



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

**DIVERSIDAD DE PÓLENES
DISPERSADOS POR ABEJAS
SOLITARIAS A NIDALES
ARTIFICIALES EN OLIVAR:
EFECTOS DEL CONTEXTO DE
PAISAJE, INTENSIFICACIÓN
AGRÍCOLA Y PRÁCTICAS
AGRO-AMBIENTALES.**

Alumno: JIMÉNEZ JIMÉNEZ, JOAQUÍN

Tutores: Domingo Cano Sáez
Luis Ruiz Valenzuela

Dpto: Departamento de Ecología

Octubre, 2021



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

DIVERSIDAD DE PÓLENES DISPERSADOS POR ABEJAS SOLITARIAS A NIDALES ARTIFICIALES EN OLIVAR: EFECTOS DEL CONTEXTO DE PAISAJE, INTENSIFICACIÓN AGRÍCOLA Y PRÁCTICAS AGRO-AMBIENTALES.

Firma Alumno:
JIMÉNEZ JIMÉNEZ, JOAQUÍN

Firmas Tutores:
Domingo Cano Sáez

DOMINGO
CANO SÁEZ
- 26258823E
Firmado digitalmente por DOMINGO CANO SÁEZ - 26258823E
Fecha: 2021.10.08 17:59:24 +02'00'

Luis Ruiz Valenzuela

RUIZ
VALENZUELA
LA LUIS -
26014027S
Firmado digitalmente por RUIZ VALENZUELA
LUIS - 26014027S



ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. RESUMEN / ABSTRACT	1
1.1. Palabras clave / Key words	3
2. INTRODUCCIÓN.....	4
2.1. Insectos polinizadores en los agrosistemas: importancia de las abejas solitarias.....	4
2.2. Prácticas agrícolas, contexto paisajístico y biodiversidad en el olivar	15
3. OBJETIVOS.....	14
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
4.1. Área de investigación y diseño de estudio.....	15
4.2. Material de muestreo.....	16
4.3. Proceso de extracción y procedimiento experimental.....	17
4.4. Análisis de datos	20
5. RESULTADOS.....	23
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	33
7. CONCLUSIONES.....	40
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
9. ANEXOS	47



1. | RESUMEN

El cambio en el uso del suelo hacia agrosistemas y la intensificación de las prácticas agrícolas son importantes causantes de pérdida de biodiversidad y servicios ecosistémicos. Conscientes de las grandes dimensiones de superficie dedicadas al cultivo del olivo en Europa y, concretamente, en Andalucía, se plantea comprender el efecto del manejo agrícola y la complejidad paisajística en la diversidad biológica, a través del estudio de las comunidades vegetales y las abejas solitarias que habitan en los olivares.

Mediante la colocación de 72 nidales artificiales para abejas solitarias repartidos en 12 fincas de seis localidades pertenecientes a tres provincias de Andalucía (Jaén, Córdoba y Sevilla), se estudió la diversidad polínica que dichas abejas solitarias recogen, como indicador de la situación ambiental, gracias a la variabilidad en el tipo de manejo (extensivo o intensivo) y contexto paisajístico (simple, intermedio y complejo) que ofrecen las fincas de estudio. Paisajes complejos ofrecen diferencias significativas en la composición polínica frente a paisajes simples e intermedios. Por otro lado, en paisajes intermedios con manejo extensivo, la diversidad polínica observada es inferior respecto a fincas con manejo intensivo. Una explicación probable para este patrón es que, en los paisajes intermedios, las abejas solitarias que nidifican en los olivares intensivos son capaces de visitar con frecuencia los hábitats seminaturales ricos en flores que están fácilmente accesibles (la cobertura de hábitat natural no forestal en este tipo de paisaje es importante) transportando el polen de los remanentes de hábitat a sus nidos. Por el contrario, en los olivares de manejo extensivo situados en esos mismos paisajes, las abejas se mueven solo en la proximidad de los nidos porque allí tienen acceso directamente al polen ampliamente disponible de las cubiertas herbáceas del campo de olivar. Finalmente, se analizó la correlación positiva entre la diversidad polínica que portan las abejas solitarias y la riqueza de herbáceas observada en el entorno cercano a los nidales, frente a la riqueza de herbáceas estimadas en toda la finca. Estos resultados permiten avanzar en el conocimiento para comprender y proteger la biodiversidad de los cultivos por su valor intrínseco, pero también por los importantes servicios ecosistémicos que ofrecen.



1. | ABSTRACT

Land use change to agroecosystems and agricultural intensification are important causes of biological diversity reduction and loss of ecosystem services. Being aware of the large area dedicated to olive cultivation in Europe and Andalusia, this work aims to understand the effect that agricultural management and landscape complexity have on biological diversity, by studying the plant communities and solitary bees that inhabit olive groves.

Through the placement of 72 solitary bees trap nests distributed in 12 farms in six localities belonging to three provinces of Andalusia (Jaén, Córdoba and Seville), the diversity of pollen collected by these solitary bees was studied as an indicator of the environmental situation, thanks to the variability in the type of management (extensive or intensive) and landscape context (simple, intermediate and complex) offered by the study farms. Complex landscapes offer significant differences in pollen composition compared to simple and intermediate landscapes. On the other hand, in intermediate landscapes with extensive management, the observed pollen diversity is lower compared to farms with intensive management. A probable explanation to this pattern is that, in intermediate landscapes, solitary bees nesting in intensive farms visit frequently the accessible seminatural habitats that are rich in flowers (the proportion of non-forest natural habitat coverage in this type of landscape is important), carrying out pollen from habitats remnants to their nests, while in extensive farm bees move just in the close neighbourhood of the nests because they have access to pollen directly in the olive field. Finally, the positive correlation between the pollen diversity carried by solitary bees and the herbaceous richness observed in the bee hotels environment was analysed and compared with the richness of herbaceous plants estimated throughout the farm. These results allow us to understand and protect the biodiversity of crops for their intrinsic value, but also for the important ecosystem services they offer.



Palabras clave: abejas solitarias, polen, cajas nido para abejas, complejidad del paisaje, intensificación, manejo ecológico, biodiversidad.

Key Words: solitary bees, pollen, “Bees hotels”, landscape complexity, intensification, ecological management, biodiversity.



2. | INTRODUCCIÓN

La agricultura intensiva, fomentada en las últimas décadas en busca de mayores niveles de producción, genera graves problemas ambientales como el cambio en el uso del suelo, la simplificación del paisaje, la fragmentación de hábitats naturales y consecuentemente la pérdida de diversidad biológica (Tilman et al., 2001). Donde antes existían extensos ecosistemas naturales en los que la biodiversidad era protagonista, ahora solo quedan pequeños parches naturales dentro de una gran matriz agrícola que dificulta la conservación de las comunidades vegetales originales y afecta al desarrollo de organismos animales. Este efecto es más acusado cuando, además de producirse dicho cambio en el uso del suelo hacia sistemas agrícolas, estos desarrollan prácticas que buscan la máxima homogeneidad y simplificación posible (Tscharntke et al., 2005), en el que las especies cultivadas son las únicas aceptadas y el resto de componentes del sistema son eliminados. El único valor tenido en cuenta en estos modelos agrícolas es la producción, olvidando otros servicios ecosistémicos que comunidades biológicas diversas pueden ofrecer, como, por ejemplo, protección del suelo frente a la erosión, fertilización natural de esos suelos, polinización de cosechas y especies silvestres o control de plagas. Por el contrario, se prefiere hacer un sobreesfuerzo aplicando herbicidas, plaguicidas o fertilizantes externos, los cuales aumentan el costo hasta que los beneficios obtenidos por una mayor producción se ven neutralizados.

Proteger la biodiversidad, dentro de las posibilidades que permita el sistema agrícola, debe ser prioritario, pues es conocido que sistemas con amplia variabilidad de especies funcionalmente similares poseen una mayor resiliencia frente a perturbaciones garantizando así el mantenimiento de los servicios ecosistémicos. Por el contrario, una reducción en esa variabilidad biótica puede afectar negativamente al correcto desarrollo de dichos servicios, algunos de ellos necesarios en el ámbito agrícola y para la actividad humana en general (Gámez-Virúes et al., 2015).

4.1. Insectos polinizadores en los agrosistemas: importancia de las abejas solitarias.

Dentro de los componentes biológicos que forman parte de los ecosistemas, existen grupos de organismos claves que ofrecen importantes servicios ecosistémicos y que actualmente se ven gravemente afectados por los factores anteriormente mencionados, y más concretamente por prácticas poco respetuosas con el medio a través de la agricultura intensiva. Ejemplo de ellos son los insectos polinizadores, un grupo de animales encargados de la polinización de aproximadamente el 90% de las especies de plantas (Linder, 1998) y el 87,5% de las angiospermas dentro de ellas (Ollerton et al., 2011). La polinización es



entendida como el proceso de transporte de los gametofitos masculinos de las plantas gimnospermas y angiospermas hacia la parte femenina de esa u otra planta de la misma especie, a la cual prosigue la fecundación y formación de semillas (Pacini, 2015). Por tanto, los polinizadores son aquellos animales que intervienen en dicho transporte y permiten la permanencia de muchas especies vegetales silvestres en las comunidades, pero también de interés económico desde un punto de vista antrópico (Buchmann y Ascher, 2005; Tscheulin et al., 2011). De hecho, se estima que el 75% de las especies cultivadas dependen de los insectos polinizadores (Goulson et al., 2015; Winfree, 2010). A esta polinización se le denomina zoofilia, y aunque no es el único tipo, se ha convertido en la más común y efectiva entre las plantas debido a que contrarresta la confusión y la dirección errónea de los granos de polen gracias a la especificidad en la interacción planta-polinizador (Vogel y Westerkamp, 1991). Como los polinizadores más específicos y efectivos se encuentran los insectos, y más concretamente las abejas (Tscheulin et al., 2011), pertenecientes al orden Hymenoptera, suborden Apocrita, infraorden Aculeata y superfamilia Apoidea (Aguilar et al., 2013). Es un grupo amplio presente en todos los continentes y hábitats (Ortiz-Sánchez et al., 2018) cuyos integrantes quedan repartidos en 7 familias (Melittidae, Apidae, Megachilidae, Andrenidae, Halictidae, Stenotritidae y Colletidae) (Danforth et al., 2019). Se caracterizan por ser los polinizadores más eficaces de los numerosos cultivos y plantas silvestres no anemófilas (Batra, 1995), probablemente, a causa de su alta diversidad y a su hábito de visitar las flores de una misma especie en sucesión, de forma constante y frecuente. Esto es debido a que requieren de grandes cantidades de néctar y polen, pues son florívoros obligados en varias etapas de su ciclo de vida (Batra, 1984; Michener, 2007). Además, cuentan con una gran variedad de pelos en el cuerpo y las patas, adaptados y especializados a la recogida de polen y otras sustancias que ofrecen las flores, pudiendo retener hasta 15.000 granos por abeja (Batra, 1984). Se conocen más de 20.000 especies de abejas (Ascher y Pickering, 2017; Danforth et al., 2019), las cuales interactúan con la mayor parte de especies de angiospermas del planeta (Goulson et al., 2015; Buchmann y Ascher, 2005). El principal servicio ecosistémico que ofrecen es la polinización mediante el movimiento de grandes cantidades de polen de unas flores a otras durante el proceso de cosecha de este y de néctar para alimentar a sus crías. La eficiencia de estos polinizadores quedo demostrada en el estudio de Müller et al. (2006) al comprobar que, para criar una sola larva, se requiere todo el contenido polínico de 30 flores, un dato variable dependiendo de la especie de abeja y de las flores disponibles. No obstante, la polinización no es el único servicio, ya que también ofrecen beneficios ecológicos de bioturbación al hacer túneles bajo tierra (Watanabe, 1998), enriquecen el suelo con nitrógeno, dispersan nutrientes o actúan como presas para otros animales depredadores (Buchmann y Ascher, 2005).



Sin embargo, en las últimas décadas se han visto incrementadas las presiones y amenazas hacia estos organismos, siendo estudiada su disminución poblacional en todo el mundo y llegándose a hablar de una posible “crisis de polinizadores” (Holden, 2006; Gross, 2008). Son muchos los factores que pueden contribuir a la reducción de las abejas, donde la pérdida de hábitat resulta un factor relevante. La disminución de recursos florales por la conversión de hábitats ricos en flores naturales y seminaturales en tierras de cultivo (Goulson et al., 2015) y la escasa disposición de materiales o lugares necesarios para la anidación son problemas graves que afectan de forma directa a las abejas (Potts et al., 2010). Otro factor que acrecienta el efecto negativo es el uso de herbicidas que hacen posible la existencia de monocultivos casi puros reduciendo la disponibilidad de las pocas flores que quedan (Buchmann y Ascher, 2005). Todo lo anteriormente mencionado puede causar, además, problemas en la salud individual de las abejas por una alimentación monótona (Goulson et al., 2015). Pero la agricultura intensiva va más allá, pues mediante el uso de insecticidas, acaba con grandes poblaciones de insectos, entre ellos las abejas, por contacto directo o por ingesta continuada de recursos contaminados. También se ven afectadas por la introducción de especies vegetales exóticas que colonizan grandes superficies y desplazan a las autóctonas y por polinizadores exóticos que compiten con los nativos por los recursos florales y sitios de anidación (Buchmann y Ascher, 2005; Cane y Tepedino, 2017), que además pueden provocar la propagación irreversible de muchos parásitos y patógenos graves (Goulson et al., 2015). A ello se añade la construcción de carreteras y otras infraestructuras que contribuyen a la fragmentación de hábitats y aumento de mortalidad por colisiones con vehículos. El cambio climático también es considerado una amenaza para las abejas, debido a los efectos que les pueden causar teniendo en cuentas sus tolerancias térmicas (Thomas et al., 2004), pero también por el aumento de los fenómenos meteorológicos extremos como las inundaciones, que afectan a las abejas que anidan o hibernan bajo tierra (Goulson et al., 2015).

En vista de la drástica situación en la que se encuentran las abejas en la actualidad, se han tratado de proteger mediante listas rojas (Shepherd et al., 2003) y se han desarrollado en las últimas décadas numerosas campañas sociales con el objetivo de concienciar acerca de su importancia para la vida silvestre y la actividad humana. No obstante, se ha tendido a focalizar la atención en un grupo de ellas, las abejas eusociales, cuya organización social y estilo de vida en colmena son el sello distintivo de la vida de las abejas para muchas personas (Batra, 1984; Danforth et al., 2019). Esta perspectiva se acentúa cuando, además, ofrecen servicios ecológicos y económicos evidentes, como es el caso de la abeja doméstica o europea (*Apis mellifera* L.). Sin embargo, este grupo de abejas no es el más

representativo del clado Anthophila, ya que más del 75% de las abejas de todo el mundo, unas 15.550 especies, son solitarias (Danforth et al., 2019), y concretamente en España, estas constituyen el 95% de las más de 1100 especies identificadas (Ortiz-Sánchez et al., 2018). De hecho, se ha descubierto que son los polinizadores silvestres los que polinizan la mayor parte de los cultivos a escala mundial (Rader et al., 2012), en lugar de abejas melíferas (Mallinger y Gratton, 2014; Breeze et al., 2011; Garibaldi et al., 2013; Winfree, 2010).

Las abejas solitarias se alejan de la idea preconcebida de insectos eusociales, pues cada hembra se aparea de forma independiente, construye su propio nido, lo protege de intrusos y lo aprovisiona de alimento para su descendencia (Danforth et al., 2019). Sus características corporales destacan por su enorme variabilidad y no suelen asemejarse a las propias de especies como las abejas melíferas, sino que suelen ser más similares a avispa, abejorros o moscas. En cuanto a la longitud del cuerpo varía de 1,5 a 46 mm, y en algunas especies es brillante casi sin pelo, mientras que otras poseen un denso pelaje (*Imagen 1*), siendo el color de este pelo, manchas o rayas extremadamente variable (Batra, 1984).



Imagen 1: Especies de abeja solitaria, *Osmia bicornis* (izquierda) y *Osmia* sp. (derecha), con abundante pelaje observada bajo la lupa. Fotografías propias.

Estas abejas vuelan constantemente durante el día con el objetivo de recoger el suficiente polen, néctar y aceites necesarios que servirán de alimento a sus crías. Estos recursos son almacenados en forma de paquetes con los que rellenan sus nidos y celdas de cría previamente contruidos (Müller et al, 2006). La mayoría de las abejas solitarias hacen dichos nidos bajo tierra o en cavidades ya existentes en ella, prefiriendo suelos desnudos, secos y expuestos ligeramente al sol de la mañana. No obstante, en un grupo tan diverso surgen numerosas formas de nidificación. Las hay que sitúan sus puestas en cavidades preestablecidas sobre el suelo (Bosch et al., 1993), mientras que otras especies construyen celdas de cría agrupadas de barro o resina en ramas y paredes, perforan agujeros redondos

en madera, bambú o tallos, e incluso algunas especies ponen sus huevos en los nidos de otras abejas de forma parásita (Batra, 1984). El grado de especialización es alto, pues, por ejemplo, en aquellas que utilizan cavidades ya existentes por encima del suelo, dependiendo de la especie, utilizarán barro, resina, fibra vegetal, seda o capas ordenadas de óvalos y círculos cortados de hojas y pétalos para separar las distintas celdas de cría.

La mayoría de las abejas solitarias vuelan durante el día recolectando provisiones, ponen un huevo por la tarde, sellan la celda y comienzan a preparar por la noche otra celda para el día siguiente (Batra, 1984).

Si no se producen episodios de parasitación por otros invertebrados o aparición de microorganismos que puedan echar a perder las provisiones alimentarias, los huevos eclosionarán y las abejas atravesarán un estado de larva en el que se alimentarán del aprovisionamiento ofrecido por sus madres. Atravesado el último estado larvario, pueden entrar en una fase de diapausa o seguir su desarrollo hasta el estado adulto pasando por una fase de pupa durante una o dos semanas. (Danforth et al., 2019) (*Imagen 2*). Las abejas masculinas solitarias suelen emerger unos días antes de la pupa que las hembras y al salir se alimentan de néctar y polen, mientras buscan hembras vírgenes recién emergidas. Al verse atraídos por las feromonas sexuales que desprenden, se abalanzan sobre ellas para proceder al apareamiento. En ese momento, las hembras fecundadas dedicarán su tiempo a ubicar y acomodar sus nidos, comenzando de nuevo el ciclo y muriendo cuando hayan terminado la puesta (Batra, 1984).

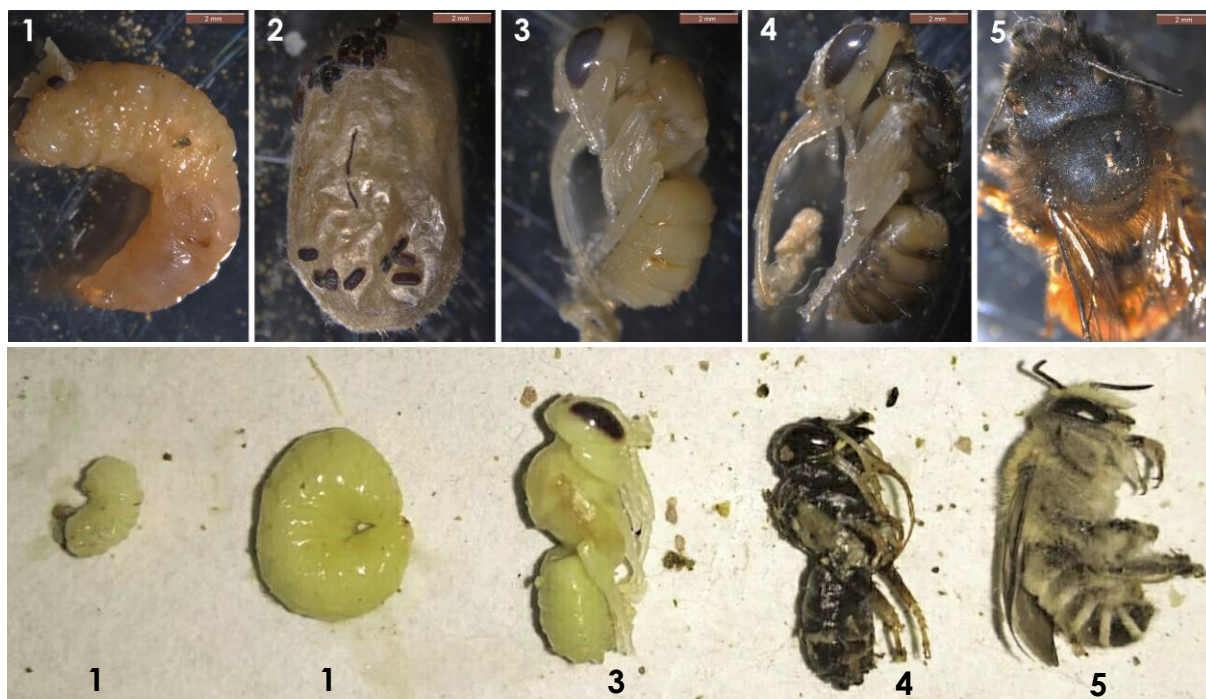


Imagen 2: Diferentes etapas del desarrollo de una abeja solitaria observados a la lupa. Larva recién emergida del huevo (1), pupa (2), diferentes grados de desarrollo de la larva (3 y 4) previos a la transformación en adulto (5). Fotografías superiores propias y fotografía inferior de David Ossorio.

Resulta de especial interés para este estudio concreto la biología y comportamiento de aquellas abejas solitarias que ubican sus nidos en cavidades preexistentes por encima de la altura del suelo. Estos lugares pueden ser galerías hechas por otros insectos en madera, paredes o arcilla, tallos huecos, grietas u orificios de origen antrópico (Bosch et al., 1993; Goulson et al., 2015). Si las cavidades lo permiten, suelen construir series lineales de celdas en las que depositan una masa de polen o néctar y un huevo, separadas entre sí por tabiques de distintos materiales dependiendo de la especie (barro, piedras de pequeño diámetro, hojas machacadas, fibra vegetal, óvalos recortados de hojas, resina) (*Imagen 3*). Cuando todas las celdas están rellenas, sellan la entrada con un tabique final que actúa de tapón (Bosch et al., 1993).

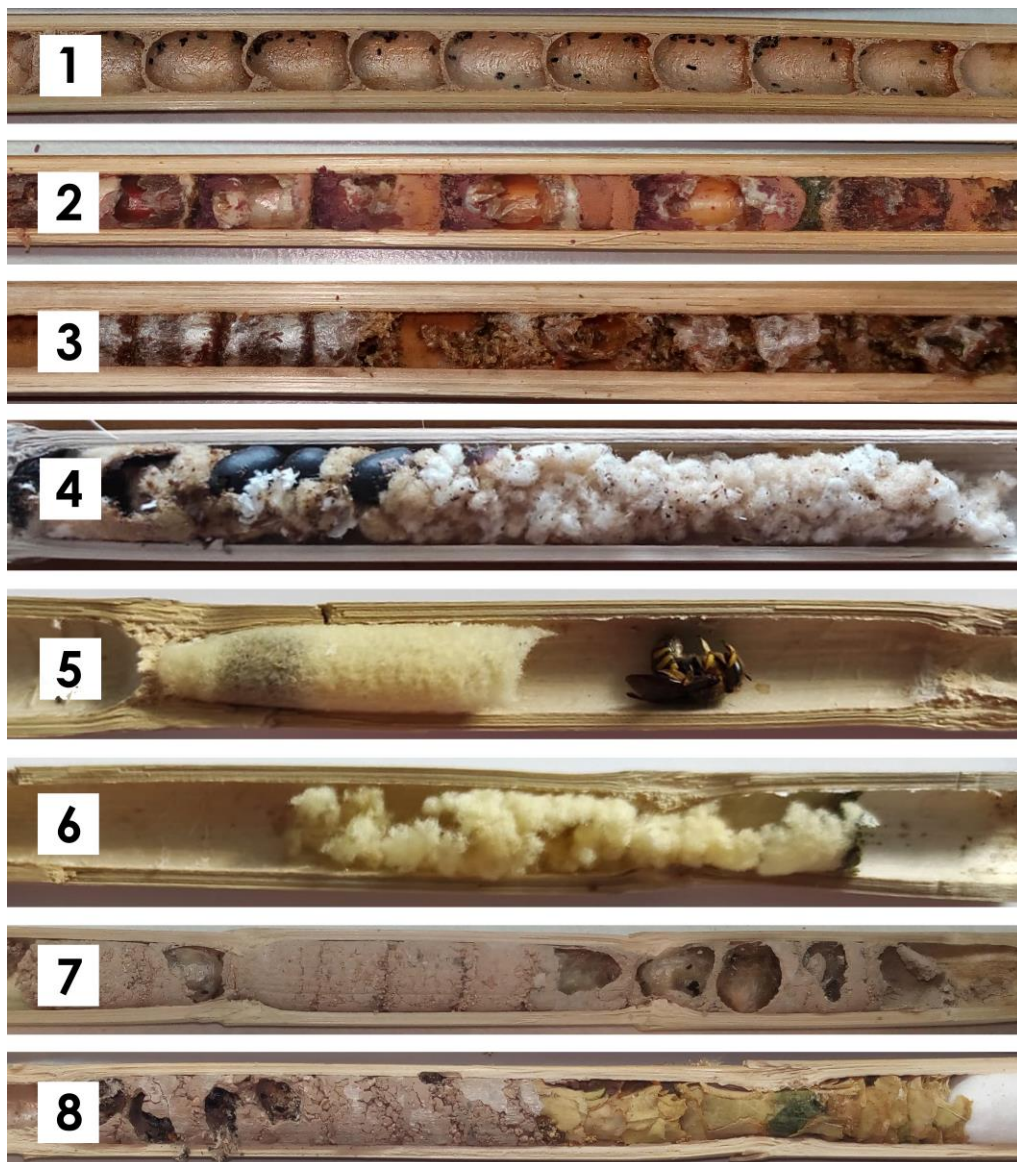


Imagen 3: Variedad de materiales con los que las distintas especies de abejas solitarias que anidan en cavidades preexistentes por encima del suelo construyen sus celdas de cría: barro (1 y 7), hojas trituradas (2 y 3), fibra vegetal (4, 5 y 6) y un caso especial en el que una caña ha sido colonizada por ambos extremos por abejas de distinta especie (8), una que utiliza barro (izquierda) y otra que utiliza óvalos y círculos cortados de hojas y pétalos (derecha). Fotografías propias (1, 2, 3, 7 y 8) y de Domingo Cano (4, 5 y 6).

Conociendo esto y teniendo a disposición los materiales necesarios, pueden construirse nidos artificiales recreando las condiciones naturales para potenciar la presencia de estos polinizadores o para desarrollar estudios con fines científicos. Es el caso de los conocidos nidos para abejas solitarias, también llamados hoteles para abejas (“bee hotels”) o nidos-trampa de abejas (“bee trap nest”). Pueden presentar una gran variedad de diseños y materiales, pero todos ellos se basan en la puesta a disposición de una serie de oquedades que resultan útiles para la anidación de abejas solitarias, ya sea mediante bloques de madera perforados, tallos de plantas huecos agrupados (juncos, cañas de bambú o cañas carrizo huecos), tubos de papel o agujeros moldeados en plástico (MacIvor y Packer, 2015; Staab et al., 2018) (*Imagen 4*). A la hora de su construcción y ubicación hay que tener en cuenta una serie de factores como el diámetro de las cavidades, la altura a la que se coloca respecto al suelo o conocer que recursos de anidación hay disponibles para las abejas (Fortel et al., 2016). Tras su colocación, las hembras de abejas solitarias en busca de sitios de anidación adecuados son atraídas por este recurso muchas veces restringido, donde construyen sus nidos y depositan sus huevos. De esta forma las crías en desarrollo quedarán “atrapadas” hasta que emerjan como adultos y puedan ser recolectadas, observadas, criadas y estudiadas, no solo al final del proceso, sino también durante las diferentes etapas de su desarrollo (Staab et al., 2018).



Imagen 4: Diferentes materiales y modelos de nidos para abejas solitarias. Imágenes propias y Domingo Cano.

El uso de nidos-trampa es frecuentemente utilizado como técnica, no solo para indagar en el conocimiento de la biología de anidación de las abejas solitarias, sino también para el muestreo de su frecuencia y abundancia (Gazola y Garófalo, 2009) y para revelar y

cuantificar sus interacciones tróficas, todo de una forma pasiva, estandarizada y fiable (Martínez-Núñez et al., 2019a). En comparación con otras técnicas comúnmente utilizadas de recolección y muestreo de abejas como trampas con cuencos de colores llenos de agua jabonosa y redes manuales en las flores, los nidales de abejas ofrecen claras ventajas: las comunidades interceptadas son pequeñas y fáciles de manejar, las especies en su mayoría son taxonómicamente bien conocidas, permiten asociaciones macho-hembra, son bastante específicas excluyendo otros organismos no deseados y pueden no ser destructivas con los organismos implicados (Staab et al., 2018). Incluso, desde una perspectiva más amplia, esta técnica puede ir más allá del monitoreo de abejas, depredadores y parásitos. Debido a que estos polinizadores recolectan grandes cantidades de polen, como se ha visto, analizar dichos paquetes de polen (*Imagen 5*) puede ayudarnos a muestrear aquellas especies de plantas que suelen visitar en los entornos donde son ubicados, pues la mayoría de las especies de abejas que anidan en cavidades preexistentes tienen una capacidad de dispersión bastante limitada (Zurbuchen et al., 2010) y por consiguiente recorren distancias cortas para alimentarse (Staab et al., 2018). Esto resulta ventajoso pues ofrece una radiografía de las interacciones polinizador-planta (Martínez-Núñez et al., 2019b) sin necesidad de un monitoreo presencial, el cual resultaría complejo, largo y tedioso.



Imagen 5: Paquetes de polen que las abejas solitarias recogen y almacenan en cada celda de cría para alimentar a sus larvas. Nótese el cambio en la coloración en forma de anillos en algunos paquetes, correspondientes a distintos tipos polínicos. Fotografía propia.

Los monitoreos biológicos son herramientas básicas para los estudios iniciales de la diversidad biológica, así como para el seguimiento de las alteraciones de diferentes componentes de esta diversidad (Gazola y Garófalo, 2009). Es así como, frente a la situación provocada por el incremento de la agricultura intensiva, resulta de especial importancia conocer cómo se haya la biodiversidad de estos hábitats y compararla con espacios naturales u otros entornos donde se desarrollen prácticas agrícolas más respetuosas con el medio, así como lo pretende la agricultura extensiva. El análisis de los resultados obtenidos a través de los hoteles para abejas nos ofrece información de este tipo, pues nos permite indagar en el conocimiento de la calidad del hábitat, estudiando los efectos del manejo agrícola y los gradientes de perturbación ambiental (Martínez-Núñez et al., 2020 a y b).

2.2. Prácticas agrícolas, contexto paisajístico y biodiversidad en el olivar.

Uno de los ámbitos agrícolas, entre muchos, afectados por la intensificación en los últimos años es el olivar (Infante-Amate et al., 2016), uno de los cultivos permanentes más extendido y de mayor importancia socioeconómica de Europa y de la región mediterránea. Este, resulta de especial interés debido a que ofrece un gran margen de mejora ambiental en su gestión y potencial de conservación, gracias a su complejidad estructural y estabilidad (Rey et al., 2019). Es prioritario realizar el cambio desde una gestión intensiva hasta alcanzar un modelo de olivar extensivo, ya que la primera compromete la salud ambiental del hábitat mediante la labranza recurrente, aplicación de pesticidas para eliminar plagas animales y hierbas o aplicación de fertilizantes externos. Para lograr un olivar más sostenible y ecológico, se desarrollan prácticas orgánicas extensivas como el mantenimiento de la cobertura de herbáceas y la reducción o eliminación de la aplicación de pesticidas y fertilizantes, muchos de estos cambios fomentados a través de incentivos económicos por los denominados Esquemas Agroambientales (AES) dentro de la Política Agrícola Común (Tarifa et al., 2021). Todo ello trata de promover un sistema en el que la biodiversidad sea coprotagonista con la producción, pues, una comunidad compleja garantiza el correcto desarrollo de los servicios ecosistémicos. Concretamente en el olivar, las abejas solitarias juegan un papel importantísimo, pues, pese a que los olivos son principalmente anemófilos, estos insectos sostienen las comunidades de plantas silvestres que forman las coberturas herbáceas, que previenen la erosión, contribuyen al control de especies plaga y enfermedades (Paredes et al., 2013; Martínez-Núñez et al., 2020a) o mejoran las propiedades físico-químicas del suelo (Gómez et al., 2009; Palese et al., 2014). Es decir, ayudan a mantener gran parte de los servicios de los que el manejo intensivo carece y debe crear mediante insumos externos.

Sin embargo, la diversidad presente en los olivares depende de muchos otros factores aparte del tipo de manejo. De hecho, estudios basados únicamente en cambios en la gestión local han revelado resultados contradictorios sobre la biodiversidad y los servicios de los ecosistemas (Tscharntke et al., 2012). Es por ello que otras investigaciones han planteado incluir en la ecuación otros factores como, por ejemplo, la complejidad del paisaje en el cual queda englobado el cultivo, proponiendo que maximiza la biodiversidad y la ganancia de servicios ecosistémicos cuando tiene un nivel intermedio (Hipótesis de Complejidad del Paisaje Intermedio de Tscharntke et al. en 2012). Es decir, plantea que es posible que los parches del entorno cercano al cultivo (hábitats seminaturales, hábitats naturales forestales o no forestales) proporcionen una cantidad considerable de biodiversidad por

desbordamiento, ayudando a que los cambios de manejo y restauración alcancen su pico óptimo. En paisajes simples, con una presencia de parches naturales poco representativa, dicho desbordamiento sería muy limitado y en paisajes complejos, este sería igualmente grande o mejor, incluso sin llevarse a cabo cambios a nivel local. Basándose en esta hipótesis se han realizado recientes investigaciones, como la desarrollada por Rey et al. (2019) en la que se demostró que la diferencia en la diversidad entre olivares extensivos (con cubiertas herbáceas espontáneas durante la mayor parte del año) e intensivos (eliminan recurrentemente las cubiertas dejando los suelos desnudos) alcanza su punto máximo en los paisajes intermedios, mientras que se reduce mucho en los paisajes simples y complejos. Se piensa que el principal motivo por el cual la matriz del paisaje circundante tiene tanto efecto sobre las abejas que habitan en agrosistemas es porque puede proporcionar un aumento de recursos alimenticios, sitios de anidación y materiales de construcción, ayudando así a cumplir sus necesidades (Steffan-Dewenter, 2003).

En resumen, la cubierta herbácea y los polinizadores que la hacen posible a través de su servicio de polinización, son pilares clave en el manejo extensivo del olivar, por lo que su estudio ofrece una valiosa información en el ámbito de la biodiversidad y los servicios ecosistémicos en los agrosistemas. Sin embargo, la investigación existente hasta ahora tiende a centrarse en cultivos anuales, estudiando algún componente específico de la comunidad o factor influyente. Es por ello, que en el presente estudio se ofrece una perspectiva más holística en la investigación del cultivo leñosos de olivar, en el que se trata de indagar en la relación herbáceas-abejas y en el que se tienen en cuenta factores como el manejo agrícola y la influencia del paisaje de las fincas y su entorno. Contando con 12 fincas de olivar repartidas en tres provincias andaluzas (Jaén, Córdoba y Sevilla) inmersas en paisajes de complejidad variable (simple, intermedia, compleja) y con manejos agrícolas intensivos y extensivos, se trató de investigar acerca de cómo estos factores influyen en la biodiversidad y en los servicios ecosistémicos. Para ello, se utilizó la técnica de muestreo de abejas solitarias mediante nidales artificiales, con el objetivo de identificar y analizar el polen que acumulan estos polinizadores para la cría de su descendencia. Esto ofrece una perspectiva diferente de la relación entre abejas solitarias y recursos florales disponibles que sirve para tratar de resolver las hipótesis planteadas: (i) el manejo agrícola y la complejidad del paisaje afectan a la composición de tipos polínicos que las abejas solitarias recogen y empaquetan en las cavidades artificiales de los nidales, (ii) previendo que será mayor en agrosistemas con manejo extensivo y con paisajes intermedios. Por otro lado, también se plantea que (iii) la diversidad de pólenes acarreados por las abejas solitarias a los nidales guarda relación con la diversidad de pólenes disponibles en el entorno de dichos nidales.



3. | OBJETIVOS

El principal objetivo de estudio es evaluar la variación en la diversidad de pólenes que las abejas solitarias utilizan para crear las reservas alimenticias de las que se alimentarán sus crías, mediante la colocación de nidales-trampa artificiales situados en olivares con distintos manejos agrícolas (extensivo o intensivo) y diferentes contextos paisajísticos (simple, intermedio y complejo). Es de esta forma mediante la cual se puede indagar en los siguientes objetivos específicos:

- a) Conocer si el manejo agrícola y la complejidad del paisaje en la cual quedan inmersas las fincas afectan a la composición de pólenes utilizada por las abejas solitarias.
- b) Evaluar en qué medida y cómo estas variables afectan a la diversidad polínica acarreada.
- c) Determinar la relación entre los tipos polínicos observados en el análisis de los nidales para abejas solitarias y la riqueza de herbáceas disponibles en el entorno donde son ubicados dichos nidales.

4. | MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Área de investigación y diseño de estudio

El procedimiento experimental se desarrolló a lo largo de dos años debido a los requerimientos temporales del propio proyecto. A principios del año 2020 se crearon y ubicaron los niales para abejas solitarias en 6 localidades repartidas por tres provincias de Andalucía (Jaén, Córdoba y Sevilla): Úbeda (olivares codificados con acrónimo CG), La Lantejuela (DL), Mancha Real (MON), Pozoblanco (OLU), Torredonjimeno (PC) y Torres de Albánchez (TA).

En cada localidad se contaba con un par de olivares con distinto manejo agrícola, por tanto, se estudiaron 12 olivares diferentes. El manejo de cada finca se adscribió a uno de los dos tipos siguientes: un manejo intensivo-convencional, en el que no se mantiene la cubierta herbácea y se aplican pesticidas y fertilizantes de síntesis; o, por otro lado, extensivo-orgánico o ecológico, caracterizado por mantener la cubierta herbácea y el no uso de pesticidas ni fertilizantes.

A su vez, las fincas se seleccionaron en base a la complejidad del paisaje que poseían, pudiendo ser simple, intermedio o complejo según los análisis mediante GIS de su cobertura de olivar, cobertura natural forestal y cobertura natural no forestal (datos y caracterización del paisaje tomados del estudio realizado por Rey et al. 2019, ya que las fincas de este trabajo coinciden con algunas de las analizadas en él). La ubicación de los olivares de estudio queda enmarcada en un clima mediterráneo sub-continental caracterizado por presentar inviernos fríos y veranos cálidos, una temperatura media de entre 18 y 19°C y una precipitación anual de entre 500 y 600 mm. Se detallan las características particulares de cada finca en la *Tabla 1*.

Tabla 1: Recopilación de datos característicos de cada finca de estudio. ext = fincas en extensivo; int = intensivo.

FINCA	LOCALIDAD	PROVINCIA	MANEJO	% COBERTURA OLIVAR	% COBERTURA HÁBITAT NATURAL	% COBERTURA FORESTAL	% COBERTURA HÁBITAT NATURAL NO FORESTAL	PAISAJE
CG_ext	Úbeda	Jaén	Extensivo	83,98	14,1	12,88	1,22	Intermedio
CG_int			Intensivo	70,26	13,14	9,86	3,28	
DL_ext	Lantejuela	Sevilla	Extensivo	64,17	5,03	4,68	0,36	Simple
DL_int			Intensivo	62,26	5,78	5,42	0,36	
MON_ext	Mancha Real	Jaén	Extensivo	72,74	22,05	21,74	0,31	Intermedio
MON_int			Intensivo	87,67	7,24	7,17	0,07	
OLU_ext	Pozoblanco	Córdoba	Extensivo	87,96	9,34	8,92	0,42	Complejo
OLU_int			Intensivo	91,16	5,88	4,92	0,95	
PC_ext	Torredonjimeno	Jaén	Extensivo	92,38	4,82	2,29	2,53	Simple
PC_int			Intensivo	79,37	5,07	2,54	2,53	
TA_ext	Torres de Albánchez	Jaén	Extensivo	59,54	31,85	28,2	3,65	Complejo
TA_int			Intensivo	66,52	25,18	21,47	3,71	

4.2. Material de muestreo

El principal recurso utilizado durante el estudio son los nidales de abejas solitarias, “bee hotels” o nidales-trampa para abejas. Los empleados durante este proyecto contaban con una estructura rígida y pesada a partir de un bloque de hormigón (20 x 40 x 20 cm) que sería utilizado como soporte y colocado de pie directamente sobre el suelo en posición sureste. Las cavidades centrales que poseen estos bloques se rellenaron con troncos de madera perforados, cañas de carrizo de 12, 15 o 20 mm y cañas de bambú de 9 mm de diámetro (*Imagen 6*). Todos estos elementos poseían una longitud de 17 cm y se hallaban huecos para permitir la colonización por parte de las abejas solitarias. En total se colocaron 72 nidales, 6 en cada finca. Un solo nidal contaba con 104 cavidades sumando las perforadas en la madera y las ofrecidas por las cañas. En total son 624 cavidades por finca y, por consiguiente, se presentaron 7488 a disposición de ser ocupadas por abejas solitarias. Dos de los seis nidales con los que contaba cada finca se ubicaron en el interior del olivar, también denominada zona productiva, mientras que los otros cuatro se situaron en las zonas improductivas (pequeños rodales de hábitat seminatural como linderos, márgenes de caminos, parches reforestados, pastizales, etc.) de esas mismas fincas.



Imagen 6: Ejemplo de nidal de abejas solitarias utilizado en este estudio, fabricado con un bloque de hormigón y cañas de carrizo y bambú. Como se puede apreciar, algunas cavidades presentan un tapón de cierre (1), indicativo de haber sido colonizado por abejas. Fotografías de Domingo Cano.

4.3. Proceso de extracción y procedimiento experimental

Los nidales se ubicaron en los meses previos a la primavera del año 2020 y se revisaron periódicamente de marzo a octubre, a excepción del mes de agosto, con el objetivo de detectar y solucionar incidencias, pero sobre todo para proceder a la extracción de aquellas cañas de bambú y carrizo que habían sido colonizadas por polinizadores. La identificación de cañas ocupadas resulta fácil ya que los tapones de cierre de las celdas de cría que hacen las abejas pueden ser visualizadas desde el exterior (*Imagen 6*). Resulta de especial importancia la revisión, retirada y almacenamiento de estos elementos cada poco tiempo pues de esta forma se reduce la probabilidad de pérdida de muestras, tanto por posibles efectos adversos que puedan alterar, deteriorar o destruir las puestas, pero también para evitar que los insectos escapen sin ser estudiados. Para ello se requirió de tubos de ensayo de cristal en los cuales iban siendo introducidas las cañas que presentaban el tapón de cierre indicador de la colonización. Una vez rotuladas para su identificación e introducidas en los tubos, estos se cerraron con algodón, el cual impedía la salida de los insectos sin obstruir el paso de aire (*Imagen 7*). A su vez, los tubos se guardaron en bolsas de tul para facilitar su transporte, organizar las muestras y reducir el riesgo de fuga de las abejas. Estas bolsas que contenían las cañas se almacenaron en un lugar seco, con temperatura ambiente y al cobijo de la radiación solar hasta que comenzó el procedimiento experimental de análisis. Cada una de las cañas recolectadas se rotuló con sus datos identificativos: finca de procedencia, tipo de manejo, número de nidal, material de la caña y número singular de cada caña.



Imagen 7: Técnica de almacenaje de cañas tras su recolecta y rotulado en tubos de ensayo cerrados con algodón. Al producirse el final del ciclo, las abejas salen de la caña, pero no del tubo, quedando en su interior para su estudio posterior. Fotografía propia.

Debido al gran volumen de cañas recogidas, se seleccionó una muestra representativa de estas que albergase la mayor variabilidad posible. Para estimar cual era dicho número representativo, se analizó una de las fincas (TA) en su totalidad y se determinó mediante curvas de acumulación que, analizando 10 cañas de cada fecha y de cada material, se obtenía el 80% de la variabilidad de pólenes. Es decir, si, por ejemplo, se habían recogido 23 cañas de bambú del nidal 1 ubicado en la finca Cortijo Guadiana con manejo extensivo el día 13/04/2020, solo se estudiaron 10 de ellas elegidas aleatoriamente, porque analizando solo esas ya se detectaría la mayoría de pólenes presentes. Repitiendo este proceso para cada finca, manejo, nidal, fecha y material, se seleccionaron un total de 1218 cañas.

Una vez seleccionadas se procedió a su análisis, el cual comenzaba con la extracción de las cañas de los tubos de ensayo en los que habían sido almacenadas. En algunas ocasiones, las abejas habían completado su ciclo y habían emergido de las cañas, por lo que se procedió a su retirada a tubos Eppendorf llenos de alcohol con el objetivo de preservarlas para futuros estudios.

Con la ayuda de un cúter se abrió cada caña transversalmente, quedando así dos mitades. Mediante el raspado del interior de cada mitad de la caña con una espátula pequeña se obtuvo un polvo casi inapreciable, correspondiente al polen restante que no había sido ingerido por los ocupantes de la caña, el cual se depositó en portaobjetos individuales debidamente identificados. En algunas ocasiones, las abejas aún no habían completado su ciclo y al abrir las cañas se podían apreciar en estado de larva, por lo que se retiraron para su incubación en tubos Eppendorf perforados. En este caso y cuando se habían producido abortos, los tacos de polen introducidos por sus parentales se encontraron intactos (*Imagen 8*), por lo que, cuidadosamente se tomaron de cada paquete de polen una pequeña pizca para no saturar la preparación.



Imagen 8: Paquetes de polen encontrados intactos tras abrir la caña. Fotografía propia.

De cada mitad de la caña se obtuvo una réplica, las cuales, una vez depositadas sobre el portaobjetos se sometieron a la técnica de Beattie (1971), es decir, se cubrieron con glicerogelatina o gelatina glicerizada teñida con fucsina básica que permite la tinción y fijación del polen (fosilización artificial) (Louveaux et al., 1978; Lieux, 1980) presente en el

polvo extraído. Para finalizar la preparación, se colocó el cubreobjetos y una vez sólida la glicerogelatina se limpiaron los sobrantes y se sellaron con esmalte transparente para garantizar su conservación. Después de obtener la preparación correspondiente a una caña, todos los utensilios utilizados se lavaron correctamente antes de realizar la preparación siguiente, evitando así la contaminación de la muestra.

Una vez obtenidas las preparaciones correspondientes a cada caña se procedió a la identificación de los granos de polen presentes en ellas mediante el uso del microscopio óptico de campo claro. Como ya se ha mencionado, cada portaobjetos contenía dos réplicas de una misma caña, las cuales, a la hora de realizar el conteo e identificación, se sumaron y anotaron como un único dato. Durante este proceso se valoró la variabilidad de pólenes presentes en la preparación y la proporción de estos respecto al total, es decir, se hizo un estudio cualitativo y cuantitativo. Para su conteo se establecieron dos transectos paralelos no solapados sobre el cubreobjetos con la intención de ser recorrido por el objetivo del microscopio. Se estableció un objetivo numérico de 60 granos de polen, por lo que una vez alcanzada esa cifra a lo largo de los transectos se detenía el conteo. En algunas ocasiones los granos de polen no se distribuyeron de forma homogénea por toda la superficie del cubreobjetos y podían aparecer formando una masa amontonada de estos, generalmente del mismo tipo. En ese caso y, también, cuando las muestras presentaban una gran densidad de pólenes (*Imagen 9*), se procedió a evaluar cualitativamente la diversidad de estos a lo largo del transecto de forma inicial y acabado este procedimiento, para obtener el dato cuantitativo, se calculó la proporción de cada polen respecto al total mediante su conteo obviando el límite de 60 establecido, para posteriormente extrapolar dichas proporciones en base a 60.

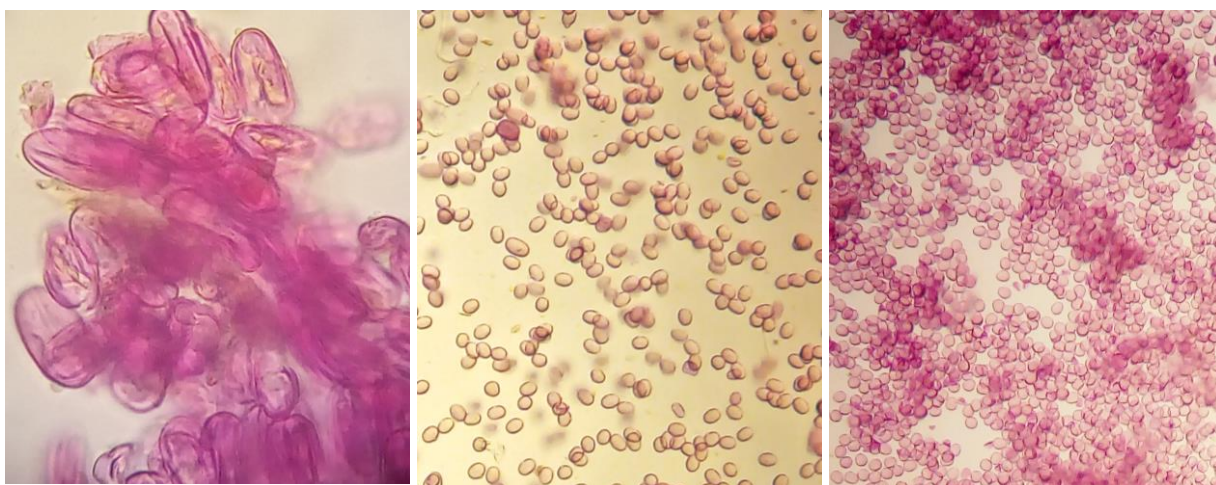


Imagen 9: Fotografías al microscopio óptico de preparaciones en las que el polen no se distribuye homogéneamente por toda la muestra (izquierda - Fabaceae sp5) o sus densidades son elevadas (central - *Anchusa* sp, derecha - *Echium* sp). Fotografías propias.

Otras veces, durante el recorrido del transecto no se contaban suficientes granos como para llegar a 60, por lo que se hizo un barrido más exhaustivo obviando los transectos hasta contar todos los granos de pólenes presentes. De forma general, en la mayoría de las preparaciones el método de barrido por transecto resultó idóneo.

La identificación de los distintos granos de polen presentes en las preparaciones se realizó gracias a la comparación con las muestras presentes en la palinoteca del laboratorio de botánica de la Universidad de Jaén, al “Atlas Polínico de Andalucía Occidental” (Valdés y Fernández, 1987) y gracias a páginas web como “The Global Pollen Project” (Martin y Harvey, 2017), “PalDat - Palynological Database” (Halbritter et al., 2005) o “PollenData” (Grillenzoni et al., 2007). También se realizaron preparaciones de polen fresco tomado directamente de las plantas cercanas a los nidales para compararlas con los pólenes encontrados. Muchas veces la identificación se hizo *in situ*, mientras que en otras ocasiones se tomaron varias fotografías del polen para su identificación posterior. Una complicación puntual que surgió durante la identificación fue que el polen, después de haber sido almacenado durante casi un año en las cañas, no se encontraba en las mejores condiciones para su identificación y podía perder su forma característica, lo cual comprometía su reconocimiento. Lo mismo ocurría con algunos granos de polen que, durante el raspado de las cañas para su extracción, se fracturaban y rompían. No obstante, con experiencia, se aprendió a reconocer estos pese a la baja calidad que algunas veces podían presentar.

De esta forma se obtuvo, a partir de los pólenes, la información de las especies de plantas que habían servido como fuente de recurso alimenticio a la abeja y sus crías. Esto a su vez da una idea de qué plantas se encuentran presentes en los olivares estudiados y gracias a los datos de proporción, cuáles son las más abundantes o cuáles son las más visitadas.

Los datos de diversidad polínica y de proporciones se almacenaron en una base de datos de Excel de forma individualizada para cada caña analizada. Una vez recogidos todos los datos se obviaron los parámetros relacionados con la individualidad de las cañas, quedando como unidad de medida mínima el número de granos de polen de cada especie por nidal.

4.4. Análisis de datos

El análisis estadístico de datos se dividió en tres partes, coincidentes con las hipótesis objetivo que se querían responder. Todos los procedimientos se desarrollaron con el software y lenguaje de programación R, a través del entorno de desarrollo integrado RStudio.

El primer paso en el análisis fue obtener el dato de diversidad polínica con el que se trabajó durante todo el proceso de análisis. Este se calculó como el número de tipos polínicos identificados en cada nidial partido del número de cañas analizadas en dicho nidial. A partir de este momento, cuando se mencione la diversidad polínica o de especies, se referirá realmente a la riqueza en base a las cañas analizadas por nidial.

Entrando en el estudio estadístico, en primer lugar, para comparar los distintos manejos agrícolas y los diferentes grados de complejidad del paisaje entre sí, en base a la composición polínica observada, se realizó un análisis de Varianza Multivariante Permutacional (PERMANOVA) desarrollada a partir de la función ‘adonis2’ del paquete ‘vegan’ de R para ver si había diferencias significativas en la composición de pólenes de los nidales entre diferentes manejos del olivar y diferente complejidad paisajística. Este análisis se desarrolló dos veces, una de ellas a través de una matriz cuantitativa (datos de diversidad y abundancia) y otra de ellas mediante una matriz cualitativa (datos de presencia/ausencia). Para su representación gráfica, se utilizó el análisis de Escalamiento Multidimensional No Paramétrico (Non-metric multidimensional scaling - NMDS) a través de la función ‘metaMDS’ (paquete ‘vegan’ de R), que a través de la construcción de matrices compara todas las posibilidades en busca de semejanzas y tiene en cuenta tanto la diversidad como la abundancia.

Con el objetivo de dar respuesta a la segunda hipótesis, es decir, para averiguar cuál es la relación detallada entre la diversidad de pólenes y las variables complejidad del paisaje y manejo, se ajustaron Modelos Lineales de efectos Mixtos en los que se comparaban con un modelo nulo. Este procedimiento se llevó a cabo con la función ‘lme4’ del paquete ‘lmer’ de R. En ellos se seleccionó como factor aleatorio la localidad. Tras valorar cada modelo mediante el parámetro ΔAIC (Criterio de Akaike), se seleccionó el modelo que mejor ajuste presentaba (el más parsimonioso y que mayor proporción de varianza explicaba). Este criterio interpreta que una reducción de $\Delta AIC > 2$ respecto al modelo nulo, implica una diferencia significativa entre esos dos modelos (Blüthgen et al., 2008). Este procedimiento se desarrolló una vez teniendo en cuenta todos los nidales ($n = 72$) y una segunda vez solo teniendo en cuenta los dos nidales de cada finca ubicados en zonas productivas de los olivares ($n = 24$).

Para examinar con más detalle las relaciones observadas a través de los modelos se examinaron los términos que influyen en dichas interacciones y se representaron gráficamente para un entendimiento más rápido.



Finalmente, se realizaron análisis de correlación de Spearman (función ‘cor.test’ del paquete ‘vegan’ de R) para comparar y buscar relaciones significativas entre la diversidad de plantas en la cobertura de herbáceas disponibles en el entorno de los nidos y la diversidad de pólenes acarreados por las abejas a estos. La variable “diversidad de herbáceas” se calculó en dos niveles diferentes: a nivel de nidal y a nivel de finca. Cuando se habla de diversidad a nivel de nidal se refiere a las herbáceas observadas en un rango de un metro cuadrado justo en el punto donde se colocaron los nidos, mientras que la riqueza de herbáceas por finca se obtuvo mediante una estimación por rarefacción de la riqueza observada por cada finca. Este monitoreo se realizó como parte de otro proyecto mayor (proyecto LIFE OLIVARES VIVOS) desarrollado por compañeros, los cuales cedieron la información para enriquecer este estudio.

5. | RESULTADOS

Los primeros resultados obtenidos se corresponden con los aspectos generales del proceso de análisis de nuestros niales para abejas solitarias, así como los resultados brutos del proceso de identificación de granos de polen extraídos de las cañas de estos, los cuales quedan representados en la *Tabla 2*. En ella puede observarse una tasa colonización promedio en nuestros niales de $44,6\% \pm 13$ (Media ± 1 DE) con rangos entre $18,1\%$ y $61,4\%$, es decir, que casi la mitad de las cavidades disponibles se ocuparon por abejas. Para reducir el esfuerzo de análisis, se seleccionó el $36,4\%$ de todas las cañas colonizadas, en las cuales, tras la identificación del polen, se identificaron 111 tipos polínicos diferentes. De promedio se encontraron 35 ± 8 especies (tipos polínicos) distintas por finca con rangos entre 25 y 48. Por tanto, en cada finca se detectó de media el $31,6\% \pm 7$ de las especies totales (rangos entre $22,5$ y $43,2$).

Se analizaron las familias a las que pertenecen estas especies identificadas y se detectaron 29 diferentes. Sin embargo, hubo 14 tipos polínicos que no pudieron ser identificados correctamente y simplemente se anotaron como especies distintas (“Morfotipos”), por lo que los datos relacionados con las familias podrían variar si pudiésemos realizar el encuadre taxonómico completo de todos los tipos polínicos detectados. No obstante, ofrecen una información suficientemente precisa de la variabilidad en cada finca, siendo el promedio de familias distintas en cada una de $15,9 \pm 3,6$ con rangos entre 10 y 21. Por tanto, en cada finca se hallaron de media más de la mitad ($54,9\% \pm 12,5$) de las familias totales.

Tabla 2: Datos correspondientes al análisis general de las características de los niales para abejas solitarias utilizados y resultados generales obtenidos del proceso de identificación de granos de polen presentes en las cañas analizadas.

FINCA	Nº NIALES	Nº CAVIDADES DISPONIBLES	Nº DE CAVIDADES OCUPADAS	TASA DE COLONIZACIÓN (%)	CAÑAS ANALIZADAS	Nº TIPOS POLÍNICOS IDENTIFICADOS	% TIPOS POLÍNICOS DEL TOTAL	Nº FAMILIAS DISTINTAS IDENTIFICADAS	% FAMILIAS DEL TOTAL
CG_ext	6	624	207	33,2	80	29	26,1	10	34,5
CG_int	6	624	113	18,1	46	25	22,5	12	41,4
DL_ext	6	624	261	41,8	92	33	29,7	14	48,3
DL_int	6	624	280	44,9	76	26	23,4	11	37,9
MON_ext	6	624	259	41,5	94	31	27,9	18	62,1
MON_int	6	624	298	47,8	103	26	23,4	15	51,7
OLU_ext	6	624	297	47,6	96	47	42,3	16	55,2
OLU_int	6	624	379	60,7	125	38	34,2	17	58,6
PC_ext	6	624	383	61,4	125	37	33,3	18	62,1
PC_int	6	624	377	60,4	126	48	43,2	18	62,1
TA_ext	6	624	289	46,3	114	40	36,0	21	72,4
TA_int	6	624	200	32,1	141	41	36,9	21	72,4
Nº TOTAL	72	7488	3343	-	1218	111 (tipos diferentes)	-	29 (tipos diferentes)	-
Media por finca	-	-	279 ± 80	$44,6 \pm 13$	-	35 ± 8	$31,6 \pm 7$	$15,9 \pm 3,6$	$54,9 \pm 12,5$

A continuación, en la *Tabla 3*, se representa la variedad de especies vegetales identificadas a través del análisis de los tipos polínicos. Para cada especie se indica el número de fincas en las que están presentes, siendo el mínimo 1 y el máximo 12. Se observó que algunas de ellas son singulares de algunas fincas (por ejemplo, *Crepis vesicaria* o *Pallenis spinosa*), pero otras como *Anchusa* sp., Asteraceae sp11, Asteraceae sp13 y el género *Echium* se detectaron en todas las fincas, o *Cistus* sp., Lamiaceae sp2, Morfotipo sp8, *Onobrychis* sp. y *Poaceae* sp2, aparecieron en nueve o diez de ellas.

Tabla 3: Listado de especies vegetales identificadas a través del análisis palinológico acompañado del número de fincas en las que estaba presente cada especie.

LISTADO DE ESPECIES DE PLANTAS IDENTIFICADAS A PARTIR DE POLEN					
Especie de planta	Nº fincas presente	Especie de planta	Nº fincas presente	Especie de planta	Nº fincas presente
<i>Amaranthus</i> sp.	4	<i>Echium</i> sp.	2	Morfotipo sp8	10
<i>Anacyclus clavatus</i>	5	<i>Echium creticum</i>	5	Morfotipo sp9	1
<i>Anchusa</i> sp.	12	<i>Echium plantagineum</i>	5	Morfotipo sp10	2
<i>Andryala integrifolia</i>	1	<i>Epilobium</i> sp.	2	Morfotipo sp11	1
Asteraceae sp1	8	<i>Erodium malacoides</i>	3	Morfotipo sp12	1
Asteraceae sp2	3	<i>Eruca vesicaria</i>	2	Morfotipo sp13	6
Asteraceae sp3	5	Fabaceae sp1	1	Morfotipo sp14	1
Asteraceae sp4	2	Fabaceae sp2	1	<i>Olea europaea</i>	11
Asteraceae sp5	6	Fabaceae sp3	3	<i>Onobrychis</i> sp.	9
Asteraceae sp6	1	Fabaceae sp4	3	<i>Ononis pubescens</i>	7
Asteraceae sp7	3	Fabaceae sp5	5	<i>Pallenis spinosa</i>	1
Asteraceae sp8	1	Fabaceae sp6	3	<i>Papaver rhoeas</i>	2
Asteraceae sp9	1	<i>Genista</i> sp.	1	<i>Phlomis purpurea</i>	1
Asteraceae sp10	1	<i>Geropogon hybridus</i>	7	<i>Pinus</i> sp.	8
Asteraceae sp11	12	<i>Helianthemum</i> sp.	1	<i>Pistacia</i> sp.	3
Asteraceae sp12	1	<i>Heliotropium europaeum</i>	3	<i>Plantago</i> sp1	11
Asteraceae sp13	12	<i>Hirschfeldia incana</i>	4	<i>Plantago</i> sp2	4
Asteraceae sp14	6	Lamiaceae sp1	4	<i>Platanus × hispánica</i>	9
Asteraceae sp15	1	Lamiaceae sp2	9	Poaceae sp1	5
<i>Biscutella auriculata</i>	1	Lamiaceae sp3	4	Poaceae sp2	9
<i>Bituminaria bituminosa</i>	1	Lamiaceae sp4	1	<i>Populus</i> sp.	8
Brassicaceae sp1	3	<i>Laurus nobilis</i>	1	<i>Quercus</i> sp.	8
Brassicaceae sp2	1	<i>Lavandula stoechas</i>	1	<i>Rosa</i> sp.	1
Brassicaceae sp3	1	<i>Lavatera trimestris</i>	2	Rosaceae sp1	3
<i>Campanula erinus</i>	3	Liliaceae sp1	4	Rosaceae sp2	2
<i>Carduus pycnocephalus</i>	3	Liliaceae sp2	1	<i>Rumex acetosella</i>	2
<i>Carduus temiflorus</i>	1	<i>Lotus</i> sp.	2	<i>Salix</i> sp.	2
<i>Centaurea pullata</i>	6	<i>Malva sylvestris</i>	3	<i>Salvia</i> sp1	5
<i>Cerastium glomeratum</i>	4	<i>Medicago</i> sp.	1	<i>Salvia</i> sp2	3
<i>Cistus albidus</i>	4	<i>Melilotus</i> sp.	7	<i>Salvia</i> sp3	2
<i>Cistus ladanifer</i>	7	Morfotipo sp1	2	<i>Scorpiurus muricatus</i>	3
<i>Cistus monspeliensis</i>	1	Morfotipo sp2	7	<i>Silene</i> sp.	1
<i>Cistus</i> sp.	10	Morfotipo sp3	1	<i>Stachys ocymastrum</i>	2
<i>Convolvulus</i> sp.	2	Morfotipo sp4	2	<i>Tamarix</i> sp.	1
<i>Crepis vesicaria</i>	1	Morfotipo sp5	5	<i>Teucrium pseudochamaepitys</i>	1
Cupressaceae sp.	10	Morfotipo sp6	5	Urticaceae sp.	6
<i>Diploxys virgata</i>	3	Morfotipo sp7	3	<i>Vicia</i> sp.	5

Con el objetivo de mostrar las familias que se detectaron con mayor frecuencia se expone la *Tabla 4*, en la que se muestran la diversidad de estas y el número de especies distintas de cada una. Las familias Asteraceae, Fabaceae y Lamiaceae se identificaron como las más diversas en los nidos, presentando una variabilidad de 22, 15 y 11 morfoespecies distintas respectivamente. Por el contrario, de familias como Onagraceae o Convolvulaceae, entre otras, solo se identificó una morfoespecie.

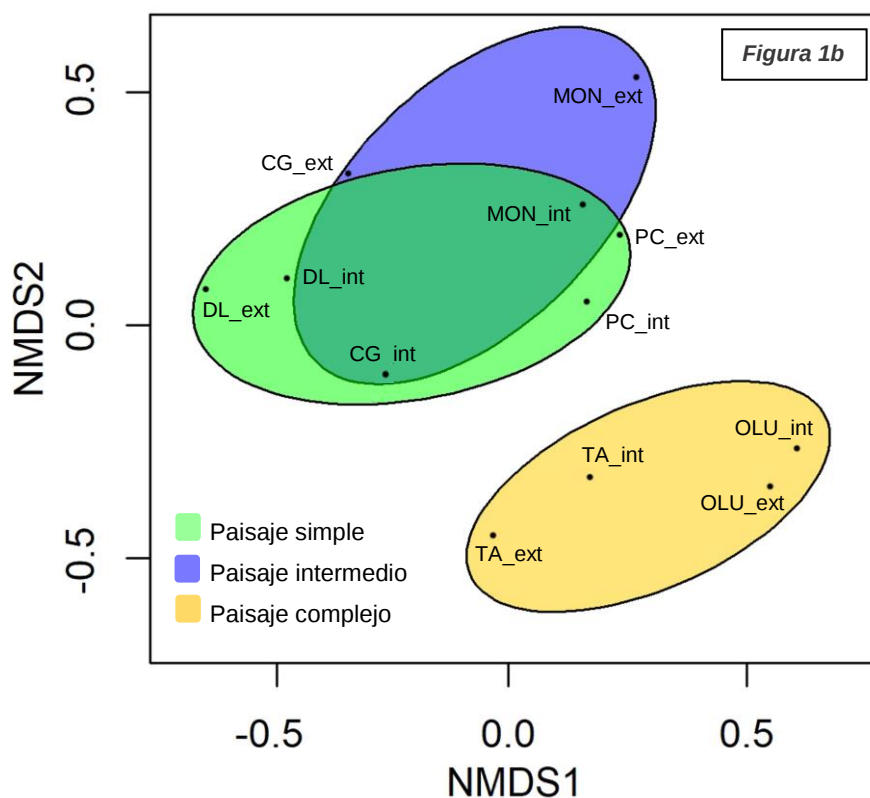
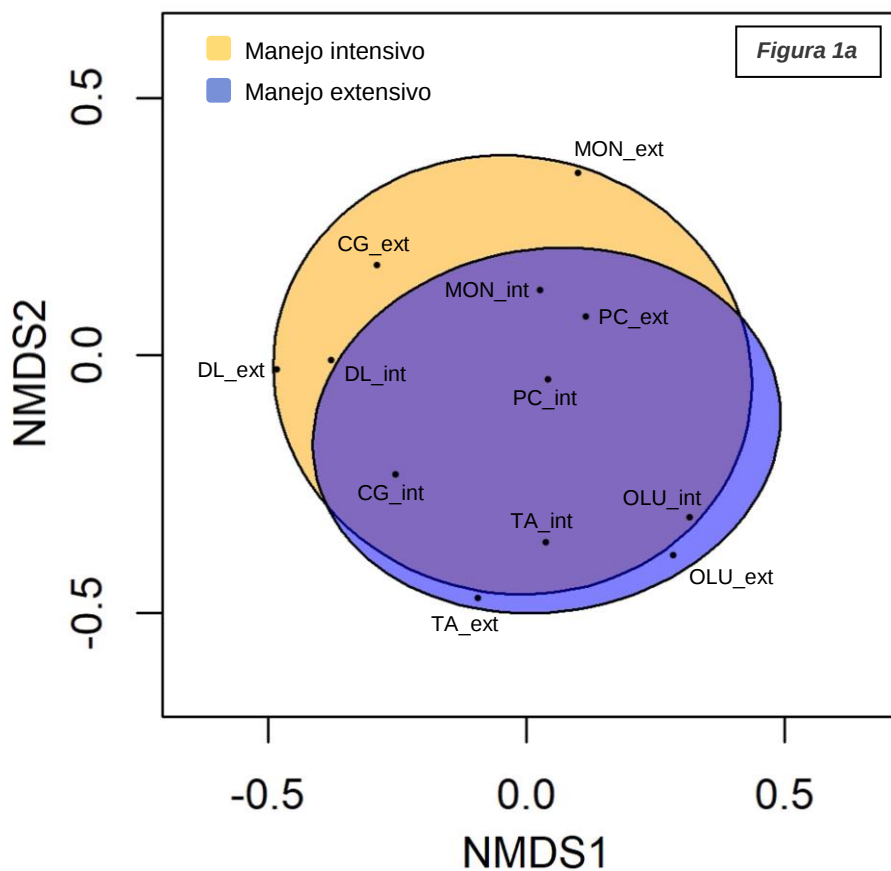
Tabla 4: Listado de familias identificadas a través del análisis palinológico acompañado de la variedad de especies observadas de cada una de ellas.

LISTADO DE FAMILIAS DE PLANTAS IDENTIFICADAS A PARTIR DE POLEN					
Familia	Nº spp	Familia	Nº spp	Familia	Nº spp
Amaranthaceae	1	Anacardiaceae	1	Asteraceae	22
Boraginaceae	5	Brassicaceae	7	Campanulaceae	1
Caryophyllaceae	2	Cistaceae	5	Convolvulaceae	1
Cupressaceae	1	Geraniaceae	1	Fabaceae	15
Fagaceae	1	Lamiaceae	11	Lauraceae	1
Liliaceae	2	Malvaceae	2	Oleaceae	1
Onagraceae	1	Papaveraceae	1	Pinaceae	1
Plantaginaceae	2	Platanaceae	1	Poaceae	2
Polygonaceae	1	Rosaceae	3	Salicaceae	2
Tamaricaceae	1	Urticaceae	1	Desconocida	14

Entrando en el análisis de datos propiamente dicho, se debe mencionar que, a partir de ahora, al hablar de diversidad polínica se referirá a la variedad de especies vegetales identificadas a través del polen analizado partido del número de cañas examinadas de cada nido. Esto es así, debido a que no se examinó el mismo número de cañas en cada uno de los nidos, pues como se vio en la *Tabla 2*, las tasas de colonización fueron distintas para cada uno de ellos y posteriormente se hizo una selección que priorizó escoger las cañas con mayor variedad de materiales y fechas distintas, dejando al margen la homogeneización en el número de estas.

En primer lugar, el resultado del análisis NDMS queda representado en la *Figura 1*, donde gráficamente se muestra el grado de semejanza o disimilitud entre las distintas variables para manejo (extensivo o intensivo) y complejidad del paisaje (simple, intermedio o complejo) de cada finca en base a la diversidad de tipos polínicos. Se aprecia, en la *Figura 1a*, un gran solapamiento entre los resultados de las fincas con manejo intensivo y aquellas que tienen manejo extensivo. En cuanto al paisaje (*Figura 1b*) existe una diferenciación más marcada, ya que las fincas con paisaje complejo se muestran aisladas del resto, aunque aquellas con paisajes intermedios y simples, aparecen parcialmente solapadas. El solapamiento indica similitud, mientras que el aislamiento manifiesta diferencias en la composición.

Figura 1: Resultado del Escalamiento Multidimensional No Paramétrico (NMDS) para la composición de los aprovisionamientos polínicos en cavidades de nidos-trampa ocupadas por abejas solitarias en función del tipo de manejo (a) y la complejidad paisajística de los olivares de estudio (b). La posición de cada una de las fincas de estudio son el resultado de la combinación de las coordenadas del eje NMDS 1 y NMDS 2 para cada una de ellas.



Estos resultados se confirman con el análisis Permanova, representado en la *Tabla 5*. La *Tabla 5a* muestra los resultados del Permanova en el que se ha tenido en cuenta tanto la diversidad como la abundancia de la composición de tipos polínicos identificados por finca. Se aprecia que muestra una diferencia significativa en la composición para las distintas categorías paisajísticas (p-valor = 0,001), pero, por el contrario, esta no resulta significativamente diferente atendiendo al tipo de manejo agrícola (p-valor = 0,301). Este resultado confirma el solapamiento visto en la *Figura 1a* y el aislamiento del paisaje complejo respecto al simple e intermedio en la *Figura 1b*. Se puede comprobar un resultado similar en el análisis que solo tiene en cuenta la diversidad (*Tabla 5b*), pues las diferencias en la composición de pólenes son significativas para el paisaje (p-valor = 0,001), pero no para el manejo (p-valor = 0,585)

Tabla 5: Resultado del análisis de Varianza Multivariante Permutacional (PERMANOVA) para la composición de los aprovisionamientos polínicos en cavidades de nidos-trampa ocupadas por abejas solitarias en función del tipo de manejo y la complejidad paisajística de los olivares de estudio. Un primer análisis tiene en cuenta la diversidad y la abundancia de la composición de los aprovisionamientos polínicos (**a**) y un segundo solo tiene en consideración la diversidad de estos (**b**). Los niveles de significación son representados por P >0,05; * P <0,05; ** P <0,01 y *** P <0,001.

Tabla 5a	Permanova-Factor Paisaje y Manejo					
	Data set Abundancia de Especies					
	Df	SumOfSqs	R2	F	p-valor	
Paisaje	2	1,859	0,089	3,287	,001	***
Manejo	1	0,25	0,012	0,828	,301	

Tabla 5b	Permanova-Factor Paisaje y Manejo					
	Data set Presencia/Ausencia Especies					
	Df	SumOfSqs	R2	F	p-valor	
Paisaje	2	2,667	0,134	5,1945	,001	***
Manejo	1	0,19	0,009	0,659	,585	

El análisis de Modelos Lineales de efectos Mixtos ofrece la información contenida en las *Tablas 6, 7 y 8*, además de sus representaciones gráficas en las *Figuras 2 y 3*. La *Tabla 6* se corresponde con el ajuste de modelos lineales mixtos que tiene en cuenta todos los nidos involucrados en el estudio, es decir, tanto los situados en zonas productivas como improductivas (n = 72). Como se puede apreciar, el modelo que mejor se ajusta es el denominado 'mRT9', debido a que cumple el requisito de poseer un ΔAIC (criterio de Akaike) dos puntos o más por debajo del nulo ($\Delta AIC_{nulo} = 82,3$; $\Delta AIC_{mRT9} = 77,2$), tiene una devianza baja (61,24), unas altas R^2_m y R^2_c (0.235) y un p-valor de 0,01, lo que indica diferencias significativas entre este modelo y el nulo. Este modelo posee como factor fijo la interacción entre la cobertura de hábitat natural no forestal y la complejidad del paisaje.

Tabla 6: Resultado del ajuste de los Modelos Lineales Mixtos para la diversidad polínica observada entre las cavidades de nidos para abejas solitarias analizadas, teniendo en cuenta tanto los nidos situados en zonas productivas como improproductivas del olivar (n=72). Los modelos son identificados con un código y algunos factores fijos se presentan abreviados: Co_olivar (cobertura de olivar), Co_ha_natural (cobertura de hábitat natural), Co_forestal (cobertura de hábitat natural forestal), Co_ha_na_nf (cobertura de hábitat natural no forestal), “+” (combinación de dos variables), “*” (interacción entre dos variables). ΔAIC representa el criterio de Akaike, R^2_m el coeficiente de determinación marginal y R^2_c el coeficiente de determinación condicional. Los niveles de significación son representados por $P > 0,05$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ y *** $P < 0,001$.

AJUSTE DE MODELOS LINEALES MIXTOS						
Teniendo en cuenta todos los nidos de cada finca (n=72)						
Variable respuesta: Diversidad de especies de polen por nidal (nº especies/ nº cañas examinadas)						
Código del modelo	Factor fijo	ΔAIC	Devianza	R^2_m	R^2_c	p-valor
mRT-Nulo	Ninguno	82,258	76,258	0	0,188	-
mRT1	Manejo	84,074	76,074	0,002	0,188	,667
mRT2	Paisaje	80,597	70,597	0,127	0,22	,058
mRT3	Co_olivar	82,607	74,607	0,045	0,242	,198
mRT4	Co_ha_natural	83,988	75,988	0,005	0,204	,603
mRT5	Co_forestal	84,087	76,087	0,003	0,203	,678
mRT6	Co_ha_na_nf	83,517	75,517	0,024	0,234	,389
mRT7	Manejo+Paisaje	82,481	70,481	0,127	0,22	,122
mRT8	Manejo*Paisaje	82,1	66,1	0,171	0,274	,071
mRT9	Co_ha_na_nf*Paisaje	77,24	61,24	0,235	0,235	,010 *
mRT10	Co_ha_natural*Paisaje	83,71	67,71	0,139	0,255	,128
mRT11	Co_ha_na_nf*Manejo	87,285	75,285	0,022	0,225	,807
mRT12	Co_ha_natural*Manejo	87,54	75,54	0,016	0,213	,868
mRT13	Co_olivar*Paisaje	82,162	66,162	0,168	0,295	,072
mRT14	Co_forestal*Paisaje	81,615	65,615	0,165	0,297	,058
mRT15	Co_olivar*Manejo	86,351	74,351	0,04	0,242	,591
mRT16	Co_forestal*Manejo	87,644	75,644	0,012	0,214	,893

Tras realizar el mismo procedimiento, pero solo teniendo en cuenta los nidos que se encontraban en zona productiva del olivar (n = 24) se obtuvieron los resultados plasmados en la Tabla 7. Comparándolos con el modelo nulo ($\Delta AIC_{nulo} = 30,72$), en este caso hay dos modelos que tienen un buen ajuste: mRP8 ($\Delta AIC = 28,77$ y p-valor = 0,035) y mRP9 ($\Delta AIC = 25,53$ y p-valor = 0,009). El factor fijo del primero de ellos es la interacción del tipo de manejo agrícola con la complejidad del paisaje de la finca y su entorno, y el segundo es la cobertura de hábitat natural no forestal con el paisaje, como en el análisis anterior. Resulta llamativo que al realizar el mismo análisis teniendo en cuenta distinto tamaño muestral, en el que solo se consideran los nidos de la zona productiva, surja como válido un segundo modelo (Manejo*Paisaje), que, aunque sus valores como modelo explicativo sean peores se debe tener en consideración.

Tabla 7: Resultado del ajuste de los Modelos Lineales Mixtos para la diversidad polínica observada entre las cavidades de nidales para abejas solitarias analizadas, teniendo en cuenta solo los nidales situados en zonas productivas del olivar (n=24). Los modelos son identificados con un código y algunos factores fijos se presentan abreviados: Co_olivar (cobertura de olivar), Co_ha_natural (cobertura de hábitat natural), Co_forestal (cobertura de hábitat natural forestal), Co_ha_na_nf (cobertura de hábitat natural no forestal), “+” (combinación de dos variables), “*” (interacción entre dos variables). ΔAIC representa el criterio de Akaike, R^2_m el coeficiente de determinación marginal y R^2_c el coeficiente de determinación condicional. Los niveles de significación son representados por P >0,05; * P <0,05; ** P <0,01 y *** P <0,001.

AJUSTE DE MODELOS LINEALES MIXTOS						
Teniendo en cuenta solo los nidales ubicados en la zona productiva del olivar (n=24)						
Variable respuesta: Diversidad de especies de polen por nidal (nº especies/ nº cañas examinadas)						
Código del modelo	Factor fijo	ΔAIC	Devianza	R^2_m	R^2_c	p-valor
mRP-Nulo	Ninguno	30,715	24,715	0	0,277	-
mRP1	Manejo	32,713	24,713	<0,00001	0,258	,964
mRP2	Paisaje	31,474	21,474	0,144	0,373	,197
mRP3	Co_olivar	32,335	24,335	0,013	0,284	,537
mRP4	Co_ha_natural	32,654	24,654	0,01	0,356	,805
mRP5	Co_forestal	32,512	24,512	0,023	0,38	,652
mRP6	Co_ha_na_nf	31,475	23,475	0,083	0,402	,265
mRP7	Manejo+Paisaje	33,472	21,472	0,14	0,354	,355
mRP8	Manejo*Paisaje	28,773	12,773	0,311	0,564	,035
mRP9	Co_ha_na_nf*Paisaje	25,531	9,53	0,437	0,437	,009
mRP10	Co_ha_natural*Paisaje	35,066	19,066	0,169	0,6	,341
mRP11	Co_ha_na_nf*Manejo	35,287	23,287	0,078	0,366	,699
mRP12	Co_ha_natural*Manejo	33,943	21,942	73	0,321	,428
mRP13	Co_olivar*Paisaje	35,763	19,763	0,104	0,528	,421
mRP14	Co_forestal*Paisaje	30,911	14,91	0,216	0,468	,080
mRP15	Co_olivar*Manejo	36,243	24,243	0,017	0,251	,925
mRP16	Co_forestal*Manejo	33,783	21,783	0,077	0,333	,402

*
**

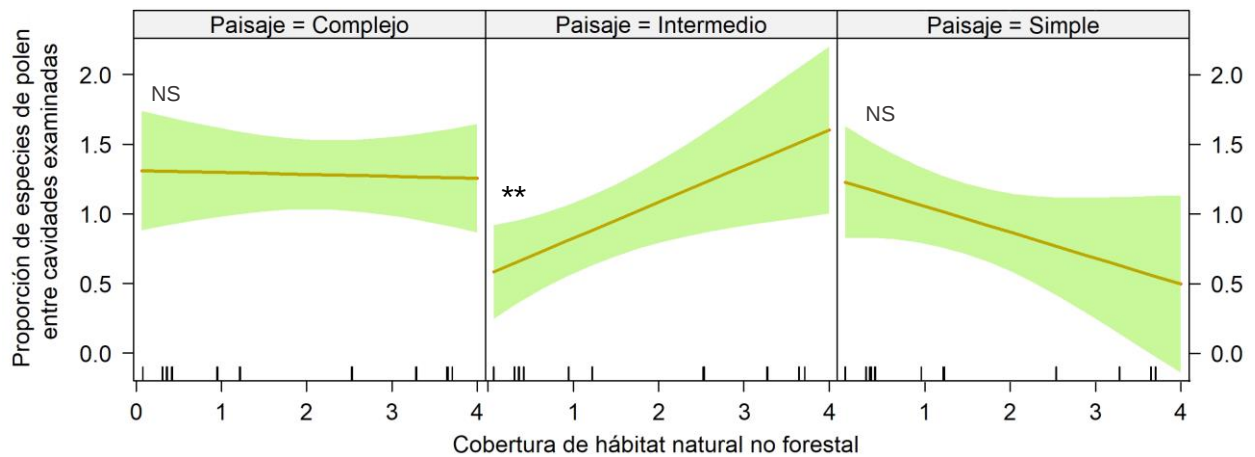
La *Tabla 8* muestra las estimaciones de los mejores modelos seleccionados en el paso anterior desglosados y es la forma de conocer más en profundidad cuáles son los componentes que influyen significativamente en la diversidad polínica. De todas las variables independientes expuestas poseen significación aquellas relacionadas con el paisaje intermedio en relación a la cobertura de hábitat natural no forestal para los modelos ‘mRT9’ y ‘mRP9’, y la relación entre el paisaje intermedio en base al cambio de manejo para el modelo ‘mRP8’. A través de las *Figuras 2* y *3*, derivadas de la tabla, se hace una interpretación visual de esos resultados de una forma más sencilla.

Tabla 8: Resultado de las estimaciones para los mejores modelos seleccionados (Tablas 6 y 7). Los modelos son identificados con un código y algunos factores fijos se presentan abreviados: Co_olivar (cobertura de olivar), Co_ha_natural (cobertura de hábitat natural), Co_forestal (cobertura de hábitat natural forestal), Co_ha_na_nf (cobertura de hábitat natural no forestal), “:” (interacción entre dos variables). Los niveles de significación son representados por NS (no significativo) P >0,05; * P <0,05; ** P <0,01 y *** P <0,001.

Estimaciones de los mejores modelos						
Código del modelo	Término	Estimate	SE	z-valor	DF	p-valor
mRT9	Intercepto= Co_ha_na_nf:Paisaje complejo	0,206	0,14	1,471	64	,146
	Co_ha_na_nf	-0,028	0,053	-0,545	64	,587
	Paisaje Intermedio	-0,607	0,179	-3,377	64	,001
	Paisaje simple	-0,195	0,193	-1,01	64	,316
	Co_ha_na_nf:Paisaje Intermedio	0,205	0,089	2,282	64	,020
	Co_ha_na_nf:Paisaje Simple	-0,099	0,09	-1,097	64	,276
mRP8	Intercepto= Paisaje complejo: Manejo Extensivo	0,264	0,233	1,134	4,985	,308
	Paisaje Intermedio	-0,76	0,329	-2,307	4,985	,069
	Paisaje simple	-0,155	0,329	-0,47	4,985	,658
	Paisaje Intermedio: Manejo Intensivo	0,689	0,317	2,172	15	,046
	Paisaje simple: Manejo Intensivo	-0,245	0,317	-0,772	15	,452
	Manejo Intensivo	-0,141	0,224	-0,63	15	,538
mRP9	Intercepto= Co_ha_na_nf:Paisaje complejo	0,237	0,211	1,121	18	,277
	Co_ha_na_nf	-0,02	0,079	-0,251	18	,805
	Paisaje Intermedio	-0,796	0,27	-2,95	18	,008
	Paisaje simple	-0,03	0,291	-0,103	18	,918
	Co_ha_na_nf:Paisaje Intermedio	0,295	0,124	2,38	18	,028
	Co_ha_na_nf:Paisaje Simple	-0,181	0,136	-1,326	18	,201

La *Figura 2*, derivada de los resultados de la estimación del modelo lineal ‘mRT9’, que resulta casi idéntico al ‘mRP9’, representa la variación en la diversidad polínica observada en relación a la variación en la cobertura de hábitat natural no forestal, para los distintos contextos paisajísticos. Como se puede observar, la diversidad polínica se mantiene prácticamente igual pese al cambio en la proporción de cobertura de hábitat natural no forestal en fincas con complejidad paisajística alta. En fincas con paisaje simple, se aprecia un decrecimiento en la diversidad polínica conforme aumenta la cobertura de hábitat natural no forestal, pero no es lo suficientemente significativa como para considerar destacable esa tendencia, según se detalló en la *Tabla 6*. Sí que resulta significativa la tendencia observada para el paisaje intermedio, la cual consiste en que, a mayor cobertura de hábitat natural no forestal, mayor es la diversidad de especies de polen observadas en los nidales-trampa.

Figura 2: Medias predichas por el modelo lineal 'mRT9'. Se representa la variación en la proporción de especies de polen entre cavidades examinadas en relación al nivel de cobertura de hábitat natural no forestal para cada uno de los contextos paisajísticos (complejo, intermedio y simple). Los niveles de significación son representados por NS (no significativo) $P > 0,05$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ y *** $P < 0,001$. El color verde representa los intervalos de confianza.



A través del análisis de la *Figura 3*, que representa visualmente los resultados de la *Tabla 8* para el modelo lineal 'mRP8', se deduce que un cambio en el manejo agrícola de intensivo a extensivo supone una reducción significativa en la diversidad polínica para fincas situadas en un contexto paisajístico de complejidad intermedia. Para el resto de paisajes las diferencias no son significativas.

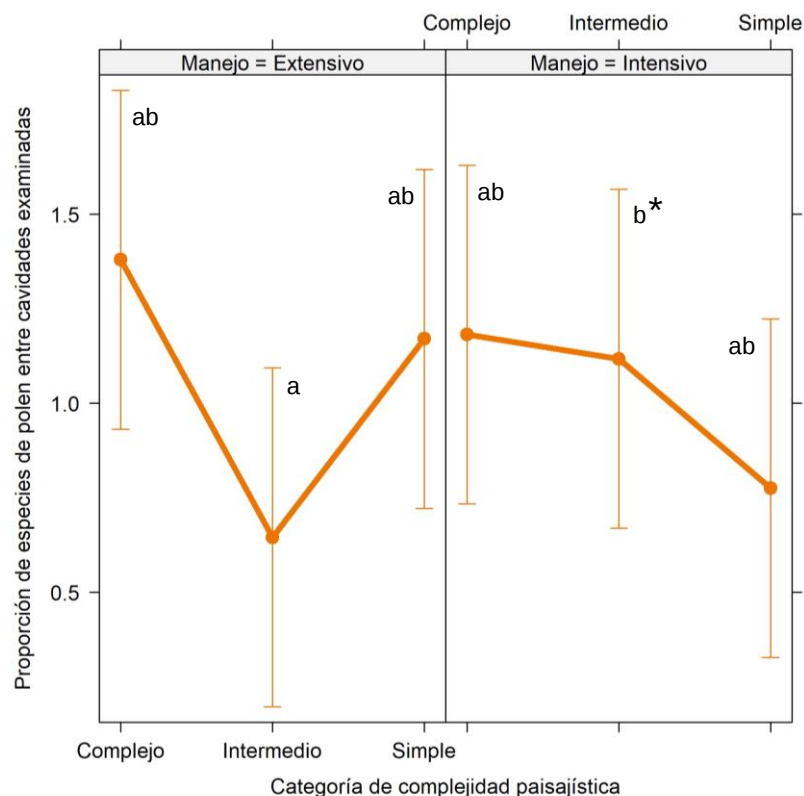


Figura 3: Medias predichas por el modelo lineal 'mRP8'. Se representa la proporción de especies de polen entre cavidades examinadas en cada uno de los tipos de complejidad paisajística con distintos manejos agrícolas de las fincas. Los bigotes representan los intervalos de confianza. Los niveles de significación son representados por $P > 0,05$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ y *** $P < 0,001$. Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

Finalmente se presentan los resultados correspondientes al análisis de correlación de Spearman (*Tabla 9*), el cual se realizó dos veces, una de ellas comparando la diversidad de pólenes identificados con la diversidad de herbáceas que se observó en la cubierta del entorno cercano a los nidales, y otra para comparar dicha diversidad polínica con la riqueza de herbáceas estimada para toda la finca. Se concluyó que la correlación es significativa para la riqueza de pólenes identificados frente a las herbáceas observadas cerca de los nidales (p -valor = 0,014). No obstante, la correlación no es significativa para la riqueza de pólenes frente a la diversidad de herbáceas estimada en toda la finca (p -valor = 0,245) (*Figura 4*).

Tabla 9: Resultado de Correlación de Spearman que relaciona la riqueza de tipos polínicos acarreados por las abejas solitarias a los nidales y la riqueza de herbáceas presentes en las fincas. Los niveles de significación son representados por NS (no significativo) $P > 0,05$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ y *** $P < 0,001$.

CORRELACIÓN DE SPEARMAN		
	Índice de correlación de Spearman	p-valor
Riqueza herbáceas observada por estación de muestreo Vs. Riqueza de pólenes observada por estación de muestreo	0,299	0,014 *
Riqueza herbáceas estimada por finca Vs. Riqueza de pólenes observada por finca	0,245	0,245

La representación gráfica (*Figura 4*) permite visualizar y comprender como se manifiestan dichas correlaciones. En la *Figura 4a* se representa la tendencia para el caso del análisis de correlación de Spearman por estación de muestreo y la *Figura 4b* la representa a escala de finca, recordando que el resultado de dicha correlación no es significativo.

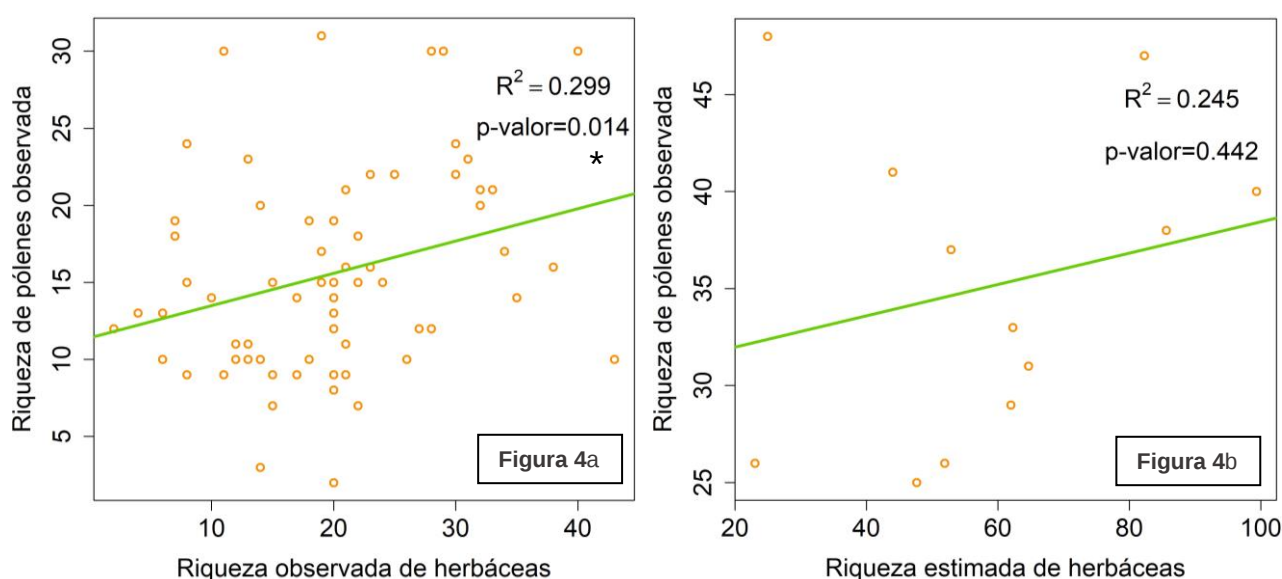


Figura 4: Representación gráfica de la correlación entre la riqueza de pólenes observada y la riqueza de herbáceas observada por estación de muestreo (a) y estimada en toda la finca (b). R^2 representa el índice de correlación de Spearman.

6. | DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Observando la tasa de colonización de los nidales de abejas solitarias ubicados en cada una de las fincas (*Tabla 2*) se afirma el éxito de la técnica y el acierto en la elección de los componentes utilizados para llevarla a cabo, pues, de media, se colonizaron por estos polinizadores en torno al 45% de las cavidades que ofrecían. Una tasa de colonización tan alta dio pie a desarrollar un estudio con una gran abundancia de muestras, lo cual enriqueció la viabilidad de nuestros resultados.

En lo referente al análisis e identificación de los diferentes tipos polínicos que se hallaban en el interior de las cañas analizadas (*Tabla 2 y 3*) se hace mención a los siguientes resultados:

En primer lugar, se identificaron 111 especies (tipos polínicos) distintas, lo cual supone una variabilidad de especies vegetales muy grande, incluso superior a los identificados en otras investigaciones de miembros de este mismo grupo de trabajo en experiencias pasadas (70 especies identificadas en 18 fincas de 9 localidades por Martínez-Núñez et al. 2019b). El motivo de esta diferencia puede ser un mejor desarrollo de las cubiertas herbáceas respecto a otros años, debido principalmente a las mayores precipitaciones al iniciar la primavera del año 2020 y a que, por motivos relacionados con el confinamiento a causa del COVID-19, los agricultores tardaron más en desbrozar. De media, se hallaron 35 especies distintas en cada finca, lo cual resulta admirable conociendo la limitada capacidad de dispersión de las abejas solitarias. La identificación de los tipos polínicos resultó una tarea muy compleja y es por ello que en la mayoría de ocasiones no se llegó a la categoría taxonómica de especie, sino que como máximos se llegó a género, familia o incluso en algunas ocasiones, se nombraron como “Morfortipo” cuando no podía hacerse una caracterización más detallada. No obstante, debido a que en el estudio prima el valor de la diversidad, identificar los múltiples granos de polen como distintos es más que suficiente.

De forma general, se observa que algunas especies vegetales destacan debido a que han aparecido en muchas de las fincas o incluso en todas, pese a la variabilidad de factores que las diferencian. Entre todas ellas destacan dos géneros que aparecieron en todas las fincas y con una abundancia alta, pues prácticamente estaban presentes en todas las cañas examinadas y sus densidades en las preparaciones eran muy elevadas: *Anchusa* sp. y el género *Echium* (*Echium creticum* y *Echium plantagineum*). Se podría, por tanto, catalogar estas como especies clave en las redes de interacción entre abejas solitarias y cobertura vegetal, tal y como lo determinó Martínez-Núñez et al. (2020b) para el género *Echium* en su trabajo. Otras especies de interés que aparecieron en todas las fincas son Asteraceae sp11 y Asteraceae sp13, que, pese a su enorme probabilidad de aparición, no resultaron tan abundantes como las mencionadas anteriormente. Por otro lado, merece la pena destacar

también, que los tipos polínicos *Cistus* sp., Lamiaceae sp2, Morfotipo sp8 y *Onobrychis* sp. aparecieron en nueve o diez de las fincas, lo cual significa que su presencia resulta muy importante para las abejas solitarias que aprovechan sus recursos polínicos.

Mediante el análisis de la *Tabla 3*, se aprecia, además, la gran abundancia de especies vegetales anemófilas (cuya polinización es llevada a cabo por el viento): Cupressaceae sp., *Olea europaea*, *Pinus* sp., *Platanus x Hispánica*, *Populus* sp. Poaceae sp2 o *Quercus* sp. entre otras. Esto puede deberse a varios motivos: el primero de ellos es que, debido a la gran cantidad de polen que las especies anemófilas producen y liberan a la atmósfera, es previsible que, al menos durante el tiempo de floración de estas, todo quede inundado por sus granos de polen. Por ejemplo, *Olea europaea* puede producir hasta 1.3 billones de granos de polen por metro cuadrado de copa (Damialis et al., 2011). Es así como pueden caer sobre flores que posteriormente las abejas vayan a visitar o que directamente se enganche a ellas durante el vuelo. Esta explicación es muy probable debido a que en la mayoría de ocasiones la presencia de estos tipos polínicos en las preparaciones era prácticamente anecdótica, a excepción del polen de *Olea europaea*, que en unas pocas cañas apareció siendo el componente principal con el que las abejas habían creado sus reservas alimenticias. Esto nos conduce al segundo motivo de la presencia de pólenes de especies anemófilas, ya que existe la posibilidad de que las abejas lo hayan acarreado conscientemente en vista de la gran cantidad de polen que producen y el escaso esfuerzo en su recolección. Esto concuerda, pues *Olea europaea* es considerada una especie anfífila, es decir, aunque predomine la polinización a través del viento, puede ser ocasionalmente polinizada por insectos (Achmakh et al., 2015).

Respecto a las familias a las que pertenecen las especies vegetales identificadas (*Tabla 4*), merece la pena destacar la gran variabilidad (las especies pertenecen a 29 familias distintas) y la predominancia de 3 de ellas: Lamiaceae, Fabaceae y Asteraceae, con 11, 15 y 22 especies identificadas de cada una de ellas respectivamente (*Tabla 4*). Estas familias son de las más numerosas a nivel global, pues Asteraceae y Fabaceae son las familias más diversas con 2244 y 1293 especies respectivamente, siendo Lamiaceae la séptima en el ranking de diversidad con 347 especies (Magill et al., 2013). Por tanto, que la mayoría de especies identificadas pertenezcan a estas familias es bastante probable. Con estos datos, se caracterizan como las familias más importantes para las abejas solitarias en este estudio en cuanto a que son de las familias que más diversidad proporcionan.

En busca de la respuesta a si el manejo agrícola y la complejidad del paisaje en la que quedan inmersas las fincas influyen en la diversidad de pólenes que las abejas acarrearán a los nidos para alimentar a sus crías, se obtuvo una serie de resultados reveladores, que, en unas ocasiones apoyan nuestras ideas iniciales y en otras ocasiones, debido a la gran complejidad de las redes de interacción, pueden resultarnos contradictorias.

Se observa, por medio de los análisis Permanova y NMDS, que el manejo agrícola no parece tener influencia en la diversidad polínica examinada en las cañas, debido a que se obtuvieron similitudes en la composición polínica de las fincas con manejo intensivo y en aquellas que desarrollan un manejo extensivo (*Figura 1 y Tabla 5*). En principio esto significa que la diversidad de pólenes que las abejas solitarias transportan a los nidos es indiferente a si en el agrosistema de olivar se desarrollan prácticas convencionales como la roturación del terreno para eliminar la cobertura vegetal o el uso de pesticidas y fertilizantes de síntesis, o si se desarrollan prácticas agrícolas menos destructivas y ecológicas. Esto no parece concordar con la idea preestablecida del efecto negativo causado por la intensificación agrícola sobre la biodiversidad, pues parece lógico que, si se eliminan los recursos que las abejas solitarias utilizan en su ciclo vital, así como la cubierta herbácea o lugares de anidación, estas se verán afectadas. Esta expectativa tiene además un soporte en los resultados de Tarifa et al. (2021) quienes mostraron que la intensificación agrícola erosiona la diversidad taxonómica de hierbas, particularmente la de especies entomófilas, provocando cambios en la composición de la comunidad basados principalmente en la desaparición de especies poco comunes. Una posible explicación a este resultado inesperado es que las abejas solitarias tomen polen de las herbáceas dentro de un rango más o menos limitado en cuanto a variabilidad de especies debido a la existencia de preferencias en la elección de recursos alimenticios, lo cual hace que la composición se homogeneice (Gresty et al., 2018). También puede que otros factores jueguen un papel importante y no se manifiesten teniendo únicamente una perspectiva local de la situación, ofreciendo por tanto resistencia a los efectos negativos del manejo intensivo. Así, los resultados de este estudio sí serían más concordantes con lo desarrollado por Tarifa et al. (2021), que predice que el contexto del paisaje, desarrollado más adelante, puede mitigar el impacto de la gestión agrícola local. En cualquier caso, este resultado es en alguna medida coherente también con los hallazgos de Martínez-Núñez et al. (2020b), quienes encontraron que las redes de abejas solitarias que anidan por encima del suelo y los pólenes que acarrearán a sus nidos son estructuralmente bastante estables con respecto al manejo, de forma que se mantienen las especies de abejas y plantas que representan el núcleo de la red, independientemente de la intensificación del manejo del suelo.

Por otro lado, en el mismo análisis se descubrió que la diversidad polínica que acarrearán las abejas solitarias sí varía en base al tipo de paisaje en el que las fincas se encuentran inmersa (*Figura 2 y Tabla 5*). Mientras que la composición polínica de paisajes simples e intermedios resulta poco distinguible, la propia de fincas con paisaje complejo destaca por su disimilitud. Una posible explicación a este fenómeno es que el paisaje complejo potencie la presencia de especies que sean menos comunes en los otros contextos paisajísticos, como encontraron Tarifa et al. (2021). En su estudio se observó que, en agrosistemas permanentes como el olivar, la alta complejidad paisajística permite la permanencia de plantas que son taxonómica y funcionalmente menos comunes, y que, además, suelen depender de insectos para su polinización y supervivencia.

En resumen, se aprecia que las diferencias en la composición polínica observada para cada finca vienen marcadas principalmente por el contexto paisajístico y no tanto por el manejo que en ellas se desarrolla.

Los Modelos Lineales Mixtos realizados para analizar la variabilidad en la diversidad de tipos polínicos entre manejo y paisaje, rindió también resultados de notable interés:

En primer lugar, se debe destacar que a la hora de realizar los análisis teniendo en cuenta solo los nidos ubicados en la zona productiva, se manifestó como significativo el modelo de interacción entre manejo y paisaje respecto al nulo (*Tabla 7*). Si por el contrario se tenían en cuenta todos los nidos de cada finca (ubicados en zonas productivas e improductivas), dicha variable dependiente no se consideraba significativamente influyente (*Tabla 6*). Esto resulta lógico pues, que en una determinada finca se desarrolle un tipo de manejo u otro, repercutirá de forma más directa en aquellos nidos que se encuentren dentro de la matriz agrícola. Es decir, que las abejas solitarias cuyo rango de movimiento se ubica principalmente en zonas de producción se verán más influenciadas por aspectos como la existencia o no de cubierta herbácea, la aplicación de pesticidas, etc. Por el contrario, aquellas abejas cuyo rango de movimiento se ubique, por ejemplo, en zonas de hábitat seminatural, la influencia de las prácticas agrícolas será mucho menor. También significa que la consideración conjunta de hábitats seminaturales y campo de olivar podrían estar enmascarando las diferencias en diversidad de especies que, de hecho, se pueden estar produciendo entre abejas que nidificaron en el campo de cultivo intensivo y extensivo. Leído de otra forma, la presencia de remanentes de hábitat natural estaría amortiguando en la escala superior (paisaje) las diferencias en diversidad que el manejo produce (escala campo de olivar).

Siguiendo con esta línea de hipótesis, se trató de descubrir qué efectos tiene el manejo agrícola de las fincas en base al contexto paisajístico sobre la diversidad polínica que las abejas solitarias acarrearán a los nidos (*Figura 3*). Se reveló que, cuando el contexto paisajístico era simple o complejo, las fincas con manejo intensivo y extensivo eran similares en cuanto a diversidad polínica. No obstante, si la finca poseía un paisaje intermedio, la variedad de tipos polínicos era significativamente diferente para manejo extensivo e intensivo. Más concretamente, se observó una menor diversidad en fincas extensivas respecto al otro tipo de manejo. Esto puede parecer contradictorio, pues se supone que el manejo extensivo permite unas condiciones más propicias para la cosecha de polen por parte de las abejas. Una explicación lógica a este fenómeno puede residir en cómo de homogénea es la cubierta herbácea de los olivares extensivos. Si una abeja anida en un olivar extensivo con una buena cubierta herbácea, encontrará las condiciones propicias para tomar todo el polen necesario de las flores que le ofrece dicha cubierta sin tener que alejarse mucho del nido. Sin embargo, si la cubierta no existe, como es el caso de los olivares con manejo intensivo, se verán obligadas a desplazarse a otras zonas, como hábitats seminaturales, en busca del polen que necesitan. Por tanto, si la cubierta herbácea es muy homogénea en cuanto al número de especies, pese a que las cantidades de polen disponibles sean muy grandes, la diversidad que se observará será más pequeña que si las abejas se desplazan a zonas improductivas fuera de la matriz del olivar, las cuales albergan mayor variedad de especies vegetales.

Es por ello también, que la diversidad polínica no varía significativamente en olivares con paisajes simples independientemente del tipo de manejo, ya que la diversidad de especies vegetales fuera de la matriz del olivar es también escasa. Por tanto, en este caso, con manejo extensivo existe una cubierta que brinda abundancia de recursos polínicos, pero homogénea en cuanto a especies, que si se elimina obliga a las abejas a buscar polen en zonas improductivas escasas e igualmente poco heterogéneas.

En el caso de las fincas embebidas en un paisaje complejo, la diversidad polínica observada tampoco varía, debido a que el efecto de desbordamiento que ofrece un paisaje con esas características, podría hacer que la cubierta herbácea contenga una mayor diversidad de especies vegetales.

Esta reflexión apoya la “hipótesis del paisaje intermedio” desarrollada por Tschardt et al. (2012), ya que los cambios a nivel local, como, por ejemplo, la inclusión de una cubierta herbácea más diversa, se verían reforzados en paisajes intermedios, siendo las consecuencias del cambio en paisajes simples y complejos mucho menos notables. Resalta

también que el contexto paisajístico en que se desarrollan las explotaciones agrícolas es fundamental para la diversidad de pólenes que acarrearán las abejas y tiene potencial para cancelar los efectos de manejo.

El otro aspecto señalado como significativo por el procedimiento estadístico de análisis mediante Modelos Lineales Mixtos es la variación de la diversidad de pólenes acarreados por las abejas, teniendo en cuenta el grado de cobertura de hábitat natural no forestal en los distintos tipos de contextos paisajísticos (*Figura 2*). Se observó que, en fincas cuyo paisaje es complejo o simple, la diversidad polínica se mantiene prácticamente igual indiferentemente de la proporción de cobertura de hábitat natural no forestal que haya. No obstante, en olivares con paisaje intermedio, la diversidad polínica aumenta significativamente conforme aumenta la proporción de hábitats naturales no forestales. Esto quiere decir que, al existir una mayor extensión de parches de hábitat natural no forestal (linderos y márgenes de camino sin modificar, zonas improductivas naturales, pastizales, etc.), la diversidad de plantas que las abejas visitan y consecuentemente la variedad de pólenes que introducen en las cañas es mayor si el paisaje en el que se ubica la finca tiene una complejidad intermedia. De nuevo, estos resultados apoyan la “hipótesis del paisaje intermedio” ya que los mejores resultados se obtienen en este tipo de paisajes.

Como ya señaló Goulson et al. (2015), la siembra con especies florales en zonas de no plantación o la reforestación de zonas improductivas del olivar como márgenes de caminos o linderos, además de retener parches de hábitats seminaturales entre o cerca de las tierras agrícolas podría proporcionar claros beneficios a la diversidad y abundancia polínica y de abejas solitarias, pues se pondría a su disposición una mayor cantidad de recursos florales y de anidación.

Respecto a la última de nuestras hipótesis que trataba de averiguar si existe una relación directa entre la diversidad de pólenes acarreados por las abejas solitarias a los nidos y la diversidad polínica de las herbáceas presentes en la cobertura vegetal, se observó lo siguiente (*Tabla 9*): si el análisis es llevado a cabo teniendo en cuenta la riqueza de herbáceas por estación de muestreo, la correlación es significativa, pero si se tiene en cuenta la estimación de la cubierta herbácea para toda la finca la correlación no lo es. En principio esto supondría que la diversidad de especies disponibles en el vecindario influye más en la diversidad polínica que acarrearán las abejas (a más diversidad de flores disponible en el vecindario más diversos son los pólenes que acarrearán) que la diversidad a escala de finca. Esta conclusión resulta coherente pues indica, conociendo la capacidad limitada en el vuelo de las abejas solitarias (Gill et al., 2016; Gathmann y Tschardtke, 2002), que estas



recogen el polen de plantas presentes en un entorno cercano a los nidales en los que lo almacenarán. No obstante, hay que notar que este diferente resultado puede estar comprometido por el diferente tamaño de muestra, muy superior para el análisis por nidal (basado en cobertura y diversidad en el vecindario cercana al nidal, $n=72$) que a escala de finca ($n=12$). En cualquier caso, de este resultado y de otros desarrollados anteriormente, se deduce la importancia y utilidad de la cubierta herbácea en el olivar para las abejas solitarias que allí anidan, además de otras funciones que tiene esta, como el fomento y protección de la integridad de las características físicas del suelo.

Haciendo autocrítica con el objetivo de seguir avanzando en este campo de investigación, se debe mencionar que este estudio podría ser mejorado para llegar a conclusiones más firmes, por ejemplo, aumentando el tamaño muestral en cuanto al número de fincas. En este caso, de las 12 fincas, 6 tenían manejo extensivo y las otras 6 intensivo, mientras que por otro lado esas 12 fincas quedaban clasificadas en 3 grupos de 4 fincas correspondientes a las 3 categorías paisajísticas. Permanece por ver, por tanto, la consistencia de estos resultados cuando el tamaño muestral fuese más elevado, dejando esta propuesta para futuras investigaciones. En este sentido hay que aclarar que este trabajo se ha realizado sólo sobre una submuestra de los olivares de los que el proyecto OLIVARES VIVOS está registrando información sobre las interacciones polen-abejas solitarias.

7. | CONCLUSIONES

El uso de la tierra con fines agrícolas no significa simplemente la destrucción del hábitat, pues a través del manejo agrícola, teniendo en cuenta el contexto paisajístico, se puede mejorar la biodiversidad y las funciones de los ecosistemas. Concretamente, estos factores influyen directamente sobre la comunidad vegetal de los olivares y consecuentemente sobre los polinizadores, como las abejas solitarias, que allí se encuentran.

Se ha demostrado, a través del análisis de la diversidad de tipos polínicos que las abejas solitarias usan para crear reservorios alimenticios para sus larvas en nidales artificiales, que:

- I) El manejo agrícola, extensivo o intensivo, no parece afectar a dicha diversidad polínica, pero sí lo hace el contexto paisajístico, siendo en los paisajes complejos donde existen más diferencias en la composición de tipos polínicos.
- II) Una mayor proporción de cobertura de hábitat natural no forestal incrementa la variedad polínica observada en paisajes intermedios, siendo no significativa la variación de esta en paisajes simples y complejos.
- III) En paisajes intermedios, fincas con manejo extensivo poseen menor diversidad de polen que fincas con manejo intensivo, posiblemente debido a que las abejas solitarias encuentran en las cubiertas herbáceas de los olivares extensivos, una fuente suficiente de polen que hace que no se vean obligadas a salir de la matriz del olivar, desprotegiendo sus nidos, en busca de polen de una mayor diversidad de especies como en el caso de los olivares intensivos.
- IV) Existe una correlación positiva entre la diversidad polínica que cosechan las abejas solitarias y la riqueza de herbáceas observada en el entorno cercano a los nidales, no siendo significativa para la riqueza de herbáceas estimadas en la finca. Esto apoya que las abejas solitarias tienden a buscar el polen cerca de los nidales.

Conociendo que la mayoría de olivares de Andalucía se encuentran en paisajes sencillos y que manejan el suelo de forma intensiva, aspectos tan importantes como la diversidad de la comunidad vegetal y los polinizadores asociados a ella podrían verse afectados. Su protección es fundamental para la conservación de los numerosos servicios que brindan a los ecosistemas y de los cuales se beneficia la actividad humana. De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio y otros de similares características, estrategias que potencien el incremento de la complejidad paisajística, por ejemplo, mediante el fomento de espacios de hábitat seminatural, además de desarrollar prácticas agrícolas extensivas que permitan la existencia de cubierta herbácea, podrían ser clave para la protección de la diversidad biológica y de los servicios con que nos provee.



| AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración y contribuciones en la elaboración de este trabajo a Domingo Cano por proporcionarme el material y los datos referentes a los nidales, ayudarme en el proceso de análisis de las cañas y en la interpretación de los resultados, además de cederme algunas de sus fotografías. A Carlos Martínez-Núñez por su participación en el desarrollo de ideas iniciales, a David Ossorio por su participación en la apertura de cañas y cesión de fotografías y a Elena Núñez por su ayuda en la preparación de muestras de polen fresco. Agradezco a Pedro Rey por brindarme un diseño experimental plenamente científico y poner a mi disposición información perteneciente a sus proyectos y a mi director Luis Ruiz por haberme guiado a lo largo de todo el proceso enseñándome las técnicas de preparación de muestras y ayudarme con la identificación de los tipos polínicos.

Este trabajo ha sido posible gracias a la información financiada y tomada a partir de los proyectos RECOVECOS (PID2019-108332GB-I00, MICIN, Gobierno de España and FEDER) y LIFE Olivares Vivos (LIFE14 NAT/ES/001094, European Commission).



8. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achmakh L, Bouziane H, Aboulaich N, Trigo M, Janati A & Kadiri M. (2015). Airborne pollen of *Olea europaea* L. in Tetouan (NW Morocco): heat requirements and forecasts. *Aerobiologia*. Vol. 31, pp. 191-199.
- Aguiar A, Deans A, Engel M, Forshage M, Huber J, Jennings J, Johnson N, Lelef A, Longino J, Lohrmann V, Mikó I, Ohl M, Rasmussen C, Taeger A & Yu D. (2013). Order Hymenoptera. En: Zhang, Z.Q. (ed.) Animal Biodiversity: An outline of higher level classification and survey of taxonomic richness (Addenda 2013). *Zootaxa*. Vol. 3703, Issue 1, pp. 51-62.
- Ascher J & Pickering J. (2017). Discover Life bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). [Consultado 2021/09/13]. http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species
- Batra S. (1984). Solitary bees. *Scientific American*. Vol. 250, Issue 2, pp. 120-127.
- Batra S. (1995). Bees and pollination in our changing environment. *Apidologie*. Vol 26. pp, 361-370.
- Blüthgen N, Fründ J, Vázquez D & Menzel F. (2008). What do interaction network metrics tell us about specialization and biological traits? *Ecology*. Vol. 89, Issue 12, pp. 3387-3399.
- Bosch J, Vicens N & Blas M. (1993). Análisis de los nidos de algunos Megachilidae nidificantes en cavidades preestablecidas (Hymenoptera, Apoidea). *Orsis*. Vol. 8, pp. 53-63.
- Breeze T, Bailey P, Balcombe K & Potts S. (2011). Pollination services in the UK: How important are honeybees? *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Vol 142, pp. 137-143.
- Buchmann S & Ascher J. (2005). The plight of pollinating bees. *Bee World*. Vol 86, Issue 3, pp. 71-74.
- Cane J & Tepedino, V. (2017). Gauging the effect of honey bee pollen collection on native bee communities. *Conservation Letters*. Vol. 10, pp. 205-210.
- Damialis A, Fotiou C, Halley J & Vokou D. (2011). Effects of environmental factors on pollen production in anemophilous woody species. *Trees*. Vol 25, pp. 253-264.
- Danforth B, Minckley R, Neff J & Fawcett F. (2019). The Solitary Bees: Biology, Evolution, Conservation. *Princeton University Press*.
- Fortel L, Henry M, Guilbaud L, Mouret H & Vaissière B. (2016). Use of human-made nesting structures by wild bees in an urban environment. *Journal of Insect Conservation*. Vol. 20, pp. 239-253.



- Gámez-Virués S, Perovic D, Gossner M, Börschig C, Blüthgen N, Heike de Jong, Simons N, Klein A, Krauss J, Maier G, Scherber C, Steckel J, Rothenwöhrer C, Steffan-Dewenter I, Weiner C, Weisser W, Werner M, Tschardt T & Westphal C. (2015). Landscape simplification filters species traits and drives biotic homogenization. *Nature Communications*. Vol. 6, pp. 8568.
- Garibaldi L, Steffan-Dewenter I, Winfree R, Aizen M, Bommarco R, Cunningham S, Kremen C, Carvalheiro L, Harder L, Afik O, Bartomeus I, Benjamin F, Boreux V, Cariveau D, Chacoff N, Dudenhöffer J, Freitas B, Ghazoul J, Greenleaf S, Hipólito J, Holzschuh A, Howlett B, Isaacs R, Javorek S, Kennedy C, Kremenka K, Krishnan S, Mandelik Y, Mayfield M, Motzke I, Munyuli T, Nault B, Otieno M, Petersen J, Pisanty G, Potts S, Rader R, Ricketts T, Rundlöf M, Seymour C, Schüepp C, Szentgyörgyi H, Taki H, Tschardt T, Vergara C, Viana B, Wanger T, Westphal C, Williams N & Klein A. (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science*. Vol 339, pp. 1608-1611.
- Gathmann A & Tschardt T. (2002). Foraging ranges of solitary bees. *Journal of animal ecology*. Vol. 71, pp. 757-764.
- Gazola A. & Garófalo C. (2009). Trap-nesting bees (Hymenoptera: Apoidea) in forest fragments of the state of São Paulo, Brazil. *Genetics and Molecular Research*. Vol. 8, Issue 2, pp. 607-622.
- Gill R, Baldock K, Brown M, Cresswell J, Dicks L, Fountain M, Garratt M, Gough L, Heard M, Holland J, Ollerton J, Stone G, Tang C, Vanbergen A, Vogler A, Woodward G, Arce A, Boatman N, Brand-Hardy R, Breeze T, Green M, Hartfield C, O'Connor R, Osborne J, Phillips J, Sutton P & Potts S. (2016). Protecting an ecosystem service: approaches to understanding and mitigating threats to wild insect pollinators. *Advances in Ecological Research*. Vol. 54, pp. 135-206.
- Gómez J, Giráldez J & Fereres E. (2009). The influence of cover crops and tillage on water and sediment yield, and on nutrient, and organic matter losses in an olive orchard on a sandy loam soil. *Soil and Tillage Research*. Vol. 106, pp. 137-144.
- González F & Candau P. (1997). *Olea europaea* airborne pollen in southern Spain. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. Vol. 78, pp: 278-84.
- Goulson D, Nicholls E, Botías C & Rotheray E. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*. Vol. 347, Issue 6229.
- Gresty C, Clare E, Devey D, Cowan R, Csiba L, Malakas P, Lewis O & Willis K. (2018). Flower preferences and pollen transport networks for cavity-nesting solitary bees: Implications for the design of agri-environment schemes. *Ecology and Evolution*. Vol. 8, pp. 7574-7587.
- Grillenzoni F, Corvucci F, Monaco L, Palmieri N, Floris I & Palermo L. (2007) PollenAtlas. (Atlas: Pollen profiles). [Consultado 2021/04/01]. <https://pollenatlas.net>
- Gross M. (2008). Bee gloom deepens. *Current Biology*. Vol. 18, 1073.



- Halbritter H, Auer W, Bouchal J, Buchner R, Cetinbas-Genc A, Enache M, Heigl H, Koelzer K, Kratschmer S, Lang I, Prader S, Ulrich S & Weber M. (2005) *PalDat - Palynological Database, an online publication on recent pollen*. (Home: Search Data). [Consultado 2021/04/01]. <https://www.palдат.org>
- Holden C. (2006). Ecology. Report warns of looming pollination crisis in North America. *Science*. pp. 314-397.
- Infante-Amate J, Villa I, Aguilera E, Torremocha E, Guzmán G, Cid A & González de Molina M. (2016). The Making of Olive Landscapes in the South of Spain. A History of Continuous Expansion and Intensification. *Springer*. pp. 157-179.
- Linder H. (1998). Morphology and the evolution of wind pollination. *Reproductive Biology*. pp. 123-135.
- MacIvor J & Packer L. (2015). 'Bee Hotels' as Tools for Native Pollinator Conservation: A Premature Verdict? *PLoS ONE*. Vol. 10, Issue 3.
- Magill R, Pickering J & Ballew S. (2013). Discover Life (Plantae: Dicotyledoneae: Family) [Consultado 2021/09/05]. https://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Groups_Plantae
- Mallinger R & Gratton C. (2014). Species richness of wild bees, but not the use of managed honeybees, increases fruit set of a pollinator-dependent crop. *Journal of Applied Ecology*. Vol.52, pp. 323-330.
- Martin A & Harvey W. (2017). The Global Pollen Project: a new tool for pollen identification and the dissemination of physical reference collections. *Methods in Ecology and Evolution*. Vol 8, pp. 892–897. (Home: Master Reference Collection) [Consultado 2021/04/01]. <https://globalpollenproject.org>
- Martínez-Núñez C, Manzaneda A & Rey P. (2019a). Revisando el uso de nidales artificiales para insectos en estudios de redes de interacción en agroecosistemas: enseñanzas derivadas de su aplicación en olivar. *Ecosistemas*. Vol. 28, Issue 3, pp. 3-12.
- Martínez-Núñez C, Manzaneda A, Lendínez S, Pérez A, Ruiz-Valenzuela L & Rey P. (2019b). Interacting effects of landscape and management on plant-solitary bee networks in olive orchards. *Functional Ecology*. Vol. 33, pp. 2316-2326.
- Martínez-Núñez C, Manzaneda A, Isla J, Tarifa R, Calvo G, Molina J, Salido T, Ruiz C, Gutiérrez J & Rey P. (2020a). Low-intensity management benefits solitary bees in olive groves. *Journal Applied Ecology*. Vol. 57, pp. 111-120.
- Martínez-Núñez C, Manzaneda A & Rey P. (2020b). Plant-solitary bee networks have stable cores but variable peripheries under differing agricultural management: Bioindicator nodes unveiled. *Ecological Indicators*. Vol. 115, pp. 106422.
- Michener C. (2007). The Bees of the World, Second edition. *Johns Hopkins University Press*. Baltimore and London.



- Müller A, Diener S, Schnyder S, Stutz K, Sedivy C & Dorn S. (2006). Quantitative pollen requirements of solitary bees: Implications for bee conservation and the evolution of bee-flower relationships. *Biological Conservation*. Vol. 130, pp. 604-615.
- Ollerton J, Tarrant S & Winfree R. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*. Vol. 120, pp. 321-326.
- Ortiz-Sánchez F, Aguado Martín L & Ornos C. (2018). Diversidad de abejas en España, tendencia de las poblaciones y medidas para su conservación (Hymenoptera, Apoidea, Anthophila). *Ecosistemas*. Vol. 27, Issue 2, pp. 3-8.
- Pacini E. (2015). Pollination. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*, Elsevier.
- Palese A, Vignozzi N, Celano G, Agnelli A, Pagliai M & Xiloyannis C. (2014). Influence of soil management on soil physical characteristics and water storage in a mature rainfed olive orchard. *Soil and Tillage Research*. Vol. 144, pp. 96-109.
- Paredes D, Cayuela L & Campos M. (2013). Synergistic effects of ground cover and adjacent vegetation on natural enemies of olive insect pests. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Vol. 173, pp. 72-80.
- Potts S, Biesmeijer J, Kremen C, Neumann P, Schweiger O & Kunin W. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution*. Vol. 25, pp. 345-353.
- Rader R, Howlett B, Cunningham S, Westcott D & Edwards W. (2012). Spatial and temporal variation in pollinator effectiveness: Do unmanaged insects provide consistent pollination services to mass flowering crops? *Journal of Applied Ecology*. Vol. 49, pp. 126-134.
- Rey P, Manzaneda A, Valera F, Alcántara J, Tarifab R, Isla J, Molina-Pardo J, Calvo G, Salido T, Gutiérrez E & Ruiz C. (2019). Landscape-moderated biodiversity effects of ground herb cover in olive groves: Implications for regional biodiversity conservation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. Vol. 277, pp. 61-73.
- Shepherd M, Buchmann S, Vaughan M & Black S. (2003). Pollinator conservation handbook: a guide to understanding, protecting, and providing habitat for native pollinator insects. *The Xerces Society*. pp. 145.
- Staab M, G Pufal, Tscharncke T & Klein A. (2018). Trap nests for bees and wasps to analyse trophic interactions in changing environments - A systematic overview and user guide. *Methods in Ecology and Evolution*. Vol. 9, pp. 2226-2239.
- Steffan-Dewenter I. (2003). Importance of habitat area and landscape context for species richness of bees and wasps in fragmented orchard meadows. *Conservation Biology*. Vol. 17, pp. 1036-1044.



- Tarifa R, Martínez- Núñez C, Valera F, González- Varo J, Salido T & Rey P. (2021). Agricultural intensification erodes taxonomic and functional diversity in Mediterranean olive groves by filtering out rare species. *Journal of Applied Ecology*. pp. 1-11.
- Thomas C, Cameron A, Green R, Bakkenes M, Beaumont L, Collingham Y, Erasmus B, Ferreira de Siqueira M, Grainger A, Hannah L, Hughes L, Huntley B, van Jaarsveld A, Midgley G, Miles L, Ortega-Huerta M, Peterson A, Phillips O & Williams S. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature*. Vol. 427, pp. 145-148.
- Tilman D, Fargione J, Wolff B, D'Antonio C, Dobson A, Howarth, Schindler D, Schlesinger W, Simberloff D & Swackhamer D. (2001). Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*. Vol. 292, pp. 281-284.
- Tscharntke T, Klein A, Kruess A, Steffan-Dewenter I & Thies C. (2005). Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity - ecosystem service management. *Ecology Letters*. Vol. 8, pp. 857-874.
- Tscharntke T, Tylianakis J, Rand T, Didham R, Fahrig L, Batáry P, Bengtsson J, Clough Y, Crist T, Dormann C, Ewers R, Fründ J, Holt R, Holzschuh A, Klein A, Kleijn D, Kremen C, Landis D, Laurance W, Lindenmayer D, Scherber C, Sodhi N, Steffan-Dewenter I, Thies C, van der Putten W & Westphal C. (2012). Landscape moderation of biodiversity patterns and processes - eight hypotheses. *Biological Reviews*. Vol. 87, Issue 3, pp. 661-685.
- Tscheulin T, Neokosmidis L, Petanidou T & Settele J. (2011). Influence of landscape context on the abundance and diversity of bees in Mediterranean olive groves. *Bulletin of Entomological Research*. Vol. 101, pp. 557-564.
- Valdés B, Díez M & Fernández I. (1987). Atlas polínico de Andalucía Occidental. Instituto de Desarrollo Regional de la Universidad de Sevilla. Excma. Diputación de Cádiz. Sevilla. pp. 1-450.
- Vogel S & and Westerkamp C. (1991). Pollination: An Integrating Factor of Biocenoses. *Birkhäuser Basel, Species Conservation: A Population-Biological Approach*. pp. 159-170.
- Watanabe H. (1998). Soil excavation by the deutzia andrenid bee (*Andrena prostimias*) in a temple garden in Hyogo Prefecture, Japan. *Applied Soil Ecology*. Vol. 9, pp. 283-287.
- Winfree R. (2010). The conservation and restoration of wild bees. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Vol. 1195, Issue 1, pp. 169-197.
- Zurbuchen A, Landert L, Klaiber J, Müller A, Hein S & Dorn S. (2010). Maximum foraging ranges in solitary bees: only few individuals have the capability to cover long foraging distances. *Biological Conservation*. Vol. 143, Issue 3, pp. 669-676.

9. | ANEXOS

ANEXO I.

Tipos polínicos presentes en las preparaciones.

Fotografías propias tomadas durante el proceso de identificación.

Tipo de tinción: fucsina básica.

Descripción: Debido a la naturaleza tridimensional de los granos de polen, para una mejor identificación, en algunos casos, se analizaron y fotografiaron desde distintos ángulos y con distintos enfoques a través de ligeros movimientos del tornillo micrométrico. Lo primero permite visualizar los dos planos básicos de los granos de polen (plano polar y ecuatorial) y lo segundo ayuda a identificar las sutiles características de la ornamentación de las cubiertas polínicas, número y tipo de aberturas.

Nota importante: las imágenes sirven para dar una idea morfológica de los granos de polen de las distintas especies, no de sus tamaños debido a que no se encuentran escaladas.

