

Estado del servicio ecosistémico de polinización en agroecosistemas con cultivos para producción de semilla hortícola

MARIANA L. ALLASINO^{1,✉}; JUAN P. TORRETTA² & HUGO J. MARRERO³

¹ Área de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Agricultura Familiar Región Cuyo, INTA. San Juan, Argentina.

² Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Botánica General. Buenos Aires, Argentina. CONICET.

³ Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida, CONICET. Bahía Blanca, Argentina.

RESUMEN. La polinización entomófila incrementa la calidad y la cantidad de frutos y semillas de la mayoría de los principales cultivos del mundo. San Juan es una de las principales provincias argentinas productoras de semilla hortícola; sin embargo, no se cuenta con información que permita asegurar un servicio ecosistémico de polinización óptimo a los cultivos. En este estudio se propuso determinar la influencia de la polinización entomófila en la formación de frutos y en la cantidad y calidad de las semillas de cultivos destinados a producción de semillas de achicoria, cebolla, rabanito, repollo y zapallo. Además, se evaluó si los cultivos exhibían déficit polínico en los lotes estudiados. Para ello, en cada uno de los lotes se evaluó el servicio de polinización de los cultivos a través de un experimento comparativo en el que se contrastó la formación de frutos, el número de semillas formadas por fruto, el peso y el poder germinativo de las semillas mediante diferentes tratamientos de polinización. Se encontró que la polinización entomófila actúa de manera diferencial sobre los parámetros medidos y que tiene un efecto positivo sobre la polinización de los cultivos. Además, los resultados indicaron que la formación de frutos y semillas no estuvo afectada por déficit polínico. El conocimiento alcanzado contribuye a implementar prácticas de manejo orientadas a conservar la entomofauna polinizadora, a mejorar el servicio de polinización de los cultivos y a promover la economía de los agricultores locales.

[Palabras clave: polinización entomófila, horticultura, déficit polínico, polinizador, agricultura familiar]

ABSTRACT. Status of the pollination ecosystem service in agroecosystems with seed producing crops. Insect pollination increases the quality and quantity of fruits and seeds of most of the world's major crops. San Juan is a key region for horticultural seed production in Argentina; however, currently there is a lack of information available to ensure optimal pollination ecosystem service for crops. In this study, our objective was to determine the influence of insect pollination on the fruit set and on the quantity and quality of crops for the production of chicory, onion, radish, cabbage and pumpkin seeds. We also assessed whether those crops exhibited pollen deficit. In each lot, we compared fruit set, number of seeds formed per fruit, seed weight and germination power using different pollination treatments. We found that insect pollination acts differentially on the measured parameters, exerting a positive effect on crop pollination. Moreover, we observed that fruit set and seed formation among crops were not affected by pollen deficit. Our findings contribute to the implementation of management practices aimed at conserving pollinators, enhancing crop pollination service and promoting the economy of local farmers.

[Keywords: entomophilous pollination, horticulture, pollen deficit, pollinator, family farming]

INTRODUCCIÓN

Los polinizadores (manejados o silvestres) son necesarios para satisfacer el transporte polínico de gran parte de las especies cultivadas del mundo (Klein et al. 2007; Gallai et al. 2009; Brittain et al. 2013) y así lograr altas tasas de productividad y calidad agrícola (Kremen et al. 2004; Cavigliasso et al. 2020; Hünicken et al. 2021; Haedo et al. 2022). Sin embargo, debido a la creciente pérdida mundial de riqueza y abundancia de polinizadores nativos (Potts et al. 2010; Garibaldi et al. 2011; Sánchez-Bayo and Wyckhuys 2019) y manejados (e.g., *Apis*

mellifera) (Requier et al. 2018), la producción de los cultivos dependientes de polinizadores para su reproducción se encuentra en riesgo (Potts et al. 2010; Garibaldi et al. 2011; Sánchez-Bayo and Wyckhuys 2019). La disminución de las poblaciones de polinizadores podría hacer que las especies cultivadas reciban baja cantidad y calidad de polen en sus estigmas, lo que derivaría en un déficit polínico (Chacoff et al. 2008) y la consecuente reducción en la cantidad o la calidad de semillas o frutos producidos (Aizen and Harder 2007). En efecto, las implicancias negativas del déficit

polínico fueron documentadas en diferentes especies de interés económico (e.g., manzana [Garratt et al. 2014], café [Klein et al. 2003], alfalfa [Haedo et al. 2022] y frutilla [Benjamin and Winfree 2014]). Ante este panorama, se torna crítico conocer en qué medida los cultivos dependen de los polinizadores y cómo su ausencia o disminución afectaría la producción de alimentos (Chacoff and Aizen 2007; Garibaldi et al. 2020). Además, estudiar el nivel de dependencia por los polinizadores de los diversos cultivos aporta conocimiento sobre el impacto que tienen los disturbios humanos en la pérdida de diversidad de polinizadores y da lugar a pensar estrategias para conservarlos (Klein et al. 2007).

La polinización entomófila es importante para algunos cultivos de gran relevancia económica en ciertos países y regiones (Lautenbach et al. 2012), pero se desconoce su impacto en especies cultivadas menos rentables o en aquellas en las que el principal producto no es un fruto, sino hojas, raíces o tallos. Así, las estimaciones sobre el grado de dependencia por los polinizadores de los cultivos a nivel global resultan incompletas o desactualizadas (Klein et al. 2007; Gallai et al. 2009). En la Argentina son pocos los estudios que indagan la dependencia de polinizadores y la deficiencia polínica de algunas especies (Ashworth et al. 2009; Chacoff et al. 2010; Basualdo et al. 2022). Asimismo, no existen trabajos que examinen las particularidades de las economías regionales o provinciales al considerar cultivos no tradicionales (o poco relevantes para la economía total del país), esenciales para el bienestar y subsistencia de las comunidades locales.

La provincia argentina de San Juan es uno de los principales polos nacionales de producción de semilla hortícola (Cuesta et al. 2020). Entre su gran diversidad productiva se encuentran cultivos como achicoria (*Cichorium intybus*), repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*), rabanito (*Raphanus sativus*), cebolla (*Allium cepa*) y zapallo (*Cucurbita moschata*). En general, estas especies son producidas por agricultores familiares que abastecen de semillas a muchos huerteros y productores hortícolas del país, quienes aportan a la seguridad alimentaria de gran parte de nuestra población. Las especies mencionadas dependen en diferentes niveles de los polinizadores para su reproducción (e.g., achicoria [Castaño 1997], cebolla [Devi et al. 2015], rabanito [Partap and Verma 1994], repollo [Chandel et al. 2016], zapallo [Della Gaspera 2013]); y algunas de ellas muestran

cierto grado de autogamia. Esta información, así como el nivel local de dependencia a los polinizadores de estas variedades, es desconocida. Además, especies como la achicoria, el repollo y el rabanito son cultivos de hojas o hipocótilo en ocasiones excluidos de informes globales que describen el grado de dependencia de los polinizadores de las especies cultivadas (Klein et al. 2007; Chacoff et al. 2010), por lo que conocer en qué medida estos cultivos dependen de los polinizadores para su reproducción resulta necesario para maximizar la producción de sus semillas.

El objetivo de este estudio fue determinar el aporte de la polinización entomófila en la formación de frutos y en la cantidad y calidad de las semillas en cultivos destinados a producción de semillas de achicoria, cebolla, rabanito, repollo y zapallo. Además, se propuso evaluar si estos cultivos exhiben déficit polínico que limite la producción de sus frutos y semillas. Se predice que las plantas expuestas a polinización entomófila presentarán mayores tasas de formación de frutos y semillas que aquellas expuestas a polinización anemófila y autógena, y que las semillas formadas por polinización entomófila serán de mayor calidad (en términos de peso y poder germinativo) que las producidas bajo polinización anemófila y autógena. Asimismo, se predice que la suplementación manual de polen exógamo en los estigmas de las flores de los cultivos aumentará la formación de frutos y semillas. Conocer el estado del servicio de polinización de estas producciones posibilitaría implementar prácticas locales de manejo agrícola sostenible, lo que generaría beneficios económicos para los agricultores familiares locales y contribuiría a la seguridad alimentaria de numerosas familias argentinas. Asimismo, brindaría información sobre el aporte de los polinizadores a la polinización de cultivos de hojas o hipocótilo, e incrementaría el conocimiento en especies más estudiadas como la cebolla y el zapallo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Valle del Tulum, en el departamento de Pocito, provincia de San Juan, Argentina (31°39' S - 68°33' O). San Juan se ubica en el borde oeste del país y es parte del desierto del monte central, predomina la topografía de montaña y el clima árido continental. El promedio anual de precipitaciones es 85 mm

(Abraham and Martínez 2000). La vegetación dominante son las estepas arbustivas y los bosques bajos dominados por *Larrea* spp. (Zygophyllaceae), *Neltuma* spp. (Fabaceae) y especies de la familia Cactaceae (Morello 2012). Como sitios de estudio se seleccionaron siete agroecosistemas con cultivos para producción de semilla hortícola de polinización abierta: dos cultivados con achicoria var. Fina de corte, uno con cebolla var. Valencianita Angaco INTA rama corta, otros dos con rabanito var. Punta blanca, uno con repollo var. Corazón de Buey y uno con zapallo var. Cokena INTA (Goites 2008). Los siete agroecosistemas tuvieron un tamaño de 4.5 ± 5.3 ha (media \pm DE) y presentaron un manejo agrícola similar: riego por surcos, ausencia de colmenas de abejas manejadas y controles fitosanitarios de acuerdo a las particularidades de cada especie cultivada (i.e., aplicación de herbicidas previos a la siembra y a la cosecha, insecticidas antes de la floración o fungicidas).

Experimento de polinización

El trabajo de campo se llevó a cabo entre diciembre y febrero de 2017-2018 en el agroecosistema de cebolla y en uno de achicoria, y de octubre a febrero de 2018-2019 en los restantes, dependiendo del momento de floración de cada especie cultivada. En cada uno de los agroecosistemas se evaluó el servicio ecosistémico de polinización de los cultivos a través de un experimento comparativo en el que se contrastó la formación de frutos, el número de semillas formadas por fruto y el peso y el poder germinativo de las semillas mediante diferentes tratamientos de polinización.

Tratamientos de polinización. En cada agroecosistema cultivado con achicoria, cebolla, rabanito y repollo se seleccionaron 15-36 plantas cultivadas en estado de floración (Material Suplementario-Tabla S1) ubicadas a diferentes distancias del borde (entre 0 y 50 m). Se procuró que los individuos seleccionados tuvieran un porte semejante, estuvieran en el mismo estadio fenológico y en buenas condiciones fitosanitarias. Para cada planta elegida de achicoria, cebolla, rabanito y repollo se escogieron dos inflorescencias. Luego, en cada inflorescencia se seleccionaron y marcaron flores en pre-antesis. Una de las dos inflorescencias escogidas fue cubierta con una bolsa de tul de 2 mm de trama, lo que permitía la entrada de polen aerotransportado, pero evitaba la visita de polinizadores a las flores marcadas. La otra inflorescencia se mantuvo

sin embolsar, permitiendo la polinización libre de las flores marcadas. Las flores marcadas de la inflorescencia embolsada fueron asignadas a uno de dos tratamientos (Material Suplementario-Tabla S1): 1) polinización suplementada cruzada (PC), en el que las flores se mantuvieron embolsadas hasta la antesis, luego fueron polinizadas de forma manual con polen exógamo y cubiertas nuevamente hasta la formación del fruto. La polinización se produjo frotando delicadamente las anteras de la flor donante sobre el estigma receptivo de la flor receptora. Este tratamiento se realizó todos los días o día por medio durante una semana según la dehiscencia de las flores, y 2) exclusión (E), en el que para evaluar el grado de auto-polinización espontánea de las plantas y evitar las visitas de los polinizadores, las flores se mantuvieron embolsadas y no recibieron manipulación de ningún tipo.

Por otro lado, en la inflorescencia sin embolsar se realizó un tercer tratamiento sobre flores previamente marcadas (Material Suplementario-Tabla S1): polinización suplementada libre (PSL), en el que las flores se dejaron descubiertas para permitir la visita de los polinizadores y, además, fueron suplementadas manualmente con polen exógamo. Este tratamiento sirvió como control del efecto de la bolsa sobre la polinización cruzada realizada en el tratamiento PC. Debido a que las flores de los cinco cultivos seleccionados permanecen en antesis durante un día, este tratamiento se realizó durante diferentes días bajo condiciones normales de temperatura, viento y humedad. Por último, en cada agroecosistema se escogieron entre 10 y 20 plantas ubicadas a diferentes distancias del borde (0, 15, 65 y 115 m). En cada una de las plantas se eligió una inflorescencia, cuya cantidad de flores marcadas varió dependiendo la especie cultivada (Tabla S1). Sobre las flores seleccionadas de la inflorescencia escogida se realizó el tratamiento polinización libre (PL) para evaluar la polinización entomófila, las flores se dejaron descubiertas para la visita de los polinizadores y no fueron manipuladas. Este tratamiento fue utilizado como control.

En cuanto al zapallo, al tratarse de una planta diclina monoica con flores solitarias, los ensayos de polinización se realizaron únicamente sobre flores femeninas. Así, en los tratamientos que requerían embolsado se cubrió cada flor por separado con bolsas de tul de 2 mm de trama. En el tratamiento de polinización suplementada cruzada, el polen provino de flores masculinas pertenecientes

a individuos distantes al menos 20 m. En cada planta focal (entre 4 y 9) se realizaron cuatro tratamientos: PC, E, PSL y PL (Material Suplementario-Tabla S1).

Medición de caracteres de frutos y semillas

Una vez formados, los frutos fueron colectados y almacenados en sobres de papel (excepto los zapallos) bajo condiciones normales de temperatura y humedad (siguiendo a Cornejo 2011). Después se calculó la proporción de frutos formados por inflorescencia en función de las flores marcadas inicialmente (de ahora en más, fruit set), diferenciando por planta, tratamiento, cultivo y agroecosistema. Vale aclarar que si bien la achicoria posee flores reunidas en capítulos, cada capítulo se consideró como una flor de gineceo dialicarpelar, el conjunto de aquenios por capítulo se consideró fruto y cada aquenio, una semilla (debido a que cada aquenio tiene una semilla).

Luego se estimó el número de semillas formadas no vanas por fruto para cada tratamiento y lote cultivado. Debido a que para el tratamiento PL las flores inicialmente marcadas fueron entre 20 y 1216 por cultivo (dependiendo la especie) (Material Suplementario-Tabla S1), para contar las semillas formadas por fruto bajo este tratamiento se tomaron sub-muestras de cinco frutos por inflorescencia, obteniendo un total de 100 frutos por lote cultivado (excepto para el zapallo, cultivo para el que se contaron las semillas de la totalidad de los frutos colectados).

Para pesar y medir el poder germinativo, todas las semillas no vanas obtenidas en cada tratamiento fueron agrupadas eliminando la diferenciación por planta originaria del fruto (siguiendo a Mazzolari 2017). Así se obtuvieron cuatro conjuntos de semillas (equivalente a los cuatro tratamientos de polinización) por agroecosistema.

Para medir el peso de las semillas se formaron 20 muestras de cinco semillas (en adelante, semillas) por tratamiento en cada agroecosistema. Las muestras fueron pesadas en una balanza digital de precisión Instrumentalia GR-300 (e: 1 mg, d: 0.1 mg). Se obtuvieron 20 datos por tratamiento (80 en total) para cada lote cultivado.

Finalmente, se midió el poder germinativo de las semillas siguiendo el protocolo

descrito en las Reglas Internacionales para la Evaluación de Semillas (ISTA 2015). Previamente, las semillas sufrieron un proceso de lavado que consistió en mantenerlas sumergidas durante 10 minutos en alcohol al 70%, lavarlas luego con agua corriente y agua destilada, mantenerlas a continuación durante 15 minutos con hipoclorito de sodio al 1.5% y luego lavarlas con agua corriente y agua destilada. Después, las semillas se colocaron sobre 3 hojas de papel secante humedecidas con 3.5 cm³ de agua destilada-desionizada, en cápsulas de Petri (6 cm de diámetro; excepto para el zapallo [10 cm]) antes esterilizadas con alcohol 96% y expuestas a 160 °C en estufa. La cantidad de semillas colocadas por placa varió según la disponibilidad de semillas por cultivo y tratamiento (Material Suplementario-Tabla S2). A continuación, las cápsulas se colocaron en una cámara de germinación a 25° C bajo luz fluorescente durante 16 h por 8 h de oscuridad durante 7 días. Para cada cultivo se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. Ante la eventual aparición de hongos, se agregó KAPTAN 1.8 g/L. Las semillas se consideraron germinadas si la plántula desarrollaba la raíz, el hipocótilo, los cotiledones y se mantenía erecta. Si bien las semillas frescas germinan dentro del período de 12 a 24 h (hasta 72 h), el recuento definitivo se llevó a cabo el sexto día desde el momento de la siembra (para un procedimiento similar, véase Roqueiro 2012).

Análisis de datos

Comportamiento reproductivo de los cultivos. El efecto de los tratamientos de polinización en los parámetros de formación del fruto, cantidad y calidad de las semillas de los cultivos evaluados se analizó mediante LM, GLM y GLMM (Modelos Lineales, Modelos Lineales Generalizados y Modelos Lineales Generalizados Mixtos, respectivamente según sus siglas en inglés). La variable respuesta fruit set fue analizada mediante GLMM con distribución del error tipo binomial y función de enlace logit (M1, Material Suplementario-Tabla S3). La variable explicativa fue 'tratamiento', y como variable aleatoria se incluyó 'individuo', de modo de representar la variabilidad entre plantas en la variable respuesta. La variable 'número de semillas por fruto' fue analizada mediante GLMM con distribución del error tipo binomial negativa y función de enlace logaritmo (M2, Material Suplementario-Tabla S3). La variable explicativa fue 'tratamiento' y

se incluyó 'individuo' como variable aleatoria. El peso de las semillas fue modelado mediante LM con función de distribución normal (M3, Material Suplementario-Tabla S3), mientras que la variable 'poder germinativo' se modeló a través de GLM con distribución del error tipo binomial (M4, Material Suplementario-Tabla S3). Para ambos casos, se incluyó 'tratamiento' como variable explicativa. En el caso de la achicoria y el rabanito, si bien se contaba con dos agroecosistemas por cultivo, la variable 'agroecosistema' no se incluyó como factor aleatorio en ninguno de los modelos analizados por poseer menos de cinco niveles (Zuur et al. 2009). En cuanto a la achicoria, se incluyó además el año como factor fijo en todos los modelos evaluados. Los análisis se realizaron usando las funciones `lm` (M3), `glmer` (M1 y M4) y `glmer.nb` (M2) del paquete `lme4` (Bates et al. 2021) del software R 4.1.0 (R Core Team 2021). A continuación, para evaluar las diferencias entre los tratamientos en todas las variables analizadas se realizaron comparaciones múltiples de análisis de medias usando la función `glht` del paquete `multcomp` con contraste de Tukey (Hothorn et al. 2016). Se consideró que las diferencias entre tratamientos fueron estadísticamente significativas cuando el valor de P fue menor a 0.05. Se evaluó la significancia de los coeficientes de los modelos usando la función `Anova` del paquete `car` (Fox et al. 2011). Los gráficos se realizaron utilizando el paquete `ggplot2` (Wickham et al. 2016).

Aporte de la polinización entomófila al éxito reproductivo de los cultivos. Para cada agroecosistema se calculó el grado de aporte de los polinizadores (GAP) a la cantidad y calidad de los frutos y semillas formados por cultivo como el porcentaje de fruit set, número de semillas por fruto, peso o poder germinativo de las semillas, atribuible a las interacciones de los polinizadores con las flores de los cultivos. Esto es, $GAP = [(\text{parámetro}_{PL} - \text{parámetro}_E) / \text{parámetro}_{PL}] \times 100$, donde parámetro_{PL} es el valor medio de fruit set, número de semillas por fruto, peso de las semillas o poder germinativo de las semillas, obtenido bajo el tratamiento PL, y parámetro_E es el valor medio de fruit set, número de semillas por fruto, peso de las semillas o poder germinativo de las semillas, obtenido bajo el tratamiento E (Lázaro et al. 2020). A continuación, con los valores de GAP obtenidos para cada agroecosistema, se calculó un valor medio del aporte de los polinizadores al éxito reproductivo de la especie cultivada

para aquellos cultivos que estaban presentes en más de un agroecosistema. El índice GAP oscila entre -100 y 100; los valores comprendidos en el rango [-100;0] indican aporte nulo de los polinizadores a la reproducción del cultivo, mientras que los comprendidos en el rango (0;100] indican diferente grado de aporte. El índice puede tomar valores negativos ya que, bajo ciertas circunstancias, los valores de parámetro_E podrían ser superiores a los de parámetro_{PL} (para una explicación más detallada ver el apartado de Discusión).

Déficit polínico. Para cada agroecosistema se calculó el grado de déficit polínico (GDP) del cultivo como el porcentaje de fruit set y número de semillas por fruto, atribuible a la suplementación manual de polen exógamo en los estigmas de las flores. Esto es, $GDP = [(\text{parámetro}_{PSL} - \text{parámetro}_{PL}) / \text{parámetro}_{PSL}] \times 100$, donde parámetro_{PSL} es el valor medio de fruit set y número de semillas por fruto obtenido bajo el tratamiento PSL, y parámetro_{PL} es el valor medio de fruit set y número de semillas por fruto obtenido bajo el tratamiento PL (Haedo et al. 2022). Este índice oscila entre -100 y 100; valores comprendidos en el rango [-100;0] indican inexistencia de déficit polínico, mientras que los comprendidos en el rango (0;100] indican existencia de déficit polínico en diferente grado. Similar a lo que sucede con el GAP, el GDP puede tomar valores negativos ya que, bajo ciertas circunstancias, los valores de parámetro_{PL} podrían ser superiores a los de parámetro_{PSL} (para una explicación más detallada, ver Discusión).

RESULTADOS

Aporte de la polinización entomófila en la formación de frutos y semillas

El valor medio de los parámetros medidos varió entre tratamiento, especie cultivada y agroecosistema (para información detallada, ver Tabla 1). A continuación, se describen las diferencias encontradas entre tratamiento por especie cultivada.

Achicoria. Entre los cuatro tratamientos de polinización se formaron un total de 1652 'frutos' a partir de 1929 'flores' (notar que el capítulo fue considerado como una flor de gineceo dialicarpelar). El fruit set fue significativamente diferente entre los tratamientos PC, PL, PSL y el tratamiento E (Figura 1a, Material Suplementario-Tabla S4), siendo el aporte de los polinizadores

Tabla 1. Valor medio y desvío estándar (DE) de fruit set, número de semillas, peso y poder germinativo de las semillas obtenidos por tratamiento (Trat) (ver referencias en el texto), especie cultivada y agroecosistema (sitio).

Table 1. Mean value and standard deviation (SD) of fruit set, number of seeds, weight and germination power of seeds obtained per treatment (see references in the text), cultivated species and agroecosystem.

Especie cultivada	Trat.	Fruit set		N° semillas		Peso		Poder germinativo	
		Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
<i>Cichorium intybus</i> L. (sitio 1)	E	0.7583	0.3765	10.1481	5.2675	0.0040	0.0013	0.3313	0.2809
	PC	0.8158	0.2986	15.0323	4.3473	0.0054	0.0011	0.4188	0.2183
	PL	0.8710	0.0727	13.3300	2.1930	0.0070	0.0013	0.6500	0.1242
	PSL	0.7333	0.3689	14.8276	3.1061	0.0063	0.0013	0.4500	0.0612
<i>Cichorium intybus</i> L. (sitio 2)	E	0.6972	0.3755	8.6809	4.7872	0.0049	0.0013	0.2500	0.0887
	PC	0.9204	0.2168	11.8421	3.6737	0.0049	0.0013	0.3500	0.1677
	PL	0.8489	0.0835	12.8611	2.2064	0.0071	0.0014	0.7200	0.1178
	PSL	1.0000	0.0000	12.6133	2.7700	0.0068	0.0010	0.5300	0.1361
<i>Allium cepa</i> L.	E	0.1167	0.2650	2.2857	1.7995	0.0197	0.0021	0.3125	0.2394
	PC	0.2333	0.3200	2.2143	1.3114	0.0225	0.0019	0.6429	0.3401
	PL	0.8653	0.0430	3.2100	1.3655	0.0204	0.0031	0.3000	0.1244
	PSL	0.6029	0.4682	3.1351	1.3977	0.0194	0.0027	0.4271	0.1458
<i>Raphanus sativus</i> L. (sitio 1)	E	0.4063	0.1895	5.3871	2.3477	0.0437	0.0132	0.9688	0.0239
	PC	0.8958	0.2545	5.1765	2.3384	0.0327	0.0087	0.9500	0.0354
	PL	0.6979	0.1508	6.7300	1.6809	0.0419	0.0047	0.9875	0.0144
	PSL	0.7639	0.4242	5.5333	2.3316	0.0352	0.0065	0.9500	0.0204
<i>Raphanus sativus</i> L. (sitio 2)	E	0.5016	0.2856	4.1212	2.2186	0.0383	0.0091	0.9750	0.0354
	PC	0.7645	0.3681	5.6000	2.7585	0.0326	0.0075	0.9875	0.0144
	PL	0.7381	0.2112	6.7850	1.7805	0.0339	0.0045	0.9938	0.0125
	PSL	0.7292	0.4418	5.1026	2.1126	0.0328	0.0056	1.0000	0.0000
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> L.	E	0.4971	0.3076	6.8125	7.2354	0.0193	0.0028	0.8313	0.0747
	PC	0.4926	0.4107	10.0000	8.8795	0.0169	0.0034	0.8625	0.0777
	PL	0.7451	0.1886	26.1100	8.6968	0.0134	0.0026	0.9688	0.0239
	PSL	0.6373	0.4868	21.9487	9.2678	0.0132	0.0017	0.9500	0.0500
<i>Cucurbita moschata</i> Duchesne	E	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	PC	0.8519	0.3379	187.9600	106.6976	0.4555	0.0417	0.9800	0.0302
	PL	0.9074	0.1884	180.0500	96.6957	0.4252	0.0741	0.8200	0.2073
	PSL	0.8889	0.1318	173.6875	96.4524	0.4473	0.0623	0.9900	0.0185

(GAP) 15.42%. No se encontraron diferencias significativas entre PSL y PC ($z=-0.947$, $EE=0.429$, $P=0.773$) (Figura 1a) ni entre PL y PSL ($z=-0.045$, $EE=0.333$, $P=0.999$) (Figura 1a). En cuanto al número de semillas formadas por fruto, se analizaron 512 'frutos' y 6371 'semillas' entre los cuatro tratamientos. Los frutos formados bajo PSL, PC y PL resultaron con mayor número de semillas que los formados bajo tratamiento E (Figura 1b, Material Suplementario-Tabla S4). Además, las semillas producidas en los tratamientos PL y PSL resultaron ser 28.18% más pesadas que las obtenidas en E y PC (Figura 1c, Material Suplementario-Tabla S4). En relación con la germinación, las semillas formadas bajo PL fueron las que tuvieron mayor poder germinativo (57.15% más con respecto a E), existiendo diferencias significativas con el resto de los tratamientos (Figura 1d, Material Suplementario-Tabla S4).

Cebolla. Entre los cuatro tratamientos se formaron en total 1103 frutos de 1396 flores iniciales. La proporción de frutos formados en los tratamientos PL y PSL fue significativamente mayor a la obtenida bajo los tratamientos PC y E (Figura 2a, Material Suplementario-Tabla S4). Específicamente, bajo tratamiento PL se formó un 86.51% más de frutos que en ausencia de polinizadores. Se encontraron diferencias entre los tratamientos PSL y PC ($z=4.455$, $EE=0.428$, $P<0.001$) (Figura 2a). Para la comparación del número de semillas formadas por fruto entre tratamientos se analizaron, entre los cuatro tratamientos, un total de 158 frutos que contuvieron 484 semillas, sin encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 2b, Material Suplementario-Tabla S4). Por otro lado, en la variable peso se encontraron diferencias significativas únicamente entre PSL y PC ($z=-3.209$, $EE=9.58e-04$, $P=0.010$)

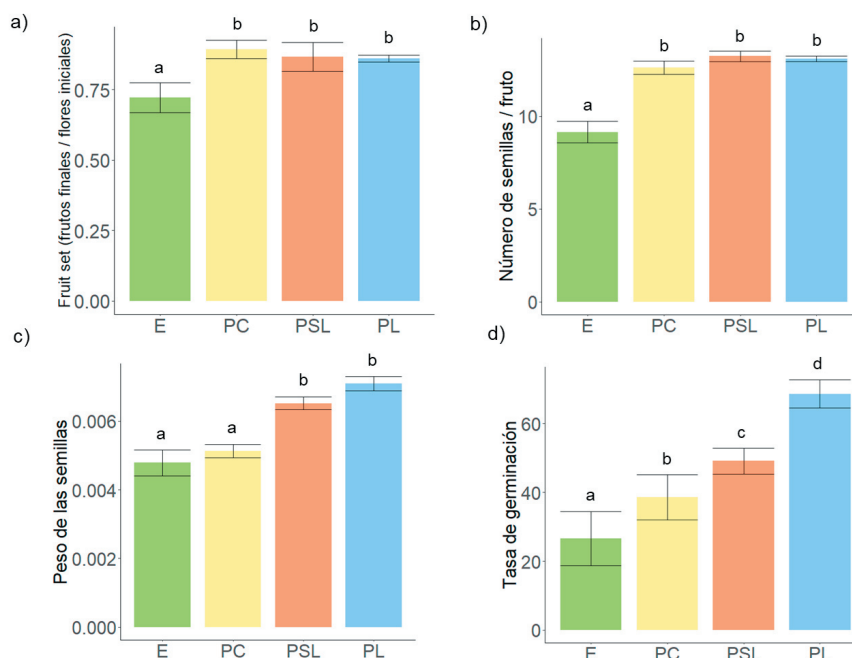


Figura 1. Parámetros de servicio de polinización medidos en achicoria mediante diferentes tratamientos de polinización. a) Formación de frutos. b) Número de semillas por fruto formado. c) Peso de las semillas (agrupadas de a cinco). d) Poder germinativo de las semillas. Resultados presentados en promedio \pm EE. Referencias: E=Exclusión. PC=Polinización suplementada cruzada. PSL=Polinización suplementada libre. PL=Polinización libre. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$).

Figure 1. Pollination service parameters measured in chicory by using different pollination treatments. a) Fruit set. b) Number of seeds per fruit formed. c) Seed weight (in groups of five). d) Seed germination rate. Results are presented in mean \pm SE. References: E=Exclusion. PC=Cross supplemented pollination. PSL=Free supplemented pollination. PL=Free pollination. Means with a common letter are not significantly different ($P > 0.05$).

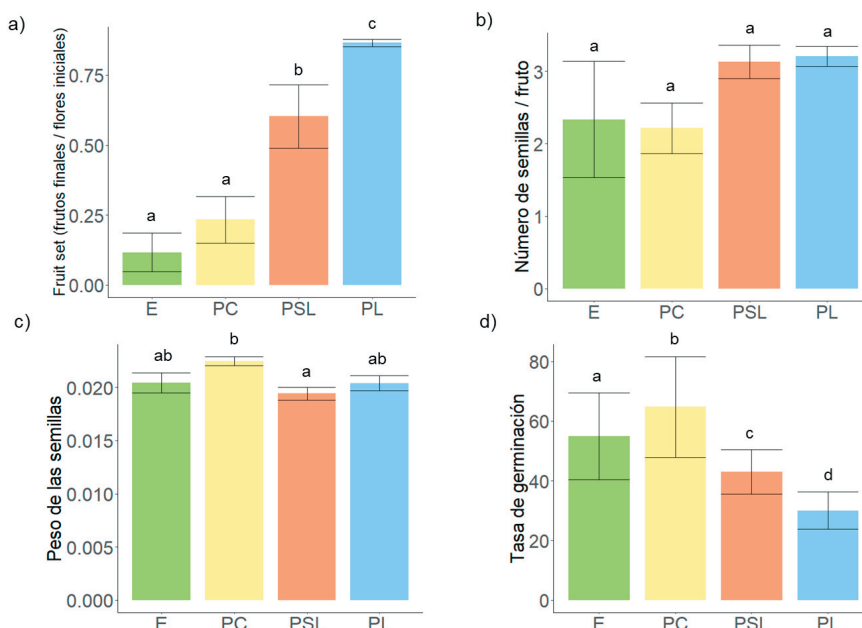


Figura 2. Parámetros de servicio de polinización medidos en cebolla mediante diferentes tratamientos de polinización. a) Formación de frutos. b) Número de semillas por fruto formado. c) Peso de las semillas (agrupadas de a cinco). d) Poder germinativo de las semillas. Resultados presentados en promedio \pm EE. Referencias: E=Exclusión. PC=Polinización suplementada cruzada. PSL=Polinización suplementada libre. PL=Polinización libre. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$).

Figure 2. Pollination service parameters measured in onion by using different pollination treatments. a) Fruit set. b) Number of seeds per fruit formed. c) Seed weight (in groups of five). d) Seed germination rate. Results are presented in mean \pm SE. References: E=Exclusion. PC=Cross supplemented pollination. PSL=Free supplemented pollination. PL=Free pollination. Means with a common letter are not significantly different ($P > 0.05$).

(Figura 2c). En cuanto al poder germinativo, se encontraron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos considerados (Figura 2d, Material Suplementario-Tabla S4), siendo las semillas producidas bajo tratamiento PC las que exhibieron el mayor poder germinativo, seguidas por E, PSL y PL (Figura 2d).

Rabanito. Entre los cuatro tratamientos se formaron en total 521 frutos de 774 flores iniciales. Los resultados indicaron que el fruit set bajo los tratamientos PL, PSL y PC fue mayor que el obtenido bajo el tratamiento E (Figura 3a, Material Suplementario-Tabla S4), siendo el aporte de los polinizadores (GAP) 36.91%. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos PSL y PC ($z=-1.574$, $EE=0.365$, $P=0.392$) (Figura 3a) ni entre PL y PSL ($z=-0.171$, $EE=0.321$, $P=0.998$) (Figura 3a). En cuanto al número de semillas por fruto, se analizó entre los cuatro tratamientos un total de 451 frutos y 2666 semillas. La polinización libre produjo frutos con mayor cantidad de semillas que el resto de los tratamientos de polinización, formándose en presencia de polinizadores 29.60% más semillas que en su ausencia (Figura 3b, Material Suplementario-Tabla S3). Además, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos PL y PSL ($z=4.367$, $EE=0.054$, $P<0.001$) (Figura 3b), pero no entre los tratamientos E, PC y PSL (Figura 3c, Material Suplementario-Tabla S4). En cuanto al peso de las semillas, los frutos obtenidos en el tratamiento E formaron semillas con peso similar a las del tratamiento PL ($z=1.815$, $EE=0.001$, $P=0.270$) (Figura 3c). Además, el peso de las semillas en E fue significativamente mayor que el de las semillas formadas en PC y PSL, pero no que en PL (Figura 3c, Material Suplementario-Tabla S4). El poder germinativo fue significativamente mayor para las semillas bajo PL que para las formadas bajo E y PC, (GAP=1.89%) (Figura 3d, Material Suplementario-Tabla S4).

Repollo. Entre los cuatro tratamientos, se formaron en total 436 frutos de 633 flores marcadas. El fruit set fue similar entre todos los tratamientos de polinización, sin existir diferencias significativas entre ellos (Figura 4a, Material Suplementario-Tabla S4). En cuanto al número de semillas formadas por fruto, se analizó entre los cuatro tratamientos un total de 197 frutos que contuvieron 3955 semillas. El número de semillas fue significativamente mayor en los tratamientos PL, PSL y PC con respecto al tratamiento E ($z=8.014$, $EE=0.194$, $P<0.001$; $z=6.026$, $EE=0.225$, $P<0.001$; $z=4.035$, $EE=0.1657$, $P<0.001$, respectivamente) (Figura

4b), lo que se traduce en un aporte de los polinizadores de 73.91%. No se encontraron diferencias significativas en el número de semilla por fruto entre PSL y PL ($z=-1.037$, $EE=0.192$, $P=0.723$) (Figura 4b), pero sí entre PSL y PC ($z=3.092$, $EE=0.223$, $P=0.010$) (Figura 4b). En cuanto al peso de las semillas, las de los tratamientos E y PC fueron más pesadas que las obtenidas en los tratamientos PL y PSL (Figura 4c, Material Suplementario-Tabla S4). Con respecto al poder germinativo, las semillas formadas bajo PL y PSL exhibieron mayores tasas de germinación respecto a los tratamientos E y PC, sin haberse encontrado diferencias significativas entre estos dos últimos (Figura 4d, Material Suplementario-Tabla S4). En particular, los resultados indicaron que bajo tratamiento PL, la tasa de germinación de las semillas aumentó un 14.19% en relación con el tratamiento E.

Zapallo. En total se formaron 71 frutos de 87 flores iniciales entre los cuatro tratamientos. Se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos de polinización cruzada y la exclusión de polinizadores, siendo este último el tratamiento bajo el cual no se formó ningún fruto (Figura 5a, Material Suplementario-Tabla S4). Además, se observaron diferencias significativas en el número de semillas por fruto entre los tratamientos PL y PSL ($z=2.550$, $EE=0.030$, $P=0.028$) (Figura 5b). En cuanto al peso de las semillas, no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 5c, Material Suplementario-Tabla S4). Sin embargo, las semillas obtenidas bajo tratamientos PC y PSL exhibieron mayor poder germinativo respecto a las producidas en el tratamiento PL ($z=8.320$, $EE=0.269$, $P<0.001$; $z=8.388$, $EE=0.367$, $P<0.001$, respectivamente) (Figura 5d). Los resultados indican que el aporte de los polinizadores al éxito reproductivo del zapallo en relación a los parámetros medidos fue del 100%.

Déficit polínico en relación a la formación de frutos y semillas

En los cultivos de achicoria, rabanito, repollo y zapallo no se encontraron diferencias significativas en el fruit set entre los tratamientos PL y PSL (Figura 1a, 3a, 4a y 5a, Material Suplementario-Tabla S4). Por su parte, en el cultivo de cebolla, el fruit set en el tratamiento PL fue significativamente mayor que en PSL ($z=4.745$, $EE=0.283$, $P<0.001$, $GDP=43.33\%$) (Figura 2a). En cuanto al número de semillas producidas por fruto, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos

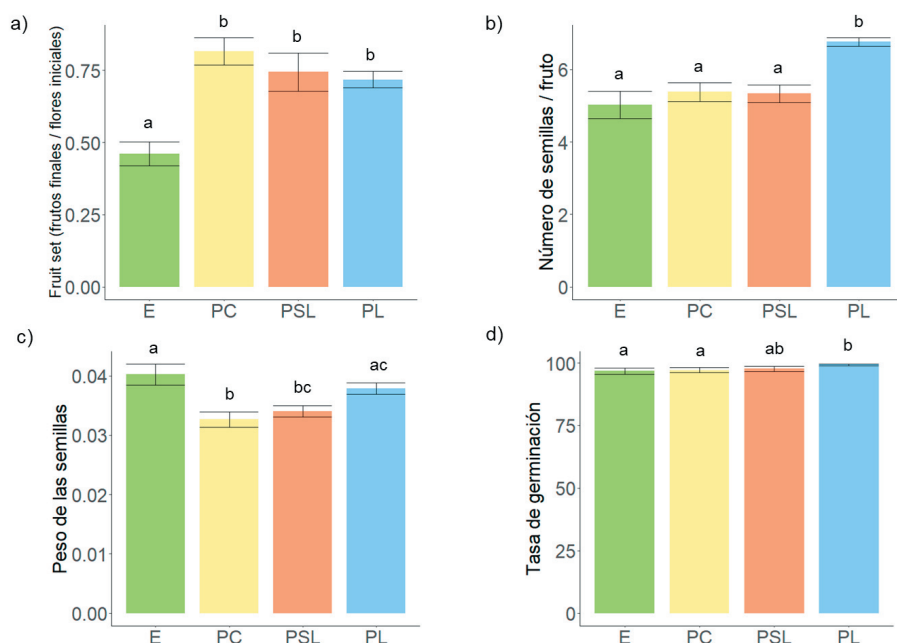


Figura 3. Parámetros de servicio de polinización medidos en rabanito mediante diferentes tratamientos de polinización. a) Formación de frutos. b) Número de semillas por fruto formado. c) Peso de las semillas (agrupadas de a cinco). d) Poder germinativo de las semillas. Resultados presentados en promedio \pm EE. Referencias: E=Exclusión. PC=Polinización suplementada cruzada. PSL=Polinización suplementada libre. PL=Polinización libre. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P>0.05$).

Figure 3. Pollination service parameters measured in radish by using different pollination treatments. a) Fruit set. b) Number of seeds per fruit formed. c) Seed weight (in groups of five). d) Seed germination rate. Results are presented in mean \pm SE. References: E=Exclusion. PC=Cross supplemented pollination. PSL=Free supplemented pollination. PL=Free pollination. Means with a common letter are not significantly different ($P>0.05$).

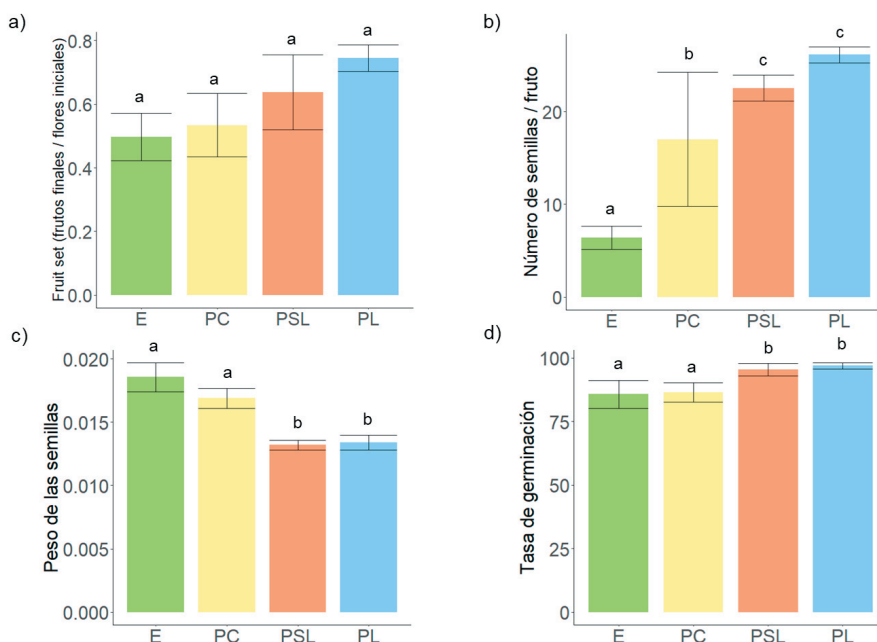


Figura 4. Parámetros de servicio de polinización medidos en repollo mediante diferentes tratamientos de polinización. a) Formación de frutos. b) Número de semillas por fruto formado. c) Peso de las semillas (agrupadas de a cinco). d) Poder germinativo de las semillas. Resultados presentados en promedio \pm EE. Referencias: E=Exclusión. PC=Polinización suplementada cruzada. PSL=Polinización suplementada libre. PL=Polinización libre. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P>0.05$).

Figure 4. Pollination service parameters measured in cabbage by using different pollination treatments. a) Fruit set. b) Number of seeds per fruit formed. c) Seed weight (in groups of five). d) Seed germination rate. Results are presented in mean \pm SE. References: E=Exclusion. PC=Cross supplemented pollination. PSL=Free supplemented pollination. PL=Free pollination. Means with a common letter are not significantly different ($P>0.05$).

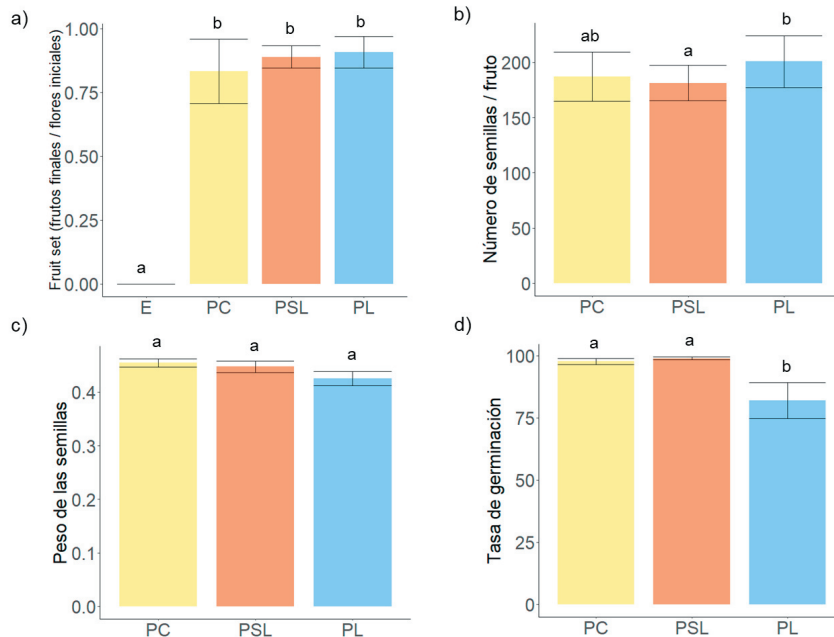


Figura 5. Parámetros de servicio de polinización medidos en zapallo mediante diferentes tratamientos de polinización. a) Formación de frutos. b) Número de semillas por fruto formado. c) Peso de las semillas (agrupadas de a cinco). d) Poder germinativo de las semillas. Resultados presentados en promedio \pm EE. Referencias: PC=Polinización suplementada cruzada. PSL=Polinización suplementada libre. PL=Polinización libre. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$).

Figure 5. Pollination service parameters measured in butternut squash by using different pollination treatments. a) Fruit set. b) Number of seeds per fruit formed. c) Seed weight (in groups of five). d) Seed germination rate. Results are presented in mean \pm SE. References: E=Exclusion. PC=Cross supplemented pollination. PSL=Free supplemented pollination. PL=Free pollination. Means with a common letter are not significantly different ($P > 0.05$).

PL y PSL a favor de PL en los lotes cultivados con rabanito ($z=4.367$, $EE=0.054$, $P < 0.001$, $GDP_{sitio1}=-21.70\%$, $GDP_{sitio2}=-32.94\%$) y zapallo ($z=2.550$, $EE=0.030$, $P=0.028$, $GDP=-3.67\%$) (Figura 3b y 5b, Material Suplementario-Tabla S4). Los cultivos de achicoria, cebolla y repollo no mostraron diferencia significativa entre los tratamientos PL y PSL en el número de semillas formadas (Figura 1b, 2b y 3b; Tabla S4).

DISCUSIÓN

Este es el primer estudio realizado en la Argentina que evalúa el efecto de la polinización entomófila en el servicio de polinización cuantitativo y cualitativo de cultivos de achicoria, rabanito y repollo. Se trata de cultivos de hojas o hipocótilo en ocasiones excluidos de informes globales que describen el grado de dependencia a los polinizadores de las especies cultivadas (Klein et al. 2007; Chacoff et al. 2010). Además, el presente trabajo incrementa el conocimiento local sobre el aporte de los polinizadores en el servicio de polinización de especies más estudiadas como son la cebolla y el zapallo. Los resultados encontrados soportan la hipótesis

de que la polinización entomófila influye positivamente sobre la polinización de estos cultivos. Sin embargo, no apoyan la hipótesis de que la formación de frutos y semillas de los cultivos está afectada negativamente por un déficit polínico.

Aporte de la polinización entomófila en la formación de frutos y semillas

Para ambas variables cuantitativas, los resultados obtenidos para la achicoria (notar que su capítulo fue considerado como una 'flor de gineceo dialicarpelar'), el rabanito y el zapallo indicaron que las tres especies dependen de los polinizadores para la formación de frutos, así como para la obtención de un mayor número de semillas por fruto. Además, si bien la achicoria y el rabanito mostraron cierto grado de autogamia, la visita de polinizadores aumentó su éxito reproductivo. Estos resultados concuerdan con lo citado en la bibliografía para la achicoria (Coppens d'Eeckenbrugge et al. 1987; Castaño 1997), el rabanito (Stanton 1987; Partap and Verma 1994) y el zapallo (Canto-Aguilar and Parra-Tabla 2000; Agbagwa et al. 2007) en otros países.

En cuanto a la cebolla, la polinización entomófila produjo mayor formación de frutos en relación con la exclusión de polinizadores, pero el número de semillas por fruto formado no varió entre tratamientos. El hecho de que se haya producido menor cantidad de frutos en condiciones de exclusión con relación a la polinización libre podría deberse a que en la primera, el número de granos de polen depositados en los estigmas haya sido menor al mínimo necesario para dar lugar a la formación de frutos (Cruden 2000). Pese a ello, se podría decir que el efecto neto de la polinización entomófila sobre el servicio de polinización en este cultivo resulta positivo. Estos resultados se conciben con estudios previos (Abrol et al. 2010; Devi et al. 2015).

En relación con el repollo, los resultados obtenidos mostraron que el número de semillas en los frutos producidos bajo los tres tratamientos de polinización entomófila fue mayor en relación con la exclusión, indicando que las visitas de los insectos tendrían un efecto positivo sobre la formación de semillas en esta especie. Este resultado concuerda con lo reportado por otros estudios que señalan que este cultivo depende mucho de los polinizadores (Zur et al. 2003; Fang et al. 2004; Chandel et al. 2016). Sin embargo, la formación de frutos no difirió entre tratamientos. Es probable que las flores bajo tratamiento de exclusión hayan recibido una cantidad de granos de polen propios suficiente para la formación de los frutos, pero no para el desarrollo de la totalidad (o un gran número) de las semillas (Cruden 2000).

En cuanto al aporte de los polinizadores a los parámetros de calidad de las semillas, los resultados fueron diversos. En general, la polinización entomófila no tuvo efectos sobre el peso de las semillas, excepto en la achicoria. En este caso, las semillas obtenidas bajo PL fueron más pesadas que las producidas bajo E. En el caso del rabanito y el repollo, los tratamientos de E generaron semillas igualmente o más pesadas que PL. Dado que estas especies produjeron mayor número de semillas por fruto en presencia de polinizadores, es posible que se haya generado un proceso de redistribución de recursos a nivel de los frutos, lo que está en línea con la idea de un compromiso entre el peso y la cantidad de las semillas producidas (Leishman 2001). Este comportamiento no se observó, sin embargo, en la achicoria, para la cual bajo PL se incrementó el número de semillas producidas, que fueron más pesadas

que en E. Este resultado no es extraño, ya que la achicoria posee inflorescencias en las que cada flor forma un aquenio representado por una única semilla.

El peso de las semillas se relaciona positivamente con su calidad (Leishman 2001; Moles and Westoby 2006), por lo que semillas más pesadas podrían exhibir mayores tasas de germinación (Loy 2004). Esta relación se observó solo en achicoria. Las semillas de rabanito y repollo producidas bajo polinización entomófila tuvieron menor peso en comparación con las obtenidas bajo exclusión; sin embargo, el poder germinativo fue mayor. Es posible que dichas semillas hayan sido formadas con pólenes exógamos que le otorgaron mayor vigor o viabilidad, pero que no influyeron en su peso, el cual posiblemente haya sido consecuencia de una limitación por recursos. En el caso de la cebolla, si bien no hubo diferencias en el peso de las semillas entre tratamientos, aquellas producidas bajo exclusión tuvieron un poder germinativo mayor con respecto al resto. Estos resultados son llamativos y contraintuitivos, ya que se esperaba que las semillas formadas bajo exclusión tuvieran menor poder germinativo. Una posible explicación es que las diferencias en la calidad de las semillas bajo los distintos tratamientos se expresen en etapas posteriores al establecimiento de la plántula, por lo que sería interesante tener en cuenta en futuros análisis otras características como el vigor de germinación y el vigor de la plántula.

En general, la polinización por insectos en los parámetros cuantitativos y cualitativos resultó positiva en los cultivos evaluados; sin embargo, algunas limitaciones metodológicas podrían haber influido en los resultados. En este sentido, los resultados encontrados indicaron que las especies estudiadas (excluyendo al zapallo) produjeron frutos y semillas no vanas bajo tratamientos de exclusión, indicando cierto grado de auto-compatibilidad y autogamia. Debido a que en este estudio, las flores analizadas en el tratamiento exclusión no fueron emasculadas, es probable que haya ocurrido auto-polinización espontánea de las flores (aunque no se descartan la apomixis, la polinización por viento, o la polinización entomófila debido a insectos pequeños que hayan logrado ingresar por el entramado de la bolsa de tul utilizada para excluirlas). Por otro lado, la falta de diferencias significativas en los parámetros medidos entre los tratamientos de polinización cruzada manual (PC, PSL) y la exclusión (E)

en algunos de los cultivos evaluados (e.g., cebolla y rabanito), podrían deberse a errores de manipulación sobre las flores, tales como la contaminación del elemento utilizado para polinizar los estigmas, la ruptura de las piezas florales (Fang et al. 2004), el taponamiento del estilo por exceso de polen agregado (Aizen et al. 2014) o diferencias en la receptividad del estigma, así como el grado de madurez y la viabilidad del polen utilizado (Young and Young 1992). Todas estas variables, difíciles de controlar en condiciones de campo, pueden influenciar la correcta polinización de las flores. No obstante, al comparar los dos tratamientos con menor manipulación (E y PL), generalmente únicos en los ensayos de polinización presentes en la bibliografía (Cane et al. 2005; Hünicken et al. 2020; Sáez et al. 2020; Webber et al. 2020; Hünicken et al. 2021), se observa que el aporte de los polinizadores a la producción de frutos y semillas de los cultivos evaluados es fuertemente positivo, afirmando la dependencia de estas especies de la polinización entomófila.

Déficit polínico en relación a la formación de frutos y semillas

Ninguno de los cultivos evaluados exhibió deficiencia polínica en la formación de frutos y semillas, lo que sugiere que su éxito reproductivo no está limitado por la cantidad y la calidad de polen recibido de manera natural. Estos resultados son llamativos, ya que la limitación polínica es común para la mayoría de las plantas generalistas dependientes de la polinización entomófila (Bennett et al. 2018). Si bien es usual que en los lotes de producción semillera se utilicen colmenas de *Apis mellifera* como insumo externo para incrementar los rendimientos (Paudel et al. 2015), en las producciones familiares de la zona estudiada no es una práctica común. Así, la diversidad de polinizadores en los agroecosistemas parecería ser suficiente para satisfacer las demandas polínicas de los cultivos. Esto podría ir de la mano con el tipo de manejo agrícola que se aplica en los agroecosistemas, ya que diversos estudios proponen que el servicio de polinización óptimo se alcanza mediante la gestión de prácticas de manejo prediales que propician el mantenimiento de poblaciones de polinizadores naturales diversos (Garibaldi et al. 2017). Las mismas se relacionan con un incremento y mantenimiento de los recursos forrajeros y de nidificación para los polinizadores (Garibaldi et al. 2014), así como la disminución en la utilización de agroquímicos y de otras prácticas de

la agricultura intensiva poco sustentables (Sánchez-Bayo and Wyckhuys 2019). Futuros estudios podrían estar orientados a indagar el manejo agrícolas que se realiza en los agroecosistemas estudiados y vincularlo con la disponibilidad de polinizadores y el servicio de polinización de los cultivos. Si bien los resultados son positivos, es necesario considerar que la limitación de polen puede fluctuar entre temporadas (Aizen and Harder 2007), por lo que los resultados encontrados para todos los cultivos considerados (que derivan de datos colectados durante una única temporada) deberían validarse mediante análisis adicionales a largo plazo.

CONCLUSIONES

En general, la actividad de los polinizadores tiene un efecto positivo sobre la calidad y la cantidad de los frutos y las semillas de los cultivos evaluados, lo que indica que para promover la producción de semillas de alimentos como la achicoria, el rabanito, la cebolla, el repollo y el zapallo es necesario asegurar en los agroecosistemas la presencia de polinizadores. El hecho de no haber encontrado déficit polínico en los cultivos evaluados podría sugerir que las prácticas de manejo agrícola realizadas actualmente en los agroecosistemas analizados serían suficientes para proveer un exitoso servicio de polinización ecosistémico a las especies cultivadas. Resultaría interesante profundizar el conocimiento sobre las prácticas de manejo que se aplican en los agroecosistemas estudiados de modo de sistematizarlas, y en caso de resultar oportuno, promoverlas. Esto daría lugar a la conservación de los polinizadores en los sistemas agrícolas, al fomento de las economías locales y a la alimentación segura de gran parte de la población argentina.

AGRADECIMIENTOS. Este estudio estuvo financiado por INTA Disp. No. 942/15, PNAPI-P.E. I017, The Rufford Foundation Small Grant (ID 29765-1), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica: PICT 2015-2523, PICT 2017-3336 y PIP 2020-3024CO. Agradecemos a FECOAGRO, en especial a José Martín, Baltazar y José Luis Torrente, José y Juan Yacanto, y Eduardo Figueroa, y a los Laboratorios de Fisiología Vegetal y de Biotecnología de la EEA San Juan de INTA. También agradecemos a los revisores por el tiempo dedicado a corregir este manuscrito y por sus valiosos comentarios. Este estudio formó parte de la tesis doctoral de MLA.

REFERENCIAS

- Abraham, M., and F. R. Martínez. 2000. Recursos y problemas ambientales de zona árida. Primera Parte: Provincias de Mendoza, San Juan y La Rioja. Caracterización Ambiental. IADIZA, Mendoza, Argentina.
- Abrol, D. P. 2010. Foraging behaviour of *Apis florea* F., an important pollinator of *Allium cepa* L. Journal of Apicultural Research 49(4):318-325. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.4.04>.
- Acosta, A. R., J. C. Gaviola, and C.R. Galmarini. 1994. Producción de semilla de cebolla. La Consulta: Asociación Cooperadora EEA La Consulta. Pp. 83.
- Agbagwa, I. O., B. C. Ndukwu, and S. I. Mensah. 2007. Floral biology, breeding system, and pollination ecology of *Cucurbita moschata* (Duch. ex Lam) Duch. ex Poir. varieties (Cucurbitaceae) from parts of the Niger Delta, Nigeria. Turkish Journal of Botany 31(5):451-458.
- Aizen, M. A., and L. D. Harder. 2007. Expanding the limits of the pollen limitation concept: effects of pollen quantity and quality. Ecology 88(2):271-281. <https://doi.org/10.1890/06-1017>.
- Aizen, M. A., C. L. Morales, D. P. Vázquez, L. A. Garibaldi, A. Sáez, and L. D. Harder. 2014. When mutualism goes bad: density-dependent impacts of introduced bees on plant reproduction. New Phytologist 204:322-328. <https://doi.org/10.1111/nph.12924>.
- Aizen, M. A., S. Aguiar, J. C. Biesmeijer, L. A. Garibaldi, D. W. Inouye, C. Jung, C., D. J. Martins, R. Medel, et al. 2019. Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. Global Change Biology 25(10):3516-3527. <https://doi.org/10.1111/gcb.14736>.
- Ashworth, L., M. Quesada, A. Casas, R. Aguilar, and K. Oyama. 2009. Pollinator-dependent food production in Mexico. Biological Conservation 142(5):1050-1057. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.01.016>.
- Bates, D., M. Maechler, B. Bolker, S. Walker, R. H. B. Christensen, H. Singmann, et al. 2021. Package 'lme4'. Linear Mixed-Effects Models using 'Eigen' and S4. (Version 1.1'27.1).
- Basualdo, M., P. Cavigliasso, R. S. de Avila, P. Aldea-Sánchez, A. Correa-Benítez, J. M. Harms, A. K. Ramos, V. Rojas-Bravo, and S. Salvarrey. 2022. Current status and economic value of insect-pollinated dependent crops in Latin America. Ecological Economics 196:107395. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2022.107395>.
- Benjamin, F. E., and R. Winfree. 2014. Lack of pollinators limits fruit production in commercial blueberry (*Vaccinium corymbosum*). Environmental Entomology 43:1574-1583. <https://doi.org/10.1603/EN13314>.
- Bennett, J. M., J. A. Steets, J. H. Burns, W. Durka, J. C. Vamosi, G. ArceoGómez, M. Burd, L. Burkle, et al. 2018. Data Descriptor: GloPL, a global data base on pollen limitation of plant reproduction. Scientific Data 5:180249. <https://doi.org/10.1038/sdata.2018.249>.
- Brittain, C., N. Williams, C. Kremen, and A. M. Klein. 2013. Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 280(1754):20122767. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2767>.
- Cane, J. H. 2005. Pollination potential of the bee *Osmia aglaia* for cultivated red raspberries and blackberries (Rubus: Rosaceae). HortScience 40(6):1705-1708. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.6.1705>.
- Canto-Aguilar, M. A., and V. Parra-Tabla. 2000. Importance of conserving alternative pollinators: assessing the pollination efficiency of the squash bee, *Peponapis limitaris* in *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). Journal of Insect Conservation 4(3):201-208. <https://doi.org/10.1023/A:1009685422587>.
- Castaño, C. I., M. A. C. Demeulemeester, and M. P. De Proft. 1997. Incompatibility reactions and genotypic identity status of five commercial chicory (*Cichorium intybus* L.) hybrids. Scientia Horticulturae 72(1):1-9. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(97\)00111-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(97)00111-8).
- Cavigliasso, P., F. M. F. Bello, M. F. Rivadeneira, N. O. Monzon, G. B. Gennari, and M. Basualdo. 2020. Pollination efficiency of managed bee species (*Apis mellifera* and *Bombus pauloensis*) in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) productivity. Journal of Horticultural Research 28(1):57-64. <https://doi.org/10.2478/johr-2020-0003>.
- Chacoff, N. P., and M. A. Aizen. 2007. Pollination requirements of pigmented grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) from Northwestern Argentina. Crop Science 47(3):1143-1150. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.09.0586>.
- Chacoff, N. P., M. A. Aizen, and V. Aschero. 2008. Proximity to forest edge does not affect crop production despite pollen limitation. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 275(1637):907-913. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1547>.
- Chacoff, N. P., C. L. Morales, L. A. Garibaldi, L. Ashworth, and M. A. Aizen. 2010. Pollinator dependence of Argentinean agriculture: current status and temporal analysis. The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology 3:106-116.
- Chandel, Y. S., V. Sagar, and S. Parmar. 2016. Performance of *Apis mellifera* L. in cabbage hybrid seed production in net houses. Current Science 110(1):8-30.
- Cuesta, G., P. Martín, L. F. Guillen, and G. Lemole. 2020. San Juan county horticulture profile. Horticultura Argentina 39(98):35-57.
- Coppens d'Eeckenbrugge, G., J. Gobbe, B., and Evrard. 1987. Fertilité. Pp. 21-26 en B. Longly and B. P. Louant (eds.). Mécanismes de la reproduction chez la chicoree de Bruxelles: fondements et applications a la selection. I.R.S.I.A.
- Cornejo, A. 2011. Manual técnico: Producción artesanal de semilla de hortalizas para huerta familiar. FAO.
- Cruden, R. W. 2000. Pollen grains: why so many? Pollen and Pollination 222(1/4):143-165. <https://doi.org/10.1007/BF00984100>.
- Della Gaspera, P. 2013. Manual del cultivo del zapallo anquito (*Cucurbita moschata* Duch.) Estación Experimental

- Agropecuaria La Consulta. Centro Regional Mendoza-San Juan. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. I.S.B.N.: 978-987-521-465-1.
- Devi, S., R. Gulati, K. Tehri, and A. Poonia. 2015. The pollination biology of onion (*Allium cepa* L.)-A Review. *Agricultural Reviews* 36(1):1-13. <https://doi.org/10.5958/0976-0741.2015.00001.X>.
- Fang, Z., Y. Liu, P. Lou, and G. Liu. 2004. Current trends in cabbage breeding. *Journal of New Seeds* 6(2-3):75-107. https://doi.org/10.1300/J153v06n02_05.
- Fox, J., S. Weisberg, D. Adler, D. Bates, G. Baud-Bovy, S. Ellison, and R. Heilberger. 2011. Package "car": Companion to applied regression. URL: cran.r-project.org.
- Gallai, N., J. M. Salles, J. Settele, and B. E. Vaissière. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68(3):810-821. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>.
- Garibaldi, L. A., I. Steffan-Dewenter, C. Kremen, J. M. Morales, R. Bommarco, S. A. Cunningham, et al. 2011. Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology Letters* 14(10): 1062-1072. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01669.x>.
- Garibaldi, L. A., L. G. Carvalheiro, S. D. Leonhardt, M. A. Aizen, B. R. Blaauw, R. Isaacs, et al. 2014. From research to action: enhancing crop yield through wild pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment* 12(8):439-447. <https://doi.org/10.1890/130330>.
- Garibaldi, L. A., S. Aguiar, M. A. Aizen, C. L. Morales, and A. Sáez. 2017. ¿Diversidad o dominancia en la producción de alimentos? El caso de los polinizadores. *Ecología Austral* 27(3):340-347. <https://doi.org/10.25260/EA.17.27.3.0.494>.
- Garibaldi, L. A., A. Sáez, M. A. Aizen, T. Fijen, and I. Bartomeus. 2020. Crop pollination management needs flower' visitor monitoring and target values. *Journal of Applied Ecology* 57(4):664-670. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13574>.
- Garratt, M. P. D., C. L. Truslove, D. J. Coston, R. L. Evans, E. D. Moss, C. Dodson, N. Jenner, J. C. Biesmeijer, and S. G. Potts. 2014. Pollination deficits in UK apple orchards. *Journal of Pollination Ecology* 12:9-14. [https://doi.org/10.26786/1920-7603\(2014\)8](https://doi.org/10.26786/1920-7603(2014)8).
- Goites, E. 2008. Manual de cultivos para la huerta orgánica familiar. Prohuerta INTA Ed. Pp. 163.
- Haedo, J. P., L. C. Martínez, S. Graffigna, H. J. Marrero, and J. P. Torretta. 2022. Managed and wild bees contribute to alfalfa (*Medicago sativa*) pollination. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 324:107711. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107711>.
- Hothorn, T., F. Bretz, P. Westfall, R. M. Heiberger, A. Schuetzenmeister, S. Scheibe, and M. T. Hothorn. 2016. Package 'multcomp'. Simultaneous inference in general parametric models. Project for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Hünicken, P. L., C. L. Morales, N. García, and L. A. Garibaldi. 2020. Insect pollination, more than plant nutrition, determines yield quantity and quality in apple and pear. *Neotropical Entomology* 49(4):525-532. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00763-0>.
- Hünicken, P. L., C. L. Morales, M. A. Aizen, G. K. Anderson, N. García, and L. A. Garibaldi. 2021. Insect pollination enhances yield stability in two pollinator-dependent crops. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 320:107573. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107573>.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2015. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology* 27: Supplement, Rules.
- Klein, A. M., I. Steffan-Dewenter, and T. Tscharntke. 2003. Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270:955-961. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2306>.
- Klein, A. M., B. E. Vaissiere, J. H. Cane, I. Steffan-Dewenter, S. A. Cunningham, C. Kremen, and T. Tscharntke. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274(1608):303-313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>.
- Kremen, C., N. M. Williams, R. L. Bugg, J. P. Fay, and R. W. Thorp. 2004. The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters* 7(11):1109-1119. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00662.x>.
- Lautenbach, S., R. Seppelt, J. Liebscher, and C. F. Dormann. 2012. Spatial and temporal trends of global pollination benefit. *PLOS ONE* 7(4):e35954. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035954>.
- Lázaro, A., C. Gómez-Martínez, D. Alomar, M. A. González-Estévez, and A. Traveset. 2020. Linking species-level network metrics to flower traits and plant fitness. *Journal of Ecology* 108(4):1287-1298. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13334>.
- Leishman, M. R. 2001. Does the seed size/number trade-off model determine plant community structure? An assessment of the model mechanisms and their generality. *Oikos* 93:294-302. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2001.930212.x>.
- Loy, B. J. 2004. Morpho-Physiological aspects of productivity and quality in squash and pumpkins (*Cucurbita* spp.). *Critical Reviews in Plant Science* 23(4):337-363. <https://doi.org/10.1080/07352680490490733>.
- Mazzolari, A. C. 2017. Análisis de factores que contribuyen a la invasión de rosa mosqueta (*Rosa canina* y *R. rubiginosa*) en Mendoza. Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina. Pp. 24-39.
- Moles, A. T., and M. Westoby. 2006. Seed size and plant strategy across the whole life cycle. *Oikos* 113:91-105. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2006.14194.x>.
- Morello, J. 2012. Ecorregión del Monte de Sierras y Bolsones. Pp. 265-291 *en* J. Morello, S. D. Matteucci, A. F. Rodríguez and M. E. Silva (eds.). Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos. FADU-GEPAMA.

- Partap, U., and L. R. Verma. 1994. Pollination of radish by *Apis cerana*. Journal of Apicultural Research 33(4):237-241. <https://doi.org/10.1080/00218839.1994.11100877>.
- Paudel, Y. P., R. Mackereth, R. Hanley, and W. Qin. 2015. Honey bees (*Apis mellifera* L.) and pollination issues: current status, impacts, and potential drivers of decline. Journal of Agricultural 7(6):93-109. <https://doi.org/10.5539/jas.v7n6p93>.
- Potts, S. G., J. C. Biesmeijer, C. Kremen, P. Neumann, O. Schweiger, and W. E. Kunin. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. Trends in Ecology and Evolution 25(6):345-353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>.
- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: R-project.org.
- Requier, F., K. Antúnez, L. C. Morales, P. Aldea Sánchez, D. Castilhos, P. M. Garrido, A. Giacobino, et al. 2018. Trends in beekeeping and honey bee colony losses in Latin America. Journal of Apicultural Research 57(5):657-662. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494919>.
- Roqueiro, G. 2012. La fotooxidación en la semilla de sauce y sus consecuencias en la imbibición y formación de la plántula. Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. Pp. 6-16.
- Sáez, A., M. A. Aizen, S. Medici, M. Viel, E. Villalobos, and P. Negri. 2020. Bees increase crop yield in an alleged pollinator-independent almond variety. Scientific Reports 10(1):1-7. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59995-0>.
- Sánchez-Bayo, F., and K. A. Wyckhuys. 2019. Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. Biological Conservation 232:8-27. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>.
- Stanton, M. L. 1987. Reproductive biology of petal color variants in wild populations of *Raphanus sativus*: I. Pollinator response to color morphs. American Journal of Botany 74(2):178-187. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1987.tb08595.x>.
- Webber, S. M., M. P. Garratt, M. Lukac, A. P. Bailey, T. Huxley, and S. G. Potts. 2020. Quantifying crop pollinator-dependence and pollination deficits: The effects of experimental scale on yield and quality assessments. Agriculture, Ecosystems and Environment 304:107106. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107106>.
- Wickham, H. 2016. ggplot2: elegant graphics for data analysis. Springer-Verlag, New York. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>.
- Young, H. J., and T. P. Young. 1992. Alternative outcomes of natural and experimental high pollen loads. Ecology 73(2): 639-647. <https://doi.org/10.2307/1940770>.
- Zur, I., M. Klein, F. Dubert, L. Samek, H. Walligorska, I. Zuradzka, and E. Zawislak. 2003. Environmental factors and genotypic variation of self-incompatibility in *Brassica oleracea* var. capitata. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 45(1):49-52.
- Zuur, A. F., E. N. Ieno, N. J. Walker, A. A. Saveliev, and G. M. Smith. 2009. Mixed Effect Models and Extensions in Ecology with R. Springer, New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-87458-6>.