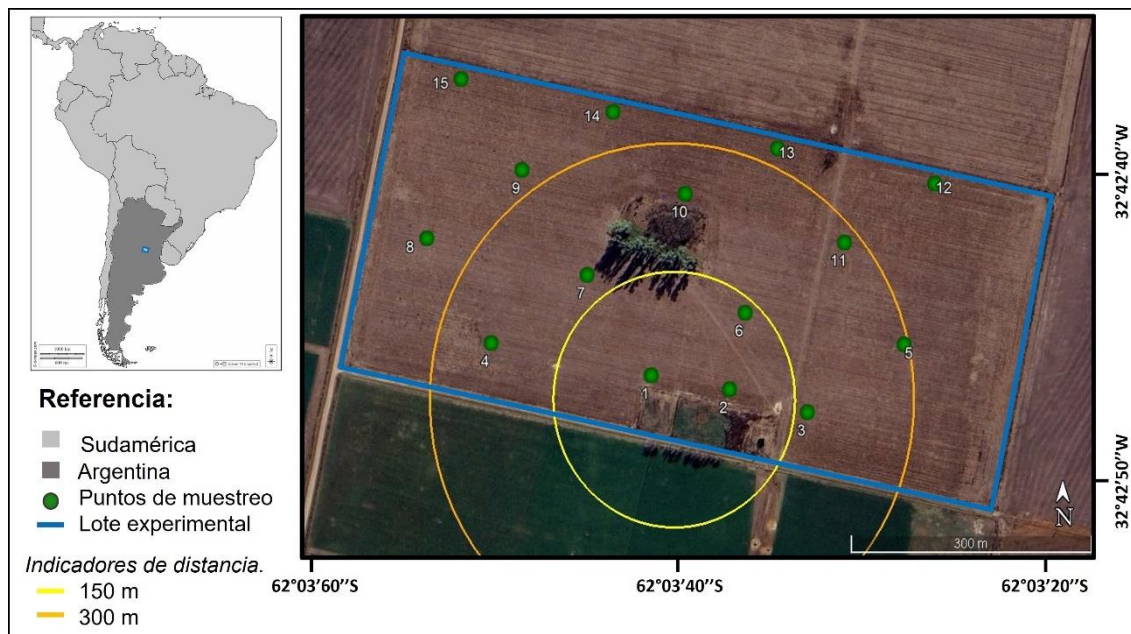


Figura 1. Ubicación del lote de estudio. Se presentan los límites definidos a la toma de datos y los puntos de muestreo designados de forma espacialmente explícita. En el centro de las áreas concéntricas fue ubicado el apiario de 10 colmenas de abejas melíferas. Las áreas concéntricas definen diferentes distancias desde las colmenas utilizada como fuente de abejas para polinización. Del punto 1 al 5 se ubicaron las jaulas de exclusión junto a las parcelas de polinización biótica.

Para la campaña 2024 en el lote bajo estudio se utilizó la variedad de soja de Don Mario “DM 46i24 IPRO”. Esta variedad pertenece al grupo de madurez 4.5 y es conocida por sus características destacadas en rendimiento y resistencia a enfermedades (tecnología INTACTA RR2 PRO, que ofrece resistencia a insectos lepidópteros y tolerancia a glifosato).

La fecha de siembra del lote fue a mediados de noviembre de 2023 en una densidad de siembra de 35 cm entre surcos. El 3 de enero de 2024 se constató que el cultivo estaba en R1 lo que inicio la etapa experimental. La cosecha fue realizada en R8 entre el 27 y 28 de marzo de 2024, veinte días antes de la cosecha mecánica (Cosechadora John Deere; equipo 9770 STS ALEMANO: 1CQ9770APA0090141).

El estudio se ha diseñado para contemplar la comparación de tratamientos reproductivos- productivos al mismo tiempo que se incorpora un diseño espacialmente explícito para evaluar la variabilidad de los datos frente a una serie de factores fijos (distancia a fuente de abejas melíferas, frecuencia de interacción de polinizadores).

Los tratamientos reproductivos de polinización fueron dos: *Polinización biótica* (n=15) y *Auto-polinización* (n=5). Cada unidad experimental consistió en la totalidad de plantas

generadas en una superficie de 1 m² y se estimó la formación de frutos (vainas formadas/flores iniciales), el llenado de las vainas (número de semillas/fruto) y la calidad de las semillas estimada mediante el peso (peso de 1000 semillas, peso / m²).

Para el tratamiento de *Auto-polinización* se realizaron jaulas de exclusión con estructura de madera de 1 pulgada y tela de tul de color blanco con una superficie de 1 x 1 m. Se utilizó este material de exclusión ya que es translucido y tiene un porcentaje bajo de reducción de la irradiación (~ 3%) además de que no tiene filtros UV. Se distribuyeron las 5 jaulas de exclusión dentro del lote bajo estudio de forma contigua a las 5 parcelas correspondientes al tratamiento de polinización biótica de la zona sur del lote (mayor cercanía a las colmenas de abejas melíferas, ver Fig. 1).

Para el tratamiento de *Polinización biótica* se seleccionaron 15 parcelas con una distribución espacialmente explícita dentro del lote de modo que la ubicación de cada punto individual este representando parte de la variabilidad del suelo y se encuentren a diferentes distancias de la fuente de polinizadores (posición de colmenas).

En el centro sur del lote, se introdujeron 10 colmenas dentro de un área acondicionada para tal fin y fueron distribuidas en grupos de 2 a lo largo de 100 m lineales. Las mismas ingresaron dentro del lote el 4 de enero y estuvieron hasta R5 (primera quincena de febrero) momento donde fueron retiradas y trasladadas a otra ubicación. Las mismas fueron gestionadas de forma convencional lo cual consiste en un manejo de colmenas en grupos centrales situados junto al campo y con un monitoreo semanal de su actividad de forrajeo. Este estilo de gestión es similar al que llevan a cabo muchos apicultores de todo el mundo.

Colección de datos

Indistintamente del tratamiento, se seleccionaron 3 plantas dentro de cada unidad muestral (parcela), tanto en la etapa R1 y R3 del cultivo de soja. En cada planta se seleccionaron 3 nudos consecutivos del eje principal de la zona central (R1) y 3 nudos consecutivos de la zona terminal (R3). En cada parcela, se evaluó el total de flores que llegaban a formar vainas (Fruit set) en 18 nudos.

La frecuencia de visitas a las flores se estimó sistemáticamente en todas las parcelas con polinización biótica. Para ello, se realizaron censos visuales de polinizadores registrando el número de flores visitadas por los polinizadores durante un periodo de 5 min (es decir, n° visitas/ flor * 5 min). Cada censo incluyó un grupo diferente de flores seleccionadas al azar (alrededor de 10 unidades florales por censo), en una localización aleatoria dentro de cada parcela. Estos censos de visitas se realizaron en todas las parcelas estudiadas el mismo día entre las 9 am - 5 pm, cambiando periódicamente el horario de censo en cada parcela para cubrir todo el rango horario a lo largo de las 4 fechas de censo distribuidas entre la etapa R1 y R4. Los censos de visitas se realizaron en días con un clima favorable para el forrajeo de las abejas, días soleados o parcialmente soleados en horas donde la temperatura es adecuada para su actividad. En total, se realizaron 180 censos de polinizadores dentro del lote, totalizando 15 horas de observación (es decir, 1 h por parcela).

Al momento de la cosecha, el total de las plantas comprendidas dentro de cada parcela fueron cosechadas a mano y colocadas en bolsas individuales. Las bolsas correspondientes a las 20 unidades muestrales totales fueron secadas a estufa durante el periodo de 5 días a 60 °C. Se pesó la biomasa total de cada bolsa antes de cosechar las semillas totales.

Al momento de la cosecha de las semillas, en primer lugar, se separaron 100 vainas por bolsa y se cuantificó el número de semillas por vaina (1, 2, 3 o 4) y se estimó su frecuencia relativa en la muestra. Luego, se cosecho las semillas totales contenidas en cada bolsa de forma independiente usando cosechadora de mesa para plantas individuales. Una vez cosechadas las semillas se cuantificaron mediante contador de semillas y se estimó el peso de 1000 semillas tantas veces fuera posible por parcela; además, del peso total de las semillas colectadas mediante balanza digital (precisión de 0,01 g).

Se utilizaron modelos generalizados lineales mixtos (GLMM) para todos los análisis realizados (Zuur et al., 2013). Utilizamos el criterio de información de Akaike (AIC) para seleccionar el modelo que mejor representaba nuestra variabilidad, eligiendo el modelo no nulo con el valor AIC más bajo (Bates et al., 2014; Bates, 2015).

Resultados

La frecuencia de visita media a las flores de soja fue de 0.04 (\pm 0.07) visitas / flor * 5 minutos. Esto quiere decir que, durante las horas de luz, en un periodo de 2 hora cualquiera de las flores presentes en el lote al menos han recibido 1 visita.

La frecuencia de visita de *A. mellifera* se vio afectada de forma significativa por la distancia a las colmenas. Se pudo calcular una reducción del 72.59 % de la frecuencia de visita de *A. mellifera* a más de 300 metros de las colmenas ubicadas junto al lote.

Las parcelas bajo polinización biótica produjeron un 34% más de frutos cuajados que las de auto-polinización (β = 0.41, SE = 0.14, Z = 2.89, P = 0.0038). Al respecto, en media (\pm SD), el 71 (\pm 8) % de las flores fructificaron en el tratamiento de polinización biótica, mientras que las plantas sometidas a auto-polinización mostraron solo que el 47 (\pm 6) % de las flores fructificaron (Fig 2-a).

Se observa, que el aumento de la frecuencia de visita de las abejas melíferas se tradujo en un aumento de la probabilidad de que una flor se convirtiera en fruto. Esta relación fue significativamente positiva (β = 1.70, SE = 1.68E-04, t = 10103, P < 2E-16). Esto quiere decir que a medida que aumenta la cantidad de visitas por flor aumenta el porcentaje de frutos formados (Fig 2-b).

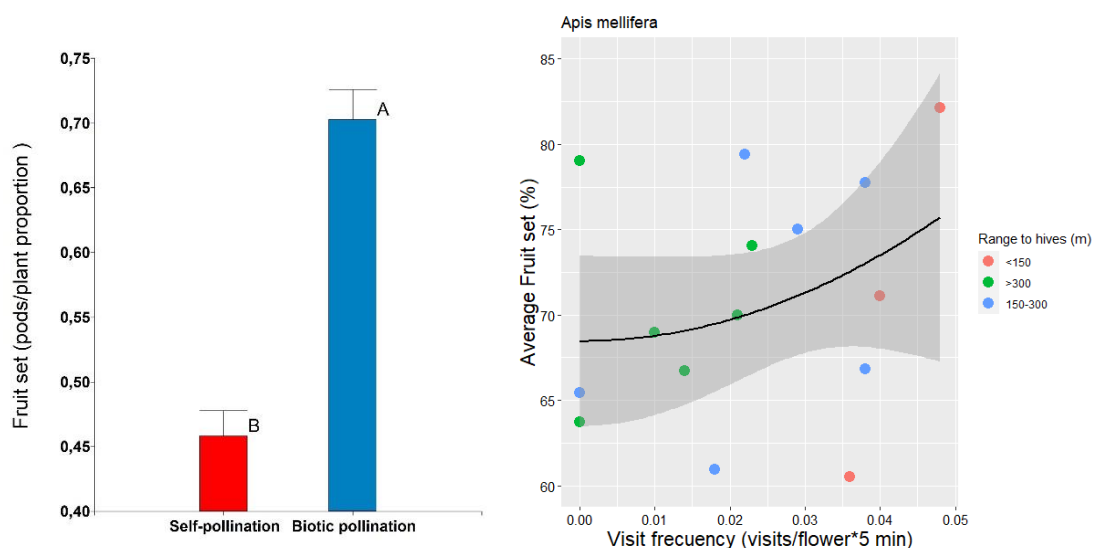


Figura 2. Formación de frutos de soja. a) Comparación del set de frutos producidos en plantas Auto-polinizadas y por polinización biótica (Letras diferentes muestran diferencias significativas). b) Relación entre la frecuencia de visita de las abejas melíferas a las flores de soja y la proporción de frutos formados.

Siguiendo la misma tendencia, las plantas de las parcelas bajo polinización biótica produjeron un 7.95 % más semillas por vainas que las plantas auto-polinizadas (Gamma, link=log; $\beta = 0.08$, SE = 0.01, $t = 7.55$, $P < 0.0001$) (Fig. 3-a). Esto se debe a que las vainas provenientes de plantas bajo polinización biótica tenían mayor probabilidad de generar 3 semillas (63.92 ± 2.70) que en plantas auto-polinizadas (47.06 ± 2.87) donde el mayor porcentaje de vainas contenían 2 o 3 semillas (Fig. 3-b).

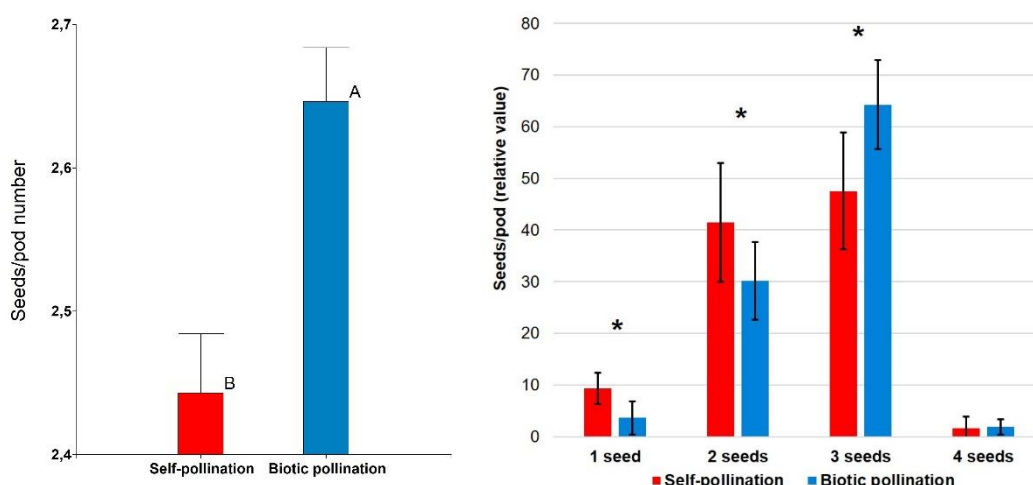


Figura 3. Formación de semillas/fruto de soja. a) Comparación del número de semillas por fruto generadas en plantas Auto-polinizadas y por Polinización biótica (Letras diferentes muestran diferencias significativas). b) Variación de porcentual de vainas con 1, 2, 3 y 4 semillas entre tratamientos (* diferencias significativas para la categoría).

Además, el peso de 1000 semillas estimado en las plantas que han recibido polinización biótica fueron un 3.96 % más pesadas que las auto-polinizadas ($\beta = 0.04$, $SE = 0.01$, $t = 2.87$, $P = 0.0041$) (Fig. 4.a). La sumatoria de los efectos estimados sobre el peso total de las semillas obtenidas resultó en un alza del 26.75% de su media y una reducción del 15.14 % de su variabilidad en las parcelas de polinización biótica en comparación con las de auto-polinización (Media peso total: $\beta = 0.33$, $SE = 0.06$, $t = 5.80$, $P < 0.0001$; SD peso total: $\beta = -0.16$, $SE = 4.3 \text{ E-}03$, $t = -38.03$, $P < 0.0001$) (Fig. 4.b). A modo de control, se comparó las métricas productivas obtenidas mediante cosecha manual con lo observado en los mapas de rendimiento generados por el monitor en cosechadora, no encontrando diferencias entre ambas estimaciones.

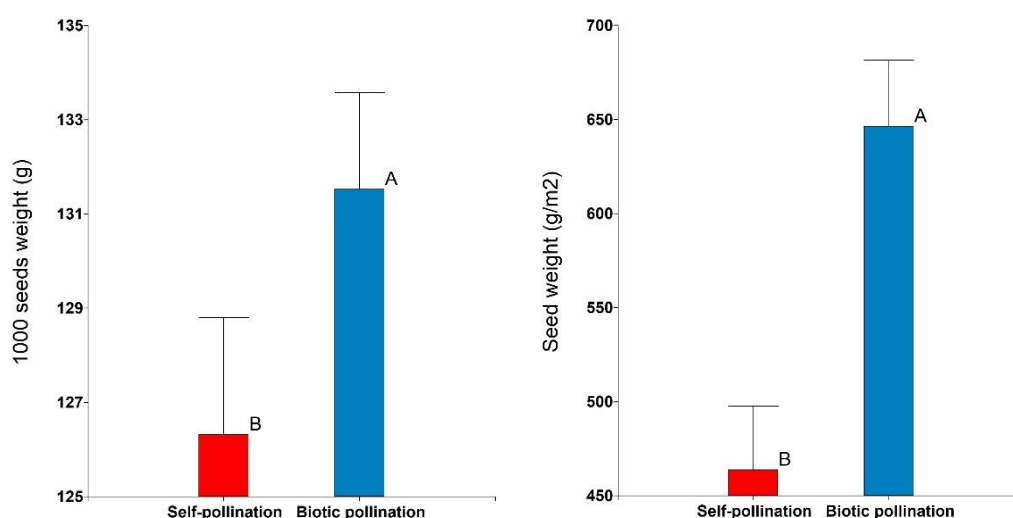


Figura 4. Producción de semillas de soja por unidad de superficie. a) Comparación del peso de 1000 semillas (a) y del total por m² de producción (b) generadas en plantas Auto-polinizadas y por Polinización biótica (Letras diferentes muestran diferencias significativas).

Discusión

Nuestros resultados indican que la polinización biótica tiene un impacto significativo en la cantidad y calidad de los porotos de soja. En comparación con el tratamiento de auto-polinización, las plantas expuestas a polinizadores mostraron una mayor formación de frutos (34 %) y un mayor peso de las semillas por unidad de superficie (27 %). Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que han demostrado la importancia de la polinización entomológica para mejorar el rendimiento de este cultivo (Huais et al. 2020; Milfont et al. 2013). Por lo que sugerimos que la polinización biótica no solo incrementa el número de flores polinizadas, sino que también mejora la calidad del polen transferido, resultando en una mayor eficiencia de la fertilización.

La introducción de colmenas de *Apis mellifera* en los lotes productivos resultó en un aumento notable en la actividad de polinización, reduciendo en un 72 % sus visitas/flor

más allá de los 300 m de las colmenas. Este hallazgo apoya la idea de que las abejas melíferas manejadas pueden ser una alternativa valiosa para suplir la disminución de polinizadores silvestres y mejorar los rendimientos agrícolas (Blettter et al. 2018). La capacidad de *A. mellifera* para adaptarse a diferentes entornos y su manejo relativamente sencillo la convierten en una opción viable para la polinización dirigida. Sin embargo, es importante considerar el aporte entre abejas melíferas y polinizadores nativos. La gestión adecuada de las colmenas y la conservación de hábitats naturales pueden mitigar estos efectos y promover una coexistencia beneficiosa para la biodiversidad y la agricultura (Garibaldi et al., 2021).

En conclusión, nuestros resultados subrayan la importancia de la polinización biótica para la producción de soja y la viabilidad económica de integrar servicios de polinización en las prácticas agrícolas. La variación latitudinal en la dependencia de los polinizadores destaca la necesidad de enfoques personalizados según las condiciones ambientales locales. La contribución de *Apis mellifera*, en particular, demuestra ser un componente clave para mejorar el rendimiento y la calidad de la producción de soja en Argentina.

Referencias

- Basualdo, M., Cavigliasso, P., de Avila Jr, R. S., Aldea-Sánchez, P., Correa-Benítez, A., Harms, J. M., ... & Salvarrey, S. (2022). Current status and economic value of insect-pollinated dependent crops in Latin America. *Ecological Economics*, 196, 107395.
- Bates, D., 2015. Package 'lme4'. Convergence. 12(2). Available at: <https://cran.r-project.org/web/packages/lme4/lme4.pdf>. Last accessed: June 22, 2021.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S., 2014. Fitting linear mixed-effects models using lme4. arXiv preprint arXiv:1406.5823.
- Blettter, D. C., Fagundez, G. A., & Caviglia, O. P. (2018). Contribution of honeybees to soybean yield. *Apidologie*, 49, 101-111.
- Breeze, T.D.; Gallai, N.; Garibaldi, L.A.; Li, X.S. (2016) Economic Measures of Pollination Services: Shortcomings and Future Directions. *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 31, Issue 12, 927-939. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.09.002>.
- da Cunha, N. L., Chacoff, N. P., Sáez, A., Schmucki, R., Galetto, L., Devoto, M., ... & Aizen, M. A. (2023). Soybean dependence on biotic pollination decreases with latitude. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 347, 108376.
- Dainese, M., Martin, E. A., Aizen, M. A., Albrecht, M., Bartomeus, I., Bommarco, R., ... & Steffan-Dewenter, I. (2019). A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. *Science advances*, 5(10), eaax0121. DOI: 10.1126/sciadv.aax0121
- Garibaldi, L. A., Carvalheiro, L. G., Vaissière, B. E., Gemmill-Herren, B., Hipólito, J., Freitas, B. M., ... & Zhang, H. (2016). Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. *Science*, 351(6271), 388-391.
- Garibaldi, L. A., Schulte, L. A., Jodar, D. N. N., Carella, D. S. G., & Kremen, C. (2021). Time to integrate pollinator science into soybean production. *Trends in Ecology & Evolution*, 36(7), 573-575.
- Huais, P. Y., Grilli, G., Amarilla, L. D., Torres, C., Fernández, L., & Galetto, L. (2020). Forest fragments influence pollination and yield of soybean crops in Chaco landscapes. *Basic and Applied Ecology*, 48, 61-72.

- IPBES (2016) The Assessment Report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on Pollinators, Pollination and Food Production. IPBES Secretariat, Bonn, Germany. 10.5281/ZENODO.3402857
- Khan, N. A., Githiri, S. M., Benitez, E. R., Abe, J., Kawasaki, S., Hayashi, T., & Takahashi, R. (2008). QTL analysis of cleistogamy in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 117, 479-487. 10.1007/s00122-008-0792-5
- Milfont, de O. M., Rocha, E. E. M., Lima, A. O. N., & Freitas, B. M. (2013). Higher soybean production using honeybee and wild pollinators, a sustainable alternative to pesticides and autopolination. *Environmental chemistry letters*, 11, 335-341.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution*, 25(6), 345-353.
- Reilly, J. R., Artz, D. R., Biddinger, D., Bobiwash, K., Boyle, N. K., Brittain, C., ... & Winfree, R. (2020). Crop production in the USA is frequently limited by a lack of pollinators. *Proceedings of the Royal Society B*, 287(1931), 20200922.
- Strelin, M. M., Diggle, P. K., & Aizen, M. A. (2023). Flower heterochrony and crop yield. *Trends in Plant Science*. 28(12), 1360-1369. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2023.07.013>
- Tscharntke, T., Klein, A. M., Kruess, A., Steffan-Dewenter, I., & Thies, C. (2005). Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity–ecosystem service management. *Ecology letters*, 8(8), 857-874.
- Zuur, A.F., Hilbe, J.M., & Ieno, E.N., 2013. A Beginner's Guide to GLM and GLMM with R: A Frequentist and Bayesian Perspective for Ecologists. Highland Statistics Limited