Universitat de les Illes Balears

Liberación de abejas silvestres del género *Osmia* como polinizadoras alternativas de almendro en las Islas Baleares

Tema 1a):

Liberación de polinizadores alternativos para los frutales de las Islas Baleares

Informe Final 2021

Dra. Lucía Latorre Piñeiro

Sr. Cayetano Herrera López

Sra. Claudia Comparini Gacias

Dra. Anna Traveset Vilaginés

Dra. Maria del Mar Leza Salord

LEZA SALORD MARIA DEL MAR - DNI 43158567X

Firmado digitalmente por LEZA SALORD MARIA DEL MAR - DNI 43158567X
Fecha: 2021.10.01 13:57:21 +02'00'

Palma, 20 de Septiembre 2021

Índice

1. Introducción 3

2. Material y Métodos 6

2.1 Liberación de puestas de *Osmia sp.* en estaciones de nidificación. 6

2.2 Evaluación del establecimiento de las poblaciones introducidas en los campos de almendro. 14

2.3 Cuantificación de la variación del éxito reproductivo del almendro como consecuencia de la introducción de poblaciones de *Osmia sp*. 15

2.4 Evaluación de la eficiencia polinizadora de las poblaciones de *Osmia* introducidas sobre la producción. 18

2.5 Análisis estadísticos 19

3. Resultados y Discusión. 21

3.1 Liberación de puestas de *Osmia sp.* en estaciones de nidificación. 21

3.2 Evaluación del establecimiento de las poblaciones introducidas en los campos de almendro. 28

3.3 Cuantificación de la variación del éxito reproductivo del almendro como consecuencia de la introducción de poblaciones de *Osmia sp*. 34

3.4 Evaluación de la eficiencia polinizadora de las poblaciones de *Osmia rufa* introducidas sobre la producción. 40

4. Conclusiones 45

Agradecimientos 47

Justificación del personal del proyecto 48

Análisis de sostenibilidad económica y medioambiental 48

Bibliografia 49

ANEXO 1. Diseño de modelos 56

1. Introducción

La polinización es un proceso indispensable en la naturaleza que se encuentra en un estado preocupante a escala mundial por efecto de varios factores de estrés como la degradación del hábitat, el empobrecimiento de alimento, la exposición a pesticidas, la presencia de parásitos y patógenos o la irrupción de especies invasoras (Ghazoul 2004; Potts et al. 2010; Goulson et al. 2015).

Las abejas de la miel (*Apis mellifera*), domesticadas desde hace siglos para polinizar cultivos en todo el mundo (van Engelsdorp and Meixner 2010) son unas de las grandes afectadas, lo que ha llevado a una elevada tasa de pérdida de colonias, fenómeno conocido como Colony Collapse Disorder (vanEngelsdorp et al. 2009). Por otro lado, durante los últimos cincuenta años se ha observado a su vez un descenso del número de polinizadores silvestres por las mismas causas. Existe así en la actualidad una preocupación del sector investigador, conservacionista, agricultor y a la sociedad en general dadas las graves consecuencias en forma de impacto ecológico (diversidad de especies) y económico (producción agrícola) (Stokstad 2007; Swaminathan 2013; Powney et al. 2019).

Esta falta de polinizadores supone un gran problema para la producción de frutos de varios cultivos en todo el mundo (Jordan et al 2021; Dymondet al 2021; Sritongchuay et al. 2021). Éste es un problema especialmente crítico en cultivos que requieren de una polinización cruzada al tener un alto grado de autoincompatibilidad (el polen de una variedad no puede fecundar sus propios óvulos), como es el caso de los almendros (Kodad, O & Socias i Company 2009).

El almendro *Prunus dulcis* supone una gran fuente económica en España, siendo el segundo productor de almendras del mundo, con una producción de 2,31 millones de toneladas en 2009. En las islas Baleares sustituyó los campos de viña abandonados debido a la plaga de filoxera durante el siglo XIX (Rubí 1980) y ha tenido cada vez más

valor económico y social, contando hoy en día con 24.020 ha de superficie de cultivo de almendro.

Para asegurar una buena producción, se han de tener en cuenta varias condiciones. Una sería la temporalidad o fenología mayor. En las zonas mediterráneas, los almendros florecen de enero a marzo, dependiendo de la variedad y de las condiciones ambientales, siendo susceptible a las heladas y el exceso de agua (Herbari Virtual, 2019). Por otro lado, las Islas Baleares no son una excepción respecto a la incompatibilidad de las especies que se cultivan, existiendo un elevado porcentaje de variedades de almendros cultivados autoincompatibles. Así, para conseguir una fructificación elevada, los almendros necesitan una población mínima de insectos polinizadores como serían las abejas melíferas, tradicionalmente utilizadas con este fin. Se ha comprobado que, por cada hectárea se necesitan un mínimo de siete colmenas (Rallo, 1987), lo que supondría 168.140 panales de abeja para abastecer a toda la superficie de almendrales en Baleares. Según los datos de la Conselleria de Medi Ambient, Agricultura i Pesca, hay censadas alrededor de 10.000 en Baleares. Esto implica una falta importante de agentes polinizadores de este cultivo, que a su vez lleva a un descenso de la producción de almendra y, por lo tanto, a una gran pérdida económica para los agricultores locales.

Existen varias alternativas para mejorar la polinización del almendro. Una de ellas sería la introducción de polinizadores comerciales como la misma abeja de la miel. Se ha comprobado, además, la eficiencia de otros polinizadores como el abejorro (*Bombus terrestris*). Estos trabajos, realizados por el presente grupo de investigación desde el año 2015, mostraron cómo la utilización de este polinizador aumenta la fructificación del almendro en comparación con campos controles (Juan et al., 2016; Marqués et al., 2019)

Otra alternativa explorada durante los últimos años por este grupo de investigación es la introducción de hoteles de insectos artificiales, creadas para la atracción y establecimiento de polinizadores silvestres, ya que la pérdida de hábitat (propensos para la nidificación) (Beltrán i Traveset, 2018; Traveset et al., 2017) es una de las causas que

provocan la disminución de abejas silvestres. Así, si se incrementan los lugares potenciales de nidificación mediante la colocación de cajas nido, las abejas silvestres no invertirán tanto tiempo en la búsqueda de sitios donde poder nidificar y podrán invertir más tiempo en visitar flores (Artz et al., 2014; MacIvor, 2017).

De las abejas silvestres conocidas como relevantes polinizadores para los almendros se ha comprobado como un buen grupo el género *Osmia*. Diversos estudios han evaluado su efecto en campos de almendro (Bosch i Blas, 1994; Artz et al., 2014; Norfolk et al., 2016; Koh et al., 2018; Pitts-Singer et al., 2018) y en todos ellos se ha observado que la presencia de distintas especies de *Osmia* aumenta la producción de este cultivo. Se puede suponer, así, una prometedora estrategia para Baleares. Además, estas abejas emergen entre los meses de febrero y marzo (Bosch 1994, Bosch et al 2000, Krunić & Stanisavljević, 2006), período en el cual florecen la mayoría de las variedades de almendros en Baleares. Por tanto, *Osmia sp*. se podría considerar como una especie adecuada para aumentar la polinización de almendro, siendo éste el **objetivo principal** de este proyecto. Para nuestro trabajo usamos la especie *O. rufa* (sinónimo de *O. bicornis*) ya que no se consiguió una población natural suficiente de experimentos anteriores. Además, es la especie más accesible en el mercado que está presente en Mallorca (Baldock et al 2020), detectada en la isla desde 1895 (Ornosa et al 2006). Se ha constatado que la introducción de esta especie conlleva efectos positivos en la producción de otros cultivos (Jauker et al. 2020).

El proyecto se divide en las siguientes secciones u **objetivos específicos**:

1. **Liberación de puestas de ejemplares de *Osmia sp*. en estaciones de nidificación en campos de almendro.** Se liberan grupos de *O. rufa* en campos experimentales y se determina el proceso de emergencia.

2. **Evaluación del establecimiento de las poblaciones introducidas en los campos de almendro.** Se observa la actividad de los ejemplares liberados y se determina su establecimiento en cajas nido a distintas orientaciones desde el lugar de liberación.
3. **Cuantificación del aumento del éxito reproductivo del almendro como consecuencia de la introducción de poblaciones de *Osmia*.** Se compara el éxito reproductivo de los campos en los que se libera *O. rufa* con campos control.
4. **Evaluación de la eficiencia polinizadora de las poblaciones de *Osmia sp.* introducidas sobre la producción.** Se hacen observaciones directas de eventos de polinización por *O. rufa* y se determina si estos eventos han sido eficientes (paso de flor a fruto).

2. Material y Métodos

2.1 Liberación de puestas de *Osmia sp.* en estaciones de nidificación.

El proyecto se realizó en los campos de producción convencional de almendra de la finca Son Marrano (Llucmajor, 39.432367º N 2.947526º E Fig 1). Las áreas de estudio constaron de cuatro campos, dos campos tratamiento (T1 y T2) y dos campos control (C1 y C2). Las características de superficie, marco entre árboles y variedades presentes se muestran en la Tabla 1. Todos los campos tienen un sistema de irrigación. Se realiza en todos un control de la vegetación espontánea mediante laboreo mecánico. En T1 y T2, se colocaron las estaciones de emergencia centrales (Fig. 2). Estas estaciones consistieron en cajas de madera abiertas por un lateral con cuatro bandejas de cartón en su interior. Cada caja estaba provista de una malla de alambre de 2 cm de luz aproximadamente para evitar ataques de depredadores. En cada bandeja se colocaron cajitas de cartón con los capullos de *Osmia rufa* para facilitar el registro de las emergencias (Fig.3). En cada una de estas estaciones se coloca un *datalogger* para

Tabla 1. Descripción de los cuatro campos experimentales.

Campo	Superficie (ha)	Marco (m)	Variedades
T1	6,05	7 x 5	Masbovera Glorieta
T2	11,92	8 x 6	Masbovera Glorieta
C1	8,11	8x5 sección NE 5 x 6 sección SO	Masbovera Glorieta Ferragnes
C2	6,58	7 x 5	Masbovera Glorieta

registrar la temperatura y la humedad (OM-141 USB RH/Temperature/GPP Mini Data Logger, Omega Engineering Limited). Se adquieren de la empresa BioDar (Polonia) dos grupos de 2000 capullos de *O. rufa.* Se recomienda que se llegue a 750 hembras por hectárea para un efecto positivo sobre la producción (Bosch, 1994; Bosch i Kemp, 2002; Torchio et al. 1987). El primer grupo (G1 a partir de ahora) sale de la casa comercial el 2 de noviembre de 2020 y llega el 19 de novembre de 2020, es decir, en un viaje de 17 días. Se mandan a través de correo postal por tierra y barco. Este grupo se sabe que está del 2 de novembre al 4 de noviembre en Polonia (con una temperatura media calculada de 4.8ºC). El 4 de noviembre sale de Polonia por tierra hasta Madrid (temperatura en Madrid del 16 de noviembre: 15ºC) y llegan a Mallorca el 19 de noviembre (temperatura de 16ºC). El segundo grupo (G2 a partir de ahora) sale de Polonia el 14 de enero (3ºC media), sale de Madrid el 6 de febrero (8ºC) y llega el 9 de febrero (13ºC), tras un viaje de 31 días. Este retraso es causado por las complicaciones en los transportes como consecuencia de la crisis del COVID19. Ambos grupos se ponen a 3ºC al llegar a la

Fig. 1. Localización de los cuatro campos experimentales en Llucmajor, (39.432367º N 2.947526º E).

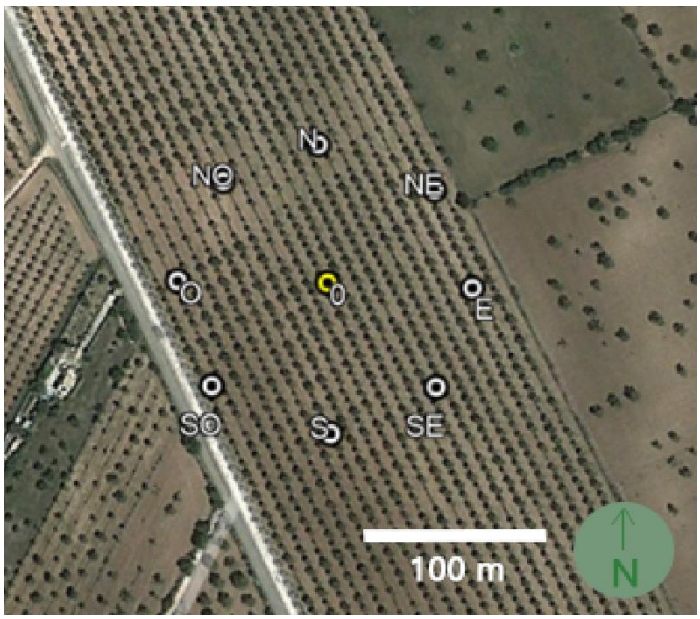


Fig. 2. Ubicaciones de las estaciones de emergencia centrales y cajas nido centrales (en amarillo) y cajas nido de emergencia (en blanco) en los campos T1 (imagen superior) y T2 (imagen inferior).

Fig 3. Instalación de estaciones de emergencia

universidad, como indican desde la casa comercial para evitar así la emergencia de las abejas hasta el momento deseado. Los capullos recibidos del G1 se sexan usando las directrices recibidas de la casa comercial (ancho del 95% de los capullos hembra varían de 5,9 a 7,5 mm; machos de 4,6 mm a 5,8 mm; *comunicación personal*) dentro de una cámara de temperatura controlada a 4ºC para preservar la hibernación. Los capullos recibidos del G2 se sexan a temperatura del laboratorio ya que ya se encuentran en fase de emergencia. Así tenemos cajitas de machos y de hembras de los dos grupos.

El día 5 de febrero de 2021 se lleva el G1 al campo y el día 23 de febrero se lleva el G2. Se tardó tanto en llevar el segundo grupo porque se esperó a que los almendros empezaran a florecer. Aprovechamos el hecho de que llegaran tarde para intentar acompasar al menos uno de los grupos a la floración, que comenzó de manera intensa el 22 de febrero.

En resumen, las rupturas de incubación de los dos grupos serían como sigue:

- **G1**, 17 días de ruptura: 2 días a 4.8ºC, 12 días a temperatura ascendiente de 4.8ºC a 15ºC, 3 días de 15ªC a 16ºC y puesta a incubar a 3ºC. Se lleva al campo 2 meses y 15 días después.
- **G2**, 31 días de ruptura: 23 días de temperatura ascendente de 3ºC a 8ºC, 3 días de 8ºC a 13ºC y puesta a incubar a 3ºC. Se lleva al campo 14 días después.

Se reparten igualitariamente entre los dos campos los dos sexos y dos grupos. Estas fechas son elegidas para hacer coincidir la floración de los almendros con la emergencia de las abejas siguiendo a Bosch y Kemp, 2001 (1-5 días primero los machos y 3-7 días las hembras después de los machos, según la casa comercial).

Cada cajita en la que se colocan los capullos (Fig.4) está a su vez dividida en dos compartimentos por un septo de cartón, para minimizar la interacción entre las abejas una vez hayan emergido de los capullos hasta que se liberen.

Desde el día 23 de febrero hasta el 3 de mayo se hacen visitas al campo cada dos días inicialmente, haciéndose desde el 24 de marzo más espaciados, pero nunca más de cuatro días para revisar, sexar, marcar las abejas hembra y liberarlas. En cada visita se anotan el número de abejas vivas emergidas, número de abejas muertas emergidas, el sexo, y el grupo al que pertenecen (G1 o G2). Las abejas hembra se marcan al ser liberadas para identificarlas cuando se avistan tanto en vuelo, como polinizando u ocupando los hoteles nido (secciones 2.2 y 2.4). Para el marcaje de las abejas hembra vivas se usa un pistón marcador de abejas, con una red en la parte superior con el tamaño de luz suficiente para que la pintura pase a través mientras que las abejas no son capaces de escapar (Fig.4). Se les pinta un punto de pintura acrílica de color rojo en la parte posterior del tórax (Marcador UniPosca PC-5M Rojo Flúor) y se coloca a las abejas en la caja nido central. Las abejas macho simplemente se liberan de las cajitas y se colocan en el nido. En cada visita se deja un papel empapado en una solución azucarada para alimentar a las abejas y evitar su desgaste hasta la siguiente visita. Se hacen en total 27 visitas hasta el 3 de mayo cuando las abejas dejan de emerger. El 3 de marzo se da la emergencia por terminada y se trasladan las cajitas de vuelta al insectario de la UIB a la espera de la emergencia de posibles parasitoides. Asimismo, se revisan los restos de capullos individualmente y se hace un conteo de las abejas adultas muertas que no llegaron a emerger y los abortos en fase larvaria. Se encuentran capullos conteniendo huevos y larvas de lo que parecen ser parasitoides, observados también durante el seguimiento en campo, más otras ninfas que parecen de otra especie. Se

colocan en placas Petri en el insectario, que se encuentra a una temperatura constante de 25ºC y un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Se observa su desarrollo para ser identificados.

La variabilidad de factores ambientales entre las diferentes estaciones (temperatura y humedad) se comprueba colocando un *data logger* en todos los campos experimentales.

Fig. 4. Proceso de marcaje de hembras de *Osmia rufa* hembra (arriba). *O. rufa* macho (abajo izquierda)

2.2 Evaluación del establecimiento de las poblaciones introducidas en los campos de almendro.

Al lado de las estaciones de emergencia se coloca una caja nido con 300 pajitas de cartón, de 8 mm de diámetro y 21 cm de largo con un tapón en la salida posterior, en grupos de 50 pajitas cada uno (Fig.5). Este formato de caja nido se usa en vez de otros modelos de hoteles de insectos tras comprobar su eficiencia en trabajos realizados los años anteriores (Marqués et al, 2019). El uso de *porexpan* para estas cajas ya se había comprobado anteriormente en otros estudios como un mayor atractivo para la especie *Osmia*. Estas cajas nido están formadas por una estructura externa de porexpan como aislamiento térmico y de humedad, con no más de 60 cm de altura y orientación sur-este (Bosch et al., 2006; Maclvor, 2017). Se colocan, además, 8 cajas nido de deriva en cada campo, a 80 m de la caja nido central, en las 8 direcciones cardinales (Bosch 1997, Fig. 2) para determinar una posible deriva de las poblaciones introducidas.

En las visitas al campo se observa la actividad en el nido central y desde el momento en que se detecta ocupación de pajitas se revisan además las cajas nido de deriva. En períodos de 2 a 5 días se observa durante 15 minutos el nido central, apuntando las pajitas ocupadas: pajitas totalmente ocupadas, con tapones de barro en el extremo visible + pajitas en las que existe actividad de entrada y salida de hembras de *O.rufa* marcadas. Se anota también la actividad de las abejas (número de salidas y llegadas del nido). Los nidos de deriva se observan durante 3 minutos, al haber sido determinado que el tiempo de viaje de cada hembra es de un promedio de 2:56 minutos (ver Resultados) observando las abejas de los nidos centrales.

Fig. 5. Caja nido instalada.

2.3 Cuantificación de la variación del éxito reproductivo del almendro como consecuencia de la introducción de poblaciones de *Osmia sp*.

Para evaluar el efecto de los polinizadores liberados durante la floración, se calcula el porcentaje de fructificación (*fruit set* o proporción número de frutos/número de yemas florales). En el momento en que se detecta la aparición de yemas florales en los cuatro campos experimentales, se realiza un primer conteo de éstas para determinar el *fruit set*. Entre los días 1 y 11 de febrero se eligen 80 árboles en T1 y T2, 10 por cada dirección cardinal (Fig. 6) y repartiéndolos lo más homogéneamente en bandas de 20 m desde el nido central.

En cada árbol se elige una rama para cada dirección cardinal principal (N, S, E y O) y se determinan secciones de rama de un mínimo de 20 cm desde el extremo de la rama hacia el tronco. Estas secciones se marcan con cinta de señalización y se cuentan las yemas florales.

En los campos control se eligen 70 árboles. En cada campo la distribución de los árboles es distinta. En C1 los árboles se eligen de manera homogénea dentro de dos sectores con árboles de edades distintas (Fig. 6). En C2, se eligen los árboles en filas a lo largo del campo. Para conseguir que las distancias entre árboles sean lo más parecido a los campos Tratamiento, se eligen árboles dejando en medio 1 o 2, dependiendo de la fila. Al final de la fructificación se cuentan los frutos en estas mismas ramas, el día 31/5/2021, es decir 103 días después (Bosch i Blas, 1994; Rodrigo i Herrero, 2002).

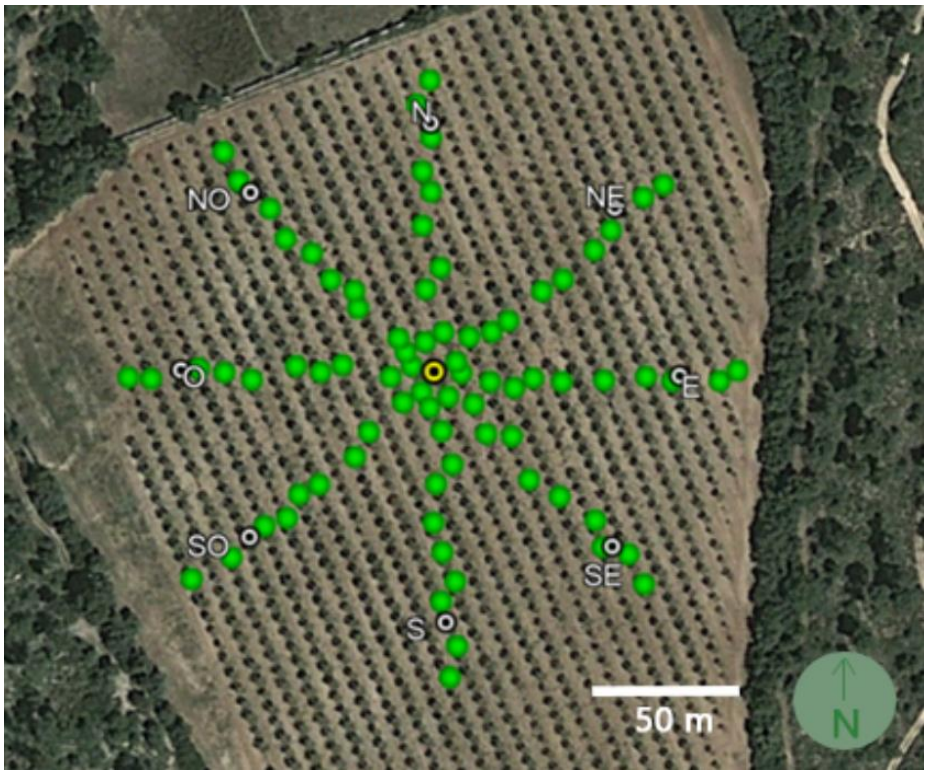


Fig. 6a. Ubicación de los árboles elegidos para calcular el *fruit set* (círculos verdes) en T1

Fig. 6b. Ubicación de los árboles elegidos para calcular el *fruit set* (círculos verdes) en T2 (imagen superior) y C1 (imagen inferior).

Fig. 6c. Ubicación de los árboles elegidos para calcular el *fruit set* (círculos verdes) en C2.

2.4 Evaluación de la eficiencia polinizadora de las poblaciones de *Osmia* introducidas sobre la producción.

En los campos Tratamiento, se eligen 30 árboles lo más cerca posible de la estación de emergencia, entre los árboles elegidos para el experimento de *fruit set* (Fig.7). En cada uno de ellos se elige una rama dirigida hacia el sur de la cual se cubre con una malla (siguiendo a Greenleaf i Kremen 2006) una sección de 1 m acumulado (sumando entre las ramificaciones de la rama). Esta malla es de tul blanca, que se sella en la base y cuidadosamente a su largo para una correcta exclusión de los polinizadores. Una vez los almendros están en flor, se realizan sesiones de observación de eficiencia polinizadora. En estas sesiones se abren las exclusiones dejando a las ramas accesibles para los

polinizadores. Las ramas se observan constantemente durante períodos de 60 minutos y se anotan todos los polinizadores que se posan sobre las flores de cada rama. Cuando un polinizador que no sea *Osmia rufa* vuela cerca de la rama se intenta ahuyentar antes de cualquier contacto. Si no se consigue ahuyentar a tiempo y el polinizador hace contacto con alguna flor, ésta se marca con rotulador fluorescente para ser excluida del conteo final. Estos polinizadores se anotan para obtener la mayor información posible. Se anotan además los polinizadores que se observan en todo el árbol (Bosch i Blas, 1994; Monzón, et al., 2004). Si se observa una *O. rufa* hembra polinizando una flor de la rama, ésta se encapsula de manera individual para prevenir otros eventos de polinización y asegurar que, de haber desarrollo a fruto, haya sido causado por polinización de *O. rufa*.

Para aprovechar la información recogida en el campo, se anotan también los polinizadores que se observan en el resto del árbol, teniendo en cuenta que el observador no ve todo el árbol, si no alrededor de un tercio. Además, se cuentan las abejas de la miel *Apis mellifera* que se encuentran en el árbol al llegar, como conteo relativo.

2.5 Análisis estadísticos

Todos los modelos que se realizan fueron GLMM (Generalized Linear Mixed Model, ANEXO 1) realizados en SPSS v.26, ya que ninguna de las variables respuesta resultaron con normalidad de varianza. En todos los casos se eligen los modelos con mejor índice AIC de Akaike corregido de ajuste tras probar todas las combinaciones de variables definitorias como factores fijos independientes y cruzados. Se prueba también distintas distribuciones de la variable respuesta, función link y diseño de covarianza (ANEXO 1). Se prueba también a cruzar la variable aleatoria con las variables fijas. En el caso de la mortalidad de *O. rufa* se hizo también un Test de Fisher.

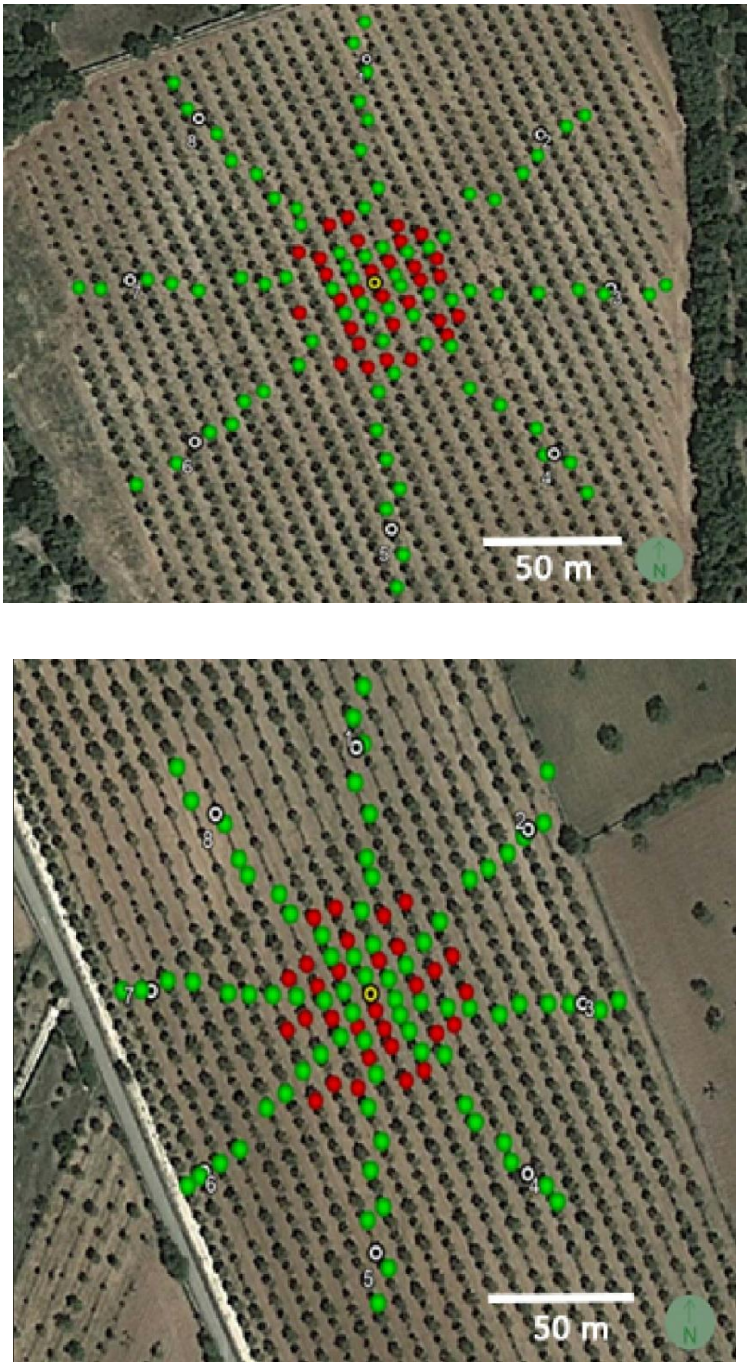


Fig. 7. Árboles escogidos para observar la eficiencia polinizadora (rojo) colocados entre los árboles elegidos para el *fruit set* (verde). El punto amarillo señaliza la localización de la estación central de emergencia y el nido central de *O. rufa*. Los puntos blancos señalizan las estaciones de deriva.

Para la comprobación de la sincronía entre las variables ambientales, se realizaron correlaciones entre los datos obtenidos de los *dataloggers* que funcionaron en campo (ver sección 3.1).

3. Resultados y Discusión.

3.1 Liberación de puestas de *Osmia sp.* en estaciones de nidificación.

Los ejemplares liberados en las primeras visitas son mayormente machos de los dos grupos. El primer día (23 de febrero) se liberan y marcan únicamente 2 hembras del grupo 2. La primera hembra del grupo 1 se libera el 25 de febrero.

A lo largo de los 39 días de experimento, se liberan un total de 2667 (64,42%) ejemplares emergidos de los 4140 capullos colocados en el campo. De éstas, 1311 fueron hembras (49,15% de todos los emergidos) y 1356 machos (50,84%). Esta proporción fue bastante acercada al 50/50 indicada por la casa comercial. Los grupos que más emergieron fueron los machos del grupo 1 y las hembras del grupo 2, ambas en el campo 2 (Tabla 2).

La tasa de emergencia diaria (número diario de individuos emergidos por visita) varió significativamente a lo largo del tiempo entre grupo y sexo (interacción grupo*sexo: $F(9,102)=163,430$, $P<0.005$; Fig. 8), sin observarse ningún patrón identificable aparte de la anticipación de los machos respecto a las hembras y picos de algunos grupos a mediados de marzo y a finales de marzo/principios de abril. No se pudo determinar diferencias significativas entre los dos campos.

La misma diferencia significativa se observó entre los sexos y grupos a lo largo del tiempo (sexo*grupo*días: $F(4,163)= 2276,517$, $P<0.005$, Fig. 9) con la emergencia acumulada (sumatorio de individuos emergidos a lo largo del experimento), sin darse diferencias entre los dos campos ($Z=1,378$; $P=0,168$). Se comprueba igualmente el claro retraso de emergencia de hembras, comenzando a acelerarse a mediados de marzo.

Tabla 2. Total de *O. rufa* emergidas durante el estudio. Se indica la proporción respecto al total de capullos colocados en campo. No se incluyen los individuos no sexados.

		Grupo 1	Grupo 2
Campo 1	Hembras	282 (6,81%)	367 (8,86%)
	Machos	366 (8,84%)	227 (5,48%)
Campo 2	Hembras	228 (5,51%)	415 (10,02%)
	Machos	543 (13,12%)	215 (5,19%)

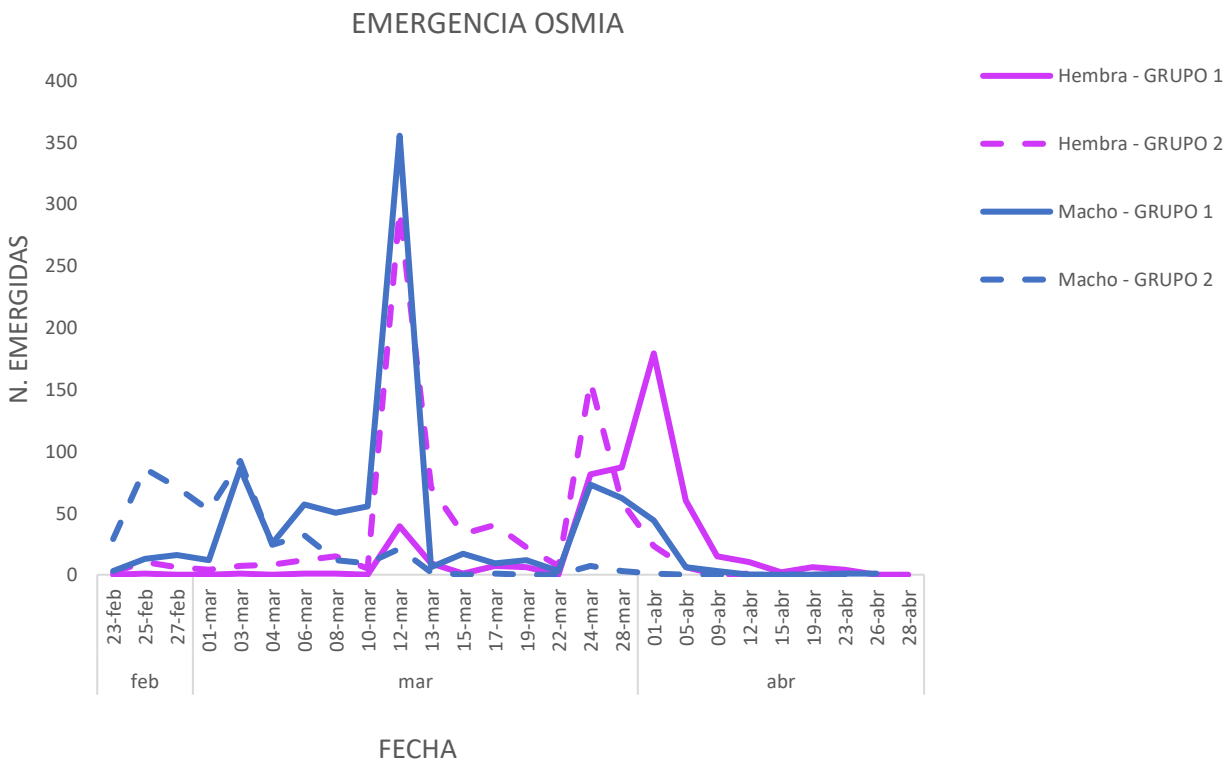


Fig.8. Emergencia diaria de *O. rufa* a lo largo del experimento

No se da ningún patrón reconocible en sexos o grupos. Los machos del grupo 2 emergen desde un principio manteniendo una tasa constante hasta el final; los machos del grupo 1 presentan un aumento inicial con su pico el 10 de marzo para mantenerse más o menos constante hasta el final; las hembras del grupo 2 presentan un pico ese mismo día (10 de marzo) y otro el 22 de marzo; las hembras del grupo 1 se retrasan bastante teniendo un pico a principios de abril. La anticipación general de los machos era algo esperado dada su estrategia reproductiva conocida como una 'poliginia de batalla' en la que éstos emergen antes de las hembras para luego competir para aparearse con el mayor número de ellas (Seidelmann 1999).

La diferencia de patrones entre los grupos, sin embargo, se podría relacionar con las disrupciones de la hibernación accidentales que sufrieron las abejas. El grupo 1 sufrió una disrupción más corta, pero más temprana en el año y con temperaturas más altas; mientras que el grupo 2 sufrió una disrupción más tarde en el año, más larga pero con temperaturas más bajas por lo que su desarrollo podría haber sido más completo. En países más fríos como Polonia, *O. rufa* emerge más tarde (finales de marzo y principios de abril; Giedasz & Fliszkiewicz, 2016). El hecho de que emergiesen antes era de esperar por las temperaturas más cálidas (indicado por la casa comercial) y por las disrupciones de hibernación sufridas.

Los casi dos meses que tardaron en emerger resultó llamativo comparado con otros estudios en los que el tiempo de emergencia es de 13 días de máximo en machos y de 21 días en hembras (Giedasz & Fliszkiewicz, 2016) y menos de 30 días en el caso de *O. cornuta* (Bosch & Kemp 2004). Además, desde la casa comercial nos habían informado que las abejas emergerían como máximo en 15 días después de su puesta en el campo.

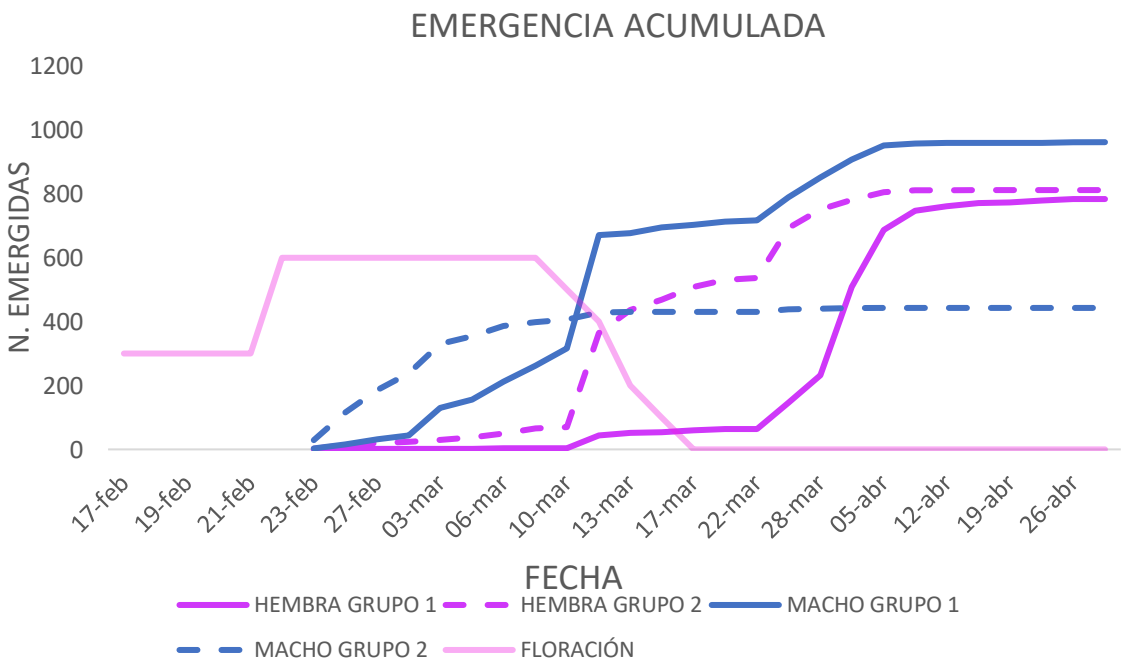


Fig. 9. Emergencia acumulada de los dos grupos de *Osmia rufa* experimentales. Se indica el período de floración de los almendros, con una intensidad aproximada según la percepción en la observación directa.

La floración de los almendros comenzó duró del 17 de febrero al 17 de marzo. El máximo se dio entre el 21 de febrero y el 6 de marzo, previniendo una coincidencia temporal óptima con la emergencia de las abejas. Esta falta de sincronía fue fortuita ya que los almendros florecen según la cantidad de horas de frío acumuladas durante el invierno, dependiendo por lo tanto de las temperaturas anuales. Esta desincronización es desafortunada ya que el efecto de las abejas sobre la producción de almendras ha estado claramente limitado. En otros estudios, sin embargo, se dieron perfectas sincronías con las floraciones de almendro, como en un estudio realizado en Hungría (Benedek 2008), con condiciones climáticas distintas a Mallorca y poblaciones de *Osmia sp*. establecidas en campo.

Los *dataloggers* colocados en campo dieron errores a lo largo del experimento. Para comprobar si hay diferencias de las variables ambientales entre los campos, se volvieron a colocar después del experimento, y se realizaron correlaciones entre los campos T1, C1 y C2 (Tabla 3; el *datalogger* del campo T2 vuelve a dar error). No se observaron diferencias significativas, lo que refuerza la ausencia de variabilidad de factores ambientales entre los campos.

Así, la variabilidad y falta de patrón de las tasas de emergencia entre los grupos/sexos es muy probablemente achacable a los cambios de temperatura previos al experimento que se dieron durante el transporte de los capullos por las incidencias causadas en los transportes por la crisis de la Covid-19.

Durante el experimento se encuentran 34 abejas muertas (0,82%; Tabla 4) lo que demuestra una bajísima mortalidad, ratificando los períodos entre visita como válidos. La mortalidad de abejas emergidas entre visitas nos pueden dar información sobre la resistencia de éstas. Los modelos estadísticos realizados no mostraron diferencias

Tabla 3. Coeficientes de correlación entre las variables ambientales entre pares de campos durante el período de 17 de mayo hasta el 3 de junio.

TR1 – CTRL1	Temperatura	0.969
	Humedad	0.959
CTRL1 – CTRL2	Temperatura	0.951
	Humedad	0.957
TR1 – CTRL2	Temperatura	0.971
	Humedad	0.972

Tabla 4. Mortalidad de *O. rufa* durante el experimento en comparación con abejas liberadas. El porcentaje se refiere a los 4140 capullos puestos en campo.

Grupo	Macho emergido muerto	Machos liberados	Hembra emergida muerta	Hembras liberadas
1	8 (0.19%)	909 (21.96%)	22 (0.53%)	510 (12.32%)
2	1 (0.03%)	442 (10.68%)	3 (0.07%)	782 (18,89%)
TOTAL	9 (0.22 %)	1351 (32.63%)	25 (0.6%)	1292 (31.21%)

significativas entre los sexos o los grupos. Sin embargo, al realizar tests de Fisher, sí se demuestra una diferencia significativa entre sexos (25 hembras y 9 machos; $P<0.005$) y entre grupos (30 del grupo 1 y 4 del grupo 2; $P<0.0005$). Sigue sin existir una diferencia significativa entre los campos en el caso de la mortalidad durante el experimento ($P=0.4098$).

La mortalidad en el grupo 1 es mucho mayor que el grupo 2 en todos los casos. Esta alta mortalidad probablemente se deba también al tipo de disrupción que sufrió este grupo. Se sabe que la temperatura es un factor crítico para el desarrollo de adultos resistentes. Se ha comprobado que el frío es completamente necesario tanto para *Osmia rufa* (Krunic & Stanisavljevic, 2006) como con otras especies como *Osmia cornuta* (Bosch & Kemp, 2004, Krunic & Stanisavljevic, 2006, Schenk et al 2018, Torchio et al 1987) u *O. lignaria* (Bosch et al 2000; Sgolastra et al 2010), especie con la que es incluso beneficioso el mantener a los capullos en frío hasta el momento en que se desea para sincronizarlo con la floración de almendros (Bosch & Blas, 1994). Nuestro resultado concordaría con otros estudios en los que la mortalidad de adultos aumenta con temperatura más altas durante la hibernación (Radmacher & Strohm, 2011).

Transcurridas dos semanas sin ninguna emergencia, y según las indicaciones de la casa comercial, un total de 1473 capullos se recogieron del campo y fueron trasladados al insectario de la universidad. Éstos contuvieron un total de 105 machos adultos, 34

hembras adultas y 358 larvas abortadas; lo que puede indicar que los machos tienden a morir más dentro de los capullos mientras que las hembras mueren una vez emergidas (bien por causas naturales o falta de alimentación suficiente entre liberaciones). Aún así, la mortalidad es mucho mayor en larvas, y se dieron más en el grupo 1, una vez más indicando que la disrupción en la hibernación que sufrió este grupo fue mucho más impactante en el desarrollo de las abejas.

El 15 de marzo se encuentran parásitos por primera vez en dos cajitas (Fig 10 en Material y Métodos). Se van encontrando a lo largo del experimento en ambos campos y en capullos identificados con los dos sexos. Se observa su desarrollo en el insectario y se determina como *Torymus sinensis*. Este parasitoide es comúnmente usado como agente de control biológico sobre la avispilla del castaño *Dryocosmus kuriphilus* en Europa y Japón (Gibbs et al. 2011). Este parasitoide ha sido observado en julio de este mismo año en Sa Coma de n'Arbona, Fornalutx (31SDE811051; Magdalena Vicens, comunicación personal). Aunque esto indique una presencia previa de *Torymus* en Mallorca, se ha de tener muy en cuenta la posibilidad de reintroducción de parásitos al comprar capullos de abejas solitarias en otros países, al igual que afirman Ferracini et al (2015).

Tabla 5. Mortalidad dentro de los capullos durante el experimento. El porcentaje se hace respecto a los 4140 capullos colocados en campo.

	CAPULLOS			
Grupo	**Macho muerto no emergido**	**Hembra muerta no emergida**	**Aborto en fase larvaria**	**TOTAL**
1	48 (1,16%)	19 (0.46%)	342 (8.23%)	409 (9.88%)
2	57 (1.38%)	15 (0.36%)	16 (0.39%)	88 (2.13%)
TOTAL	105 (20.54%)	34 (0.82%)	358 (8.65%)	497 (11.86%)

A lo largo del experimento se encuentra otra larva dentro de una caja, pero no dentro de capullo. Se determina como el lepidóptero *Acleris variegana,* ya presente en Mallorca. (CAIB 1998; Fig. 11). Se encuentran también otras dos ninfas similares entre ellas, una de ellas no se desarrolla pero la otra evoluciona en lo que se determina como el díptero *Anthrax sp.* (Fig. 11) probablemente ya introducido ya que, aunque nos lo encontramos dentro de las cajitas, estaba fuera de los capullos.

3.2 Evaluación del establecimiento de las poblaciones introducidas en los campos de almendro.

El día 6 de marzo se comienzan a revisar los hoteles nido centrales, en ese momento (9 días después de comenzar a liberar abejas) hay en el campo T1 21 hembras y 298 machos emergidos, y en T2, 31 hembras y 300 machos emergidos. Se detecta actividad de machos alrededor del hotel nido y actividad de cópula con las hembras emergidas (Fig.12). El 15 de marzo es el primer día que se detecta ocupación en el nido central de T1, observándose cinco hembras ocupar cinco pajitas. A partir de este día se van ocupando en T1 con una velocidad de 5 pajitas al día en T1. En T2 se observa ocupación por primera vez el 24 de marzo y una velocidad de ocupación de 3 pajitas al día. El último día de observación, el 3 de mayo, el hotel central de T1 tiene 74 (24,66%) pajitas ocupadas con tapones de barro y el hotel central de T2, 44 (14,66%) (Fig. 13 y 14). Se confirma así la idoneidad de este tipo de hoteles (Marqués et al. 2019) que supondrán un beneficio en el establecimiento de las abejas, ya que no invertirán tanto tiempo en la búsqueda de lugares en donde nidificar y podrán invertir este tiempo en visitar flores (Artz et al, 2014; MacIvor, 2017).

Fig. 10. Desarrollo de *Torymus sinensis* en condiciones controladas de insectario.

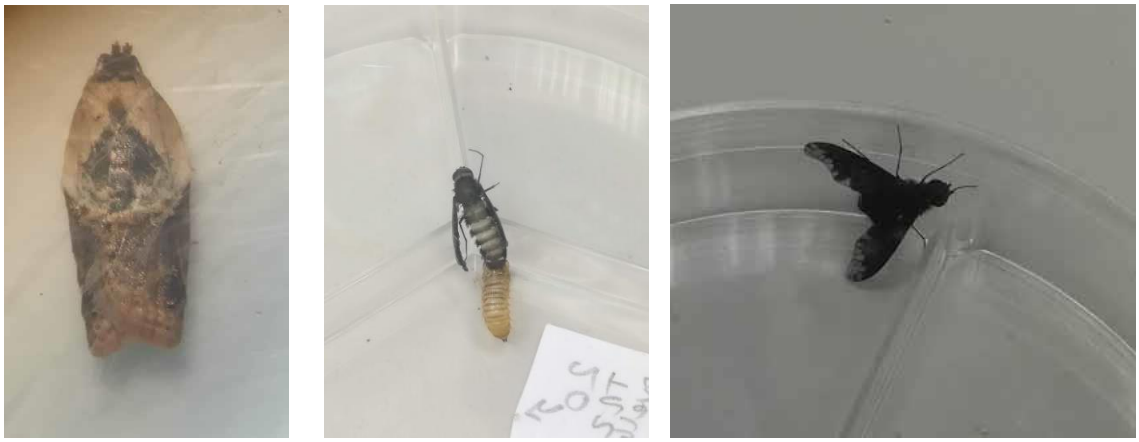


Fig. 11. Especies desarrolladas de larvas encontradas en las cajitas experimentales. *Acleris variegana* adulta (izquierda), *Anthrax sp.*adulto recién emergido (centro), adulto (derecha).

Se calcula un tiempo aproximado de un viaje de provisionamiento (de polen, barro o las dos cosas) de las hembras creando sus nidos. Se observan 5 abejas con viajes de ida y vuelta durante 2:56 minutos. Esta actividad es muy alta en comparación con el primer año en otros estudios en los que se observan un máximo de 29 llegadas en una hora, lo que equivaldría a 1,45 llegadas cada 3 minutos (Benedek 2008). En el segundo año de este mismo estudio la actividad es mucho mayor, lo que indica la consistencia en la introducción de *Osmia sp.* en campos de cultivo.

Fig 12. Hembra y macho copulando (izquierda). Caja nido con tapones indicando puestas de *O. rufa*, al finalizar el experimento (derecha).

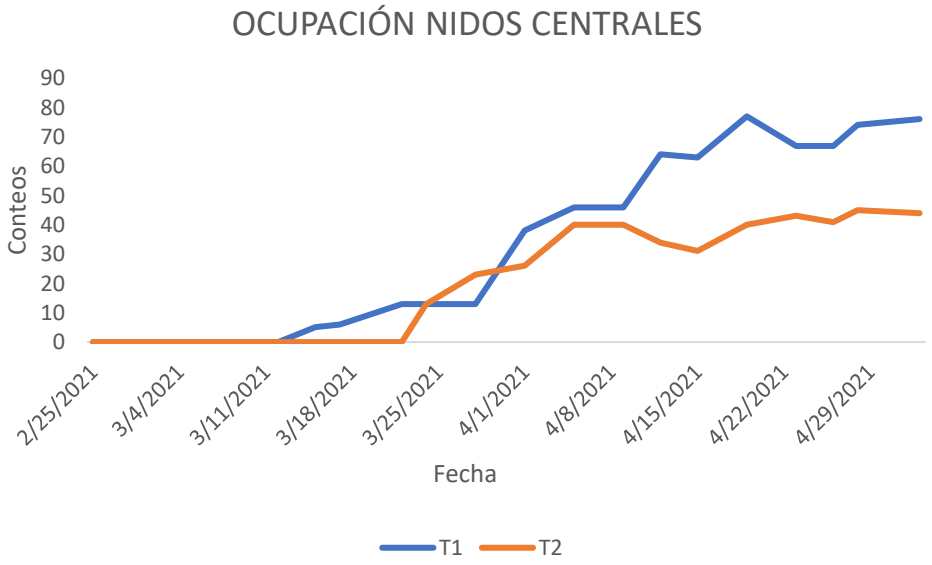
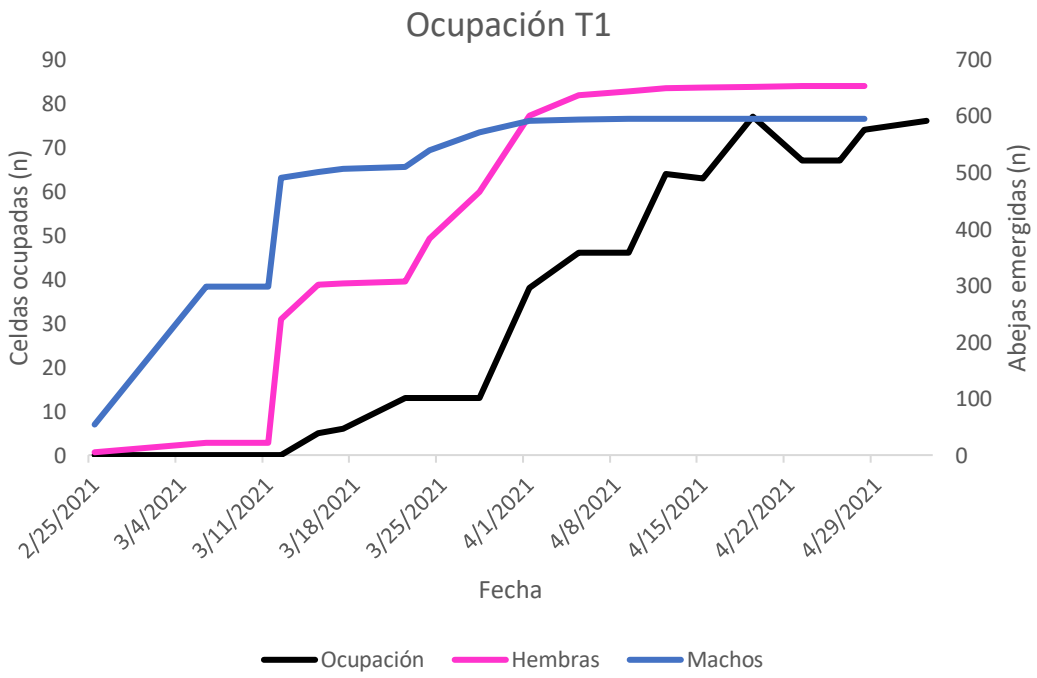


Fig. 13. Desarrollo de la ocupación de las cajas nido centrales por *O.rufa*.



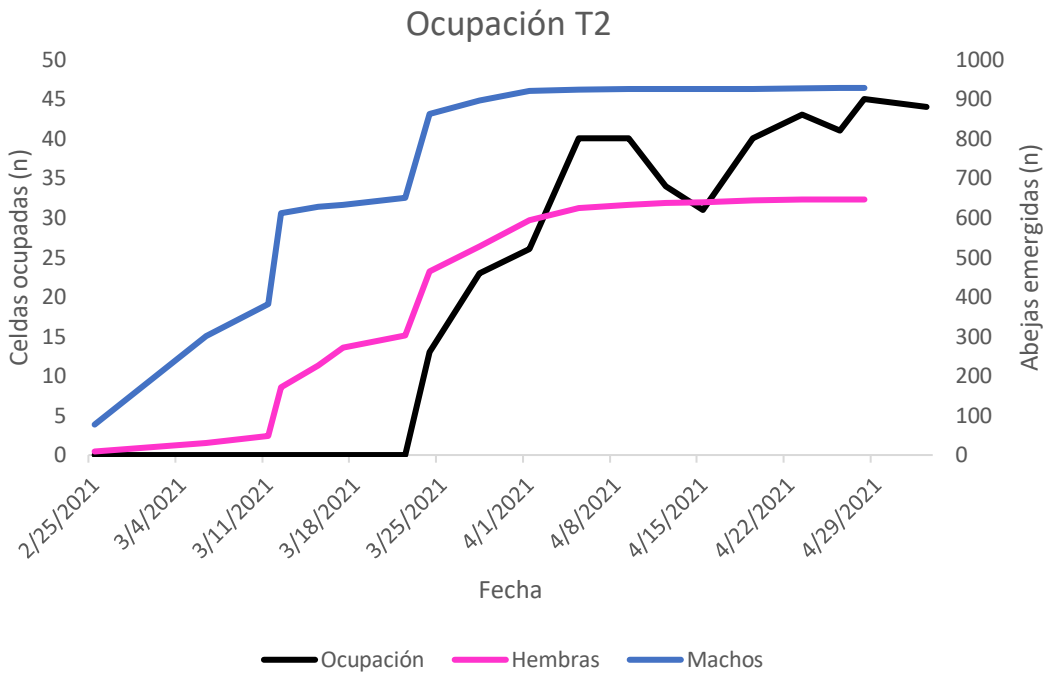


Fig. 14. Ocupación de nido central y *O.rufa* emergidas en ambos campos experimentales.

Se observan también algunas hembras marcadas que vuelven a las cajitas de emergencia y otras haciendo nidos en otros tipos de huecos. Los eventos de cópula se observan hasta el 5 de abril (un mes desde la observación de las primeras cópulas).

Los análisis realizados determinan una esperada tendencia positiva de creación de nidos a lo largo del tiempo (Fig. 13, $F=16{,}600$, $p<0.001$) y una vez más no se puede determinar una diferencia significativa entre los campos por problemas de convergencia en el modelo. Aún así se ve un claro retraso en T2, viéndose en T1 una mayor ocupación y a mayor velocidad.

Al comparar la tasa de emergencia con el porcentaje de ocupación del nido central (Fig.14), vemos que en ambos campos, el 50 % de las pajitas han sido ocupadas (38 en T1 y 23 en T2) cuando la mayoría de las hembras (601, el 92.04 % en T1 y 527, el 80.33% en T2) y machos (591, el 99,32% en T1 y 896, el 96,55% en T2) han emergido.

La primera detección de ocupación en nidos de deriva se da el 22 de marzo (una semana después de la primera ocupación en el nido central) en el nido SO del T1, con una sola abeja ocupando. Las primeras pajitas ocupada en T2 se observaron el 28 de marzo (4 días después de la primera ocupación en el central), apareciendo 1 o 2 pajitas ocupadas en todos los nidos de deriva, exceptuando en el N y el E. Los nidos de deriva se revisaron por última vez el 3 de mayo (42 días después de la primera aparición en T1 y 36 días en T2). En T1, se ocuparon finalmente 230 pajitas y 110 en T2. Existe un efecto de la orientación significativo ($F=4,37$, $p<0.001$), observando que la ocupación mayor se da en los nidos situados en el SE y en el NO y la ocupación menor se da en el S (Fig. 15). Se detecta una variabilidad parcialmente significativa entre los campos, la orientación y la ocupación a lo largo del tiempo ($Z=1,689$; $p=0.91$, Fig. 16) lo que indica una falta de patrón entre estos factores.

Es interesante conocer que la primera ocupación en los nidos de deriva en T1 ocurrió 7 días después de la primera ocupación en el nido central, cuando habían emergido 307 de las 653 hembras finales (el 47,01%) y 510 de los 595 machos finales (el 85,71%). En T2, la ocupación en los nidos de deriva se dio 4 días después de la primera ocupación detectada en el nido central, cuando habían emergido 527 de las 646 hembras finales (el 81,57%) y 896 de los 928 machos finales (96,22%). En general se ve un pequeño retraso en los nidos de T2 respecto a T1, tanto en las primeres ocupaciones como en la terminación de los nidos (aparición de los tapones de barro). Parece sin embargo, que la velocidad de ocupación en T2 es mayor al estar más retrasadas.

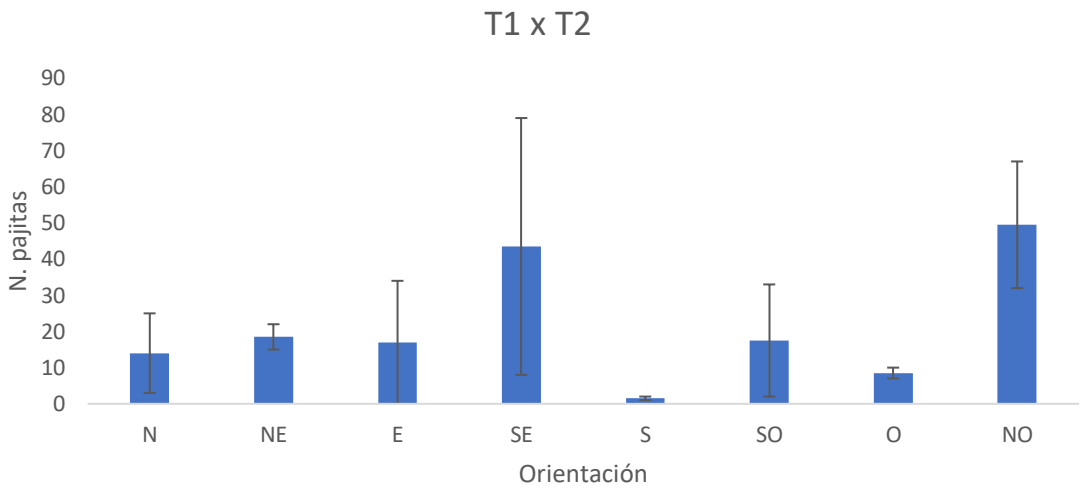


Fig. 15 Ocupación combinada en los nidos de deriva de los dos campos experimentales

3.3 Cuantificación de la variación del éxito reproductivo del almendro como consecuencia de la introducción de poblaciones de *Osmia sp*.

La floración de los almendros comenzó este año el día 17 de febrero y terminó el 17 de marzo, con una época más intensa a partir del 21 de febrero. Esto supuso una desincronización bastante acusada respecto a los períodos de polinización de las abejas (ver sección 3.1).

El *fruit set* de los almendros en los campos control resultó de un promedio de 27,10 % ±1,32, mientras que en los campos tratamiento hubo una fructificación significativamente mayor del 29,09% ($F=218,215$, $p<0.001$, Fig.17). Se observa además un mayor porcentaje de cuajado en las ramas orientadas hacia el sur, patrón que varía ligeramente en los dos tipos de tratamiento (tratamiento x rama significativo, $F=12,710$, $p<0.001$, Fig.18) pero que sigue siendo mayor en las ramas dirigidas hacia el sur en ambos tratamientos. El hecho de que exista este efecto con tan poco solapamiento podría sugerir un prometedor efecto alto si el solapamiento hubiese sido total.

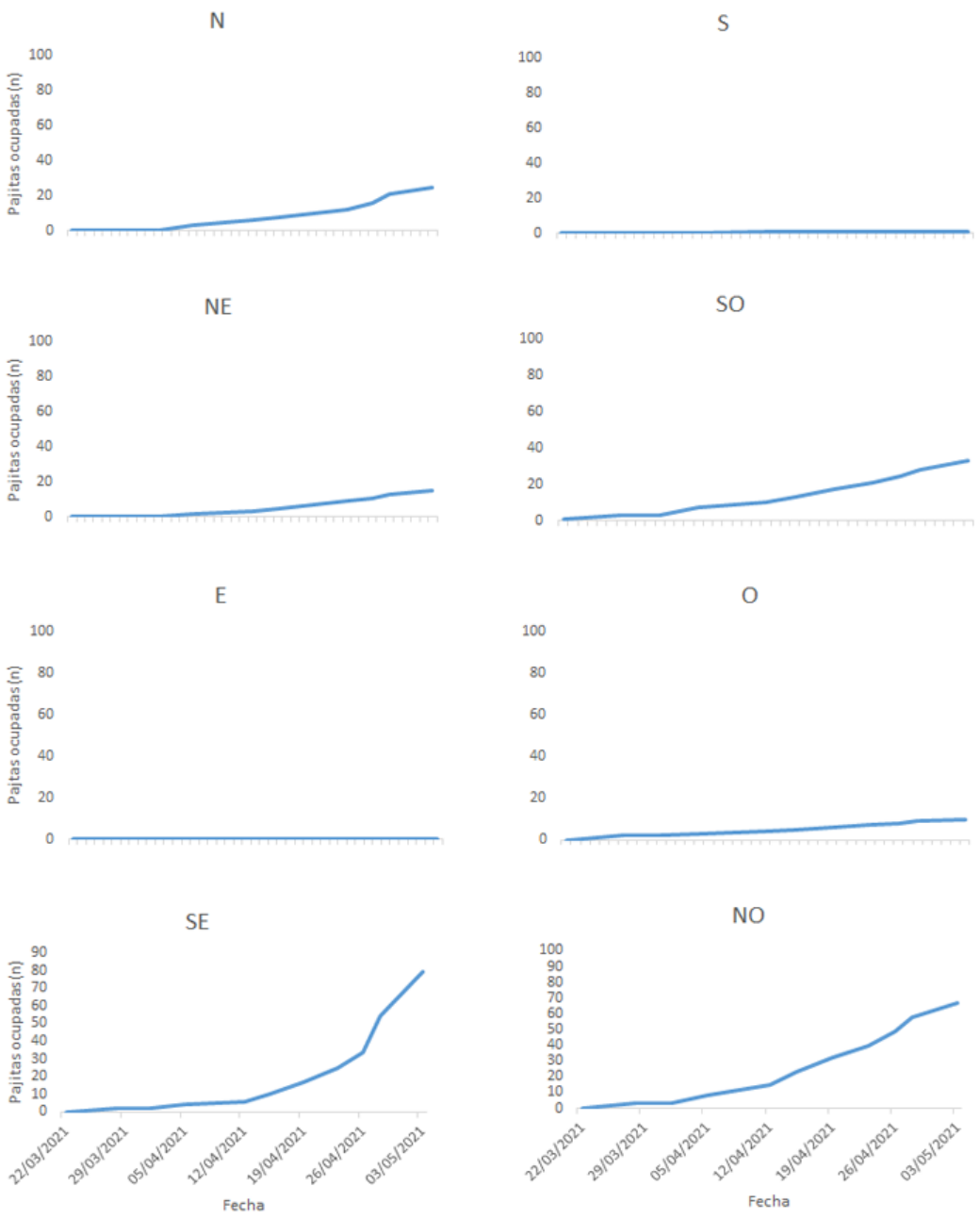


Fig. 16a Ocupación a lo largo del experimento de cada uno de los nidos de deriva en el campo T1.

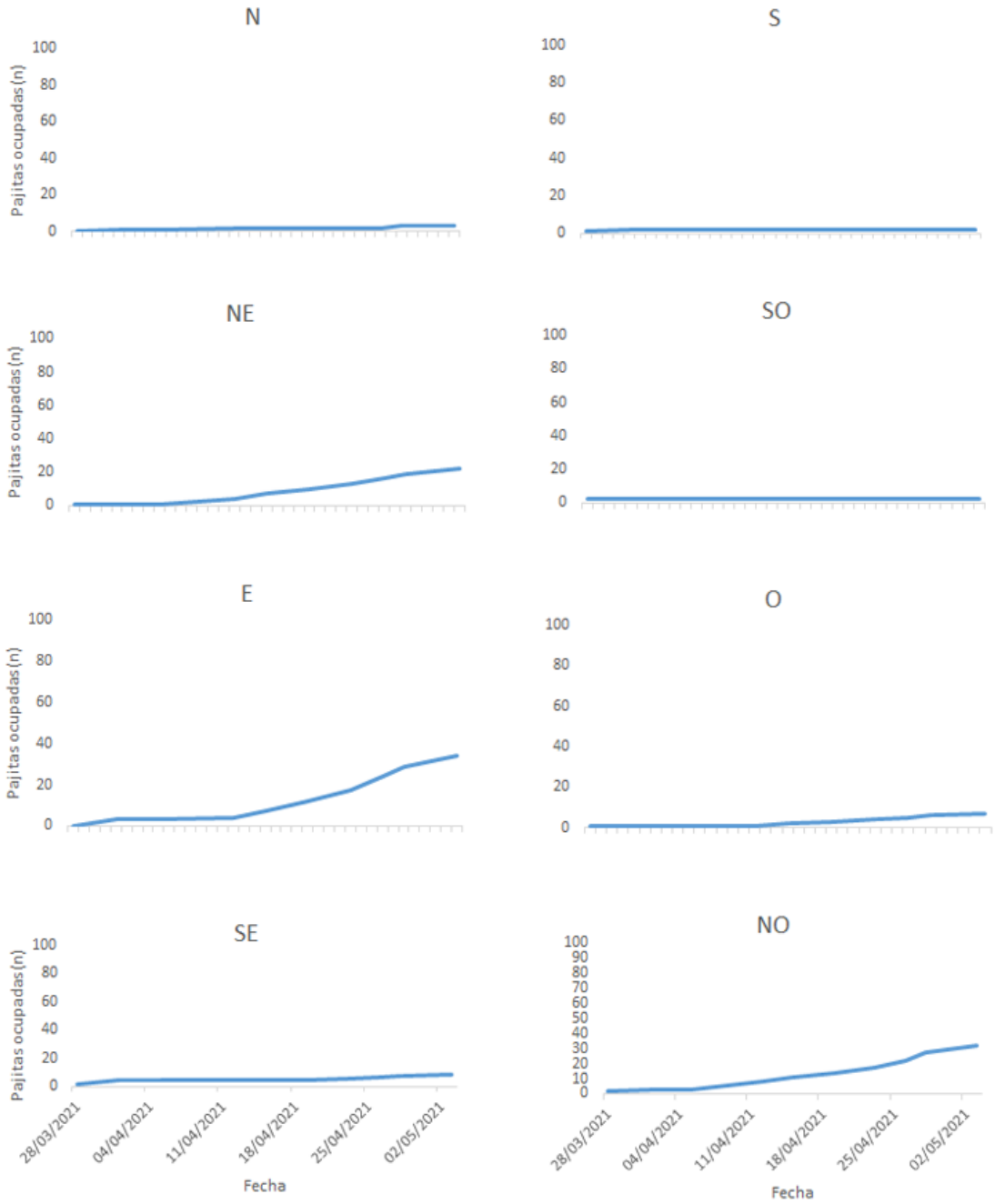


Fig. 16b Ocupación a lo largo del experimento de cada uno de los nidos de deriva en el campo T1.

El *fruit set* en los campos en los que se introdujeron las abejas varió significativamente a las distintas distancias (F=2,209, p<0.001, Fig. 19). Se observa una tendencia creciente hasta los 40 metros, un decrecimiento a partir de esta distancia, un aumento ligero hasta los árboles a 90 m y un bajón a los100 m. No hubo, sin embargo, efecto al cruzar las ramas y la distancia (F=0,88, p=0,628). El efecto de la distancia puede ser discutible entonces, comparándolo por ejemplo con lo que ocurre en otros estudios como el de Bosch et al. (2021), en los que el efecto va bajando con la distancia desde las zonas de liberación, al igual que el estudio realizado con *Bombus terrestris* por Marqués et al. (2019).

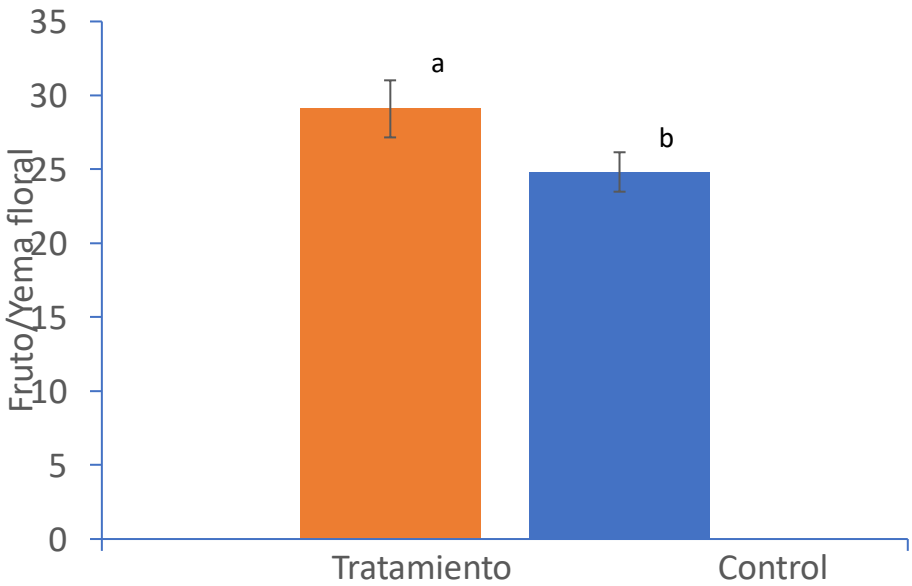


Fig. 17. Comparación de promedios de *fruit set* entre los campos con introducción de *O.rufa* (tratamiento) y los campos control.

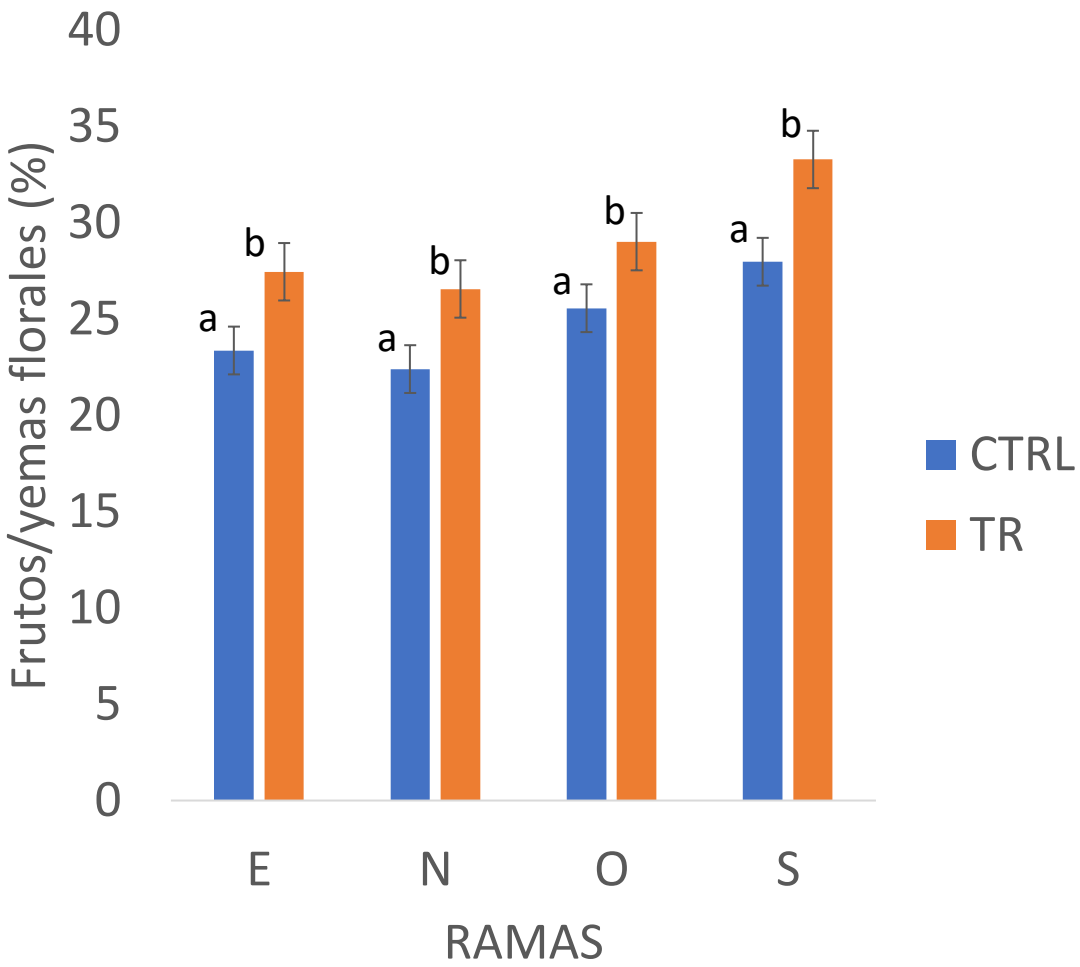


Fig. 18. Comparación de promedios de *fruit set* entre los campos con introducción de *O.rufa* (tratamiento) y los campos control y las orientaciones de las ramas de los almendros experimentales.

En estos campos también se ve un efecto significativamente mayor en los árboles situados hacia el NE desde la estación de emergencia (F= 413,169, p<0.001, Fig. 20), lo que se diferencia de estudios anteriores en los que se introdujeron *Bombus terrestris* (Marqués et al 2019).

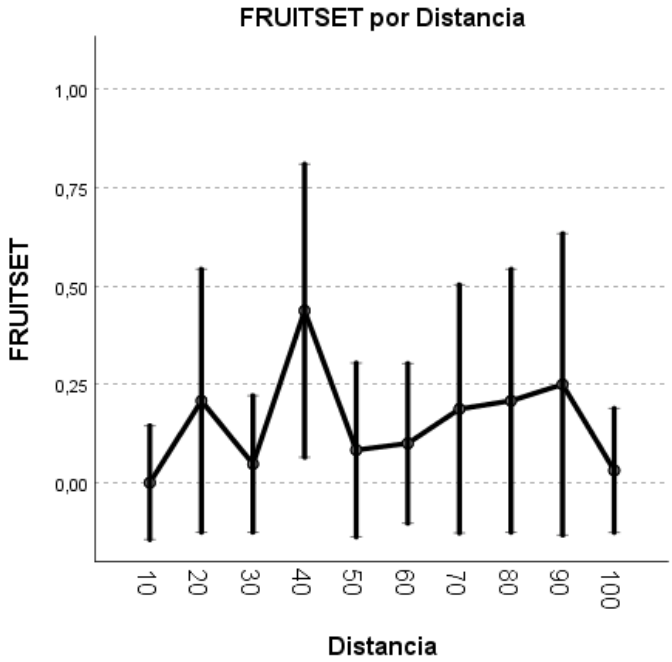


Fig.19 *Fruit set* (n.flores/n.yemas florales) en los almendros de los campos Tratamiento (con introducción de *O.rufa*) colocados a distancias crecientes desde la estación de emergencia. La unidad de la distancia son metros.

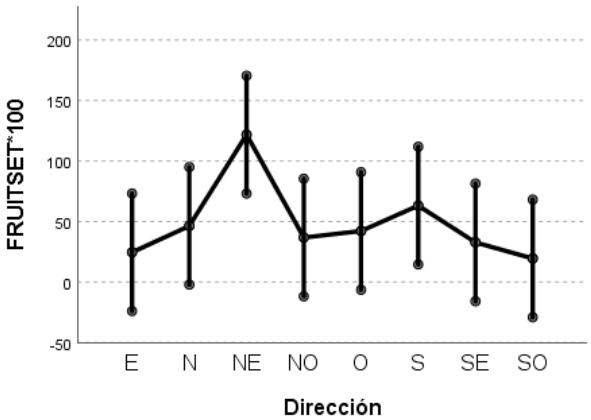


Fig.20 *Fruit set* (n.flores/n.yemas florales) en los almendros de los campos Tratamiento (con introducción de *O.rufa*) colocados hacia las diferentes direcciones cardinales desde la estación de emergencia.

3.4 Evaluación de la eficiencia polinizadora de las poblaciones de *Osmia rufa* introducidas sobre la producción.

Se hace un total de 36,65 horas de observaciones desde el 6 hasta el 17 de marzo en 7 árboles de cada campo. Se hacen muchas más horas de observación en T1 (25,5 h) que en T2 (11,15 h) por la adaptación de las horas de observación a la actividad observada de las abejas introducidas. Los árboles observados también se van eligiendo según la actividad de polinizadores, y especialmente de *O. rufa.*

Se observan únicamente cuatro eventos de polinización de cuatro machos de *O. rufa*, tres en dos árboles de T1 los días 10 y 13 de marzo y uno en T2 el día 6 de marzo. A 5 de abril no parecen haber cuajado lo cual se confirma en el momento de recoger las exclusiones.

Dada la poca información que se puede extraer respecto a la eficiencia polinizadora de las abejas, aprovechamos nuestras horas de observación para determinar la diversidad de polinizadores en los campos. Desde el inicio de las observaciones se observan una enorme cantidad de abejas de la miel (*Apis mellifera*) que aprovechan el pico de floración de los almendros.

Este resultado es similar al estudio de Bosch en Tarragona, realizado con *Osmia cornuta* (Bosch et al 2021). El 57% de árboles visitados tiene abejas nada más llegar, que oscilan desde 1 a 40 (Fig 21). Este es un cálculo sesgado y relativo ya que sólo se ve desde una parte del árbol (aproximadamente un tercio). Se puede determinar una actividad importante de las abejas a principios de marzo, que va declinando hacia mediados de mes. Estas fechas se acoplarían más a las fechas de floración de los almendros (Fig 22), lo que indica una mayor sincronía con los almendros en estos campos. En la actividad de polinización (observaciones en las ramas excluidas) se observa igualmente una actividad polinizadora predominante de abeja de la miel (Tabla 6), les seguirían las moscas,

seguidas por otros dípteros y las *O. rufa* macho. Hubo una cantidad importante de polinizadores no identificados. Se observó que la actividad fue mucho mayor al comienzo de las jornadas de observación (Fig.22), llegando a ser nulas en algunos de los árboles los

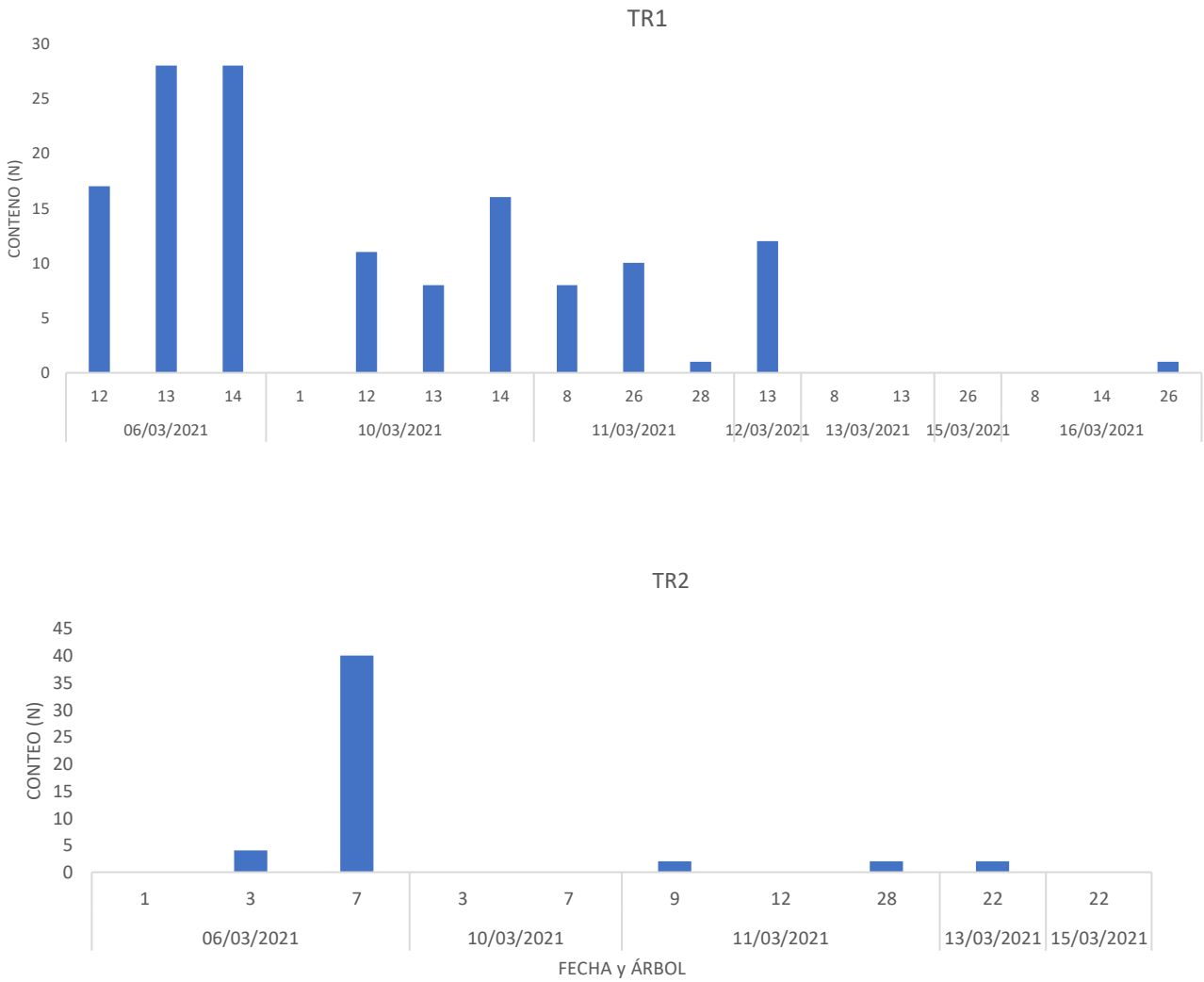


Fig. 21. Presencia inicial de abejas de la miel *Apis mellifera* en los almendros observados en los dos ca.

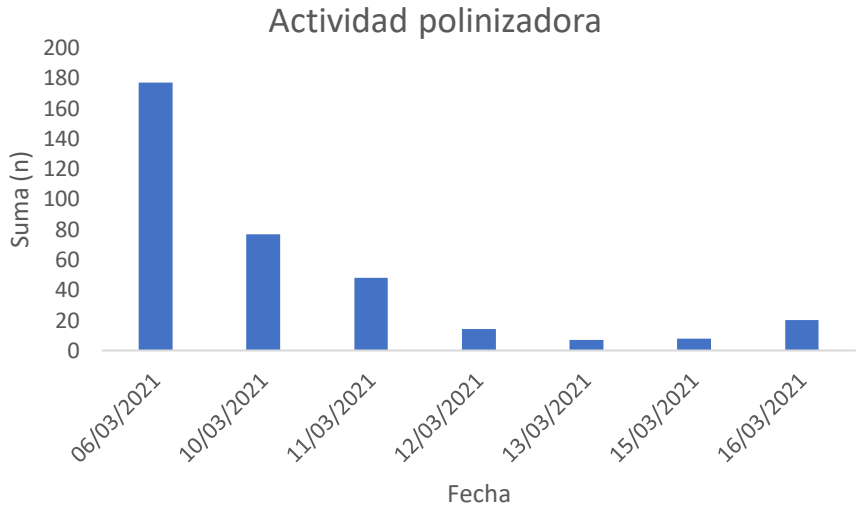
Tabla 6. Actividad polinizadora en las ramas excluidas.

CAMPO	*Apis mellifera*	Mosca	Díptero no mosca	*Osmia rufa* macho	No Identificada	*Anthophora* sp.	Sírfido	Avispa	*Bombus* sp.	*Eucera* sp.	*Tropinota* sp.
T1	97 (74,62%)	17 (13,08%)	5 (3,85%)	3 (2,31%)	3 (2,31%)	0 (0%)	2 (1,54%)	1 (0,77%)	1 (0,77%)	0 (0 %)	1 (0,77%)
T2	24 (68,57%)	5 (14,26%)	0 (0%)	1 (2,88%)	1 (2,86%)	3 (8,57%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,86%)	0 (0%)
Total general	121 (73,33%)	22 (13,33%)	5 (3,03%)	4 (2,42%)	4 (2,42%)	3 (1,82%)	2 (1,21%)	1 (0,61%)	1 (0,61%)	1 (0,61%)	1 (0,61%)

últimos días. Igualmente se observaron dos picos de actividad a lo largo del día, alrededor de las 13 horas y de las 15 horas.

La actividad general (observaciones en todo el árbol) también se vio dominada por las abejas de la miel (Tabla 7) seguidos por las moscas, los sírfidos y las abejas solitarias del género *Anthophora*. Los machos de *Osmia rufa* supusieron casi un 3% de las observaciones en T1 y casi un 1% en T2. Únicamente se observó una hembra de *O. rufa* en el campo T1 el día 16 de marzo, una vez más confirmando el desajuste de solapamiento con la floración de almendros.

En general se ve mucha más actividad de abejas de la miel que cualquier otro polinizador. En nuestro caso sólo podemos hablar de tasa de visita ya que no poseemos información sobre la eficiencia polinizadora de los otros grupos de insectos. Sin embargo, se ha demostrado que las abejas de la miel no son los insectos más eficientes como polinizadores (Vicens & Bosch 2000) y se ha demostrado que, incluso con presencia de abejas de la miel, la eficiencia polinizadora puede ser mayor por parte de las abejas solitarias (tipo *Osmia*; Eeraerts et al 2020). Incluso se ha demostrado que la interacción entre abejas de la miel y las abejas solitarias incrementan la eficiencia polinizadora de



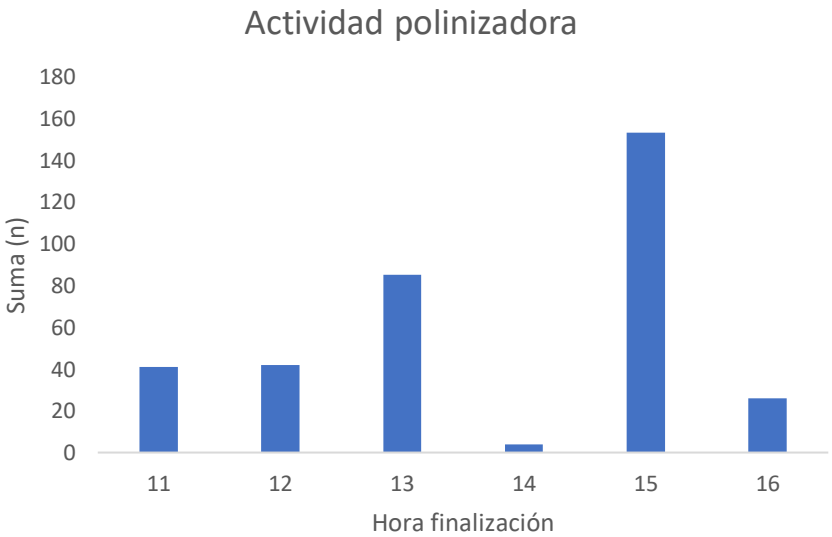


Fig. 22. Relación de la actividad polinizadora a lo largo del tiempo (superior) y con la hora del día (inferior).

Tabla 7. Actividad general en los árboles observados

CAMPO	*Apis mellifera*	Mosca	Sírfido	*Anthophora* sp.	Díptero no mosca	*Osmia rufa* macho	No identificada	*Eucera* sp
T1	330 (54,8%)	80 (12,8%)	52 (8,32%)	45 (7,2%)	40 (6,4%)	18 (2,88%)	14 (2,24%)	7 (1,12%)
T2	154 (74,40%)	19 (9,18%)	6 (2,90%)	5 (2,41%)	7 (3,38%)	2 (0,97%)	4 (1,93%)	4 (1,93%)
Total general	484 (58,17%)	99 (11,90%)	58 (6,97%)	50 (6,01%)	47 (5,65%)	20 (2,40%9	18 (2,16%)	11 (1,32%)

CAMPO	*Bombus* sp.	*Tropinota* sp.	Coleoptera	Mosquito	Avispa	*Macroglossum stellatarum*	Lepidoptera	*Osmia Rufa* hembra	*Xylocopa violacea*
T1	11 (1,76%)	8 (1,28%)	5 (0,8%)	0 (0%)	5 (0,8%)	4 (0,64%)	4 (0,64%)	1 (0,16%)	1 (0,16%)
T2	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,48%)	5 (2,41%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%9
Total general	11 (1,32%)	8 (0,96%)	6 (0,72%)	5 (0,6%)	5 (0,6%)	4 (0,48%)	4 (0,48%)	1 (0.12%)	1 (0,12%)

las abejas de la miel por interacciones interespecíficas (Greenleaf & Kremen, 2006, Pitts-Singer et al 2018).

Estos resultados, en general, nos dan una visión del efecto positivo de la *O. rufa* sobre la producción de almendros, incluso con las circunstancias sufridas en los envíos de las abejas y la sincronía parcial de la floración de almendros con la emergencia de las abejas experimentales. Se ha demostrado un efecto positivo en el *fruit set*, que puede suponerse directo o indirecto a través de las interacciones con las abejas de la miel, muy abundantes en esta zona. Al igual que *Osmia cornuta*, *O. rufa* es un polinizador prometedor de frutales ya que se ha demostrado su eficiencia en otros estudios (Jauker et al 2012, Koh et al 2018, Bosch et al 2021). Para un estudio más completo se recomendaría mantener la población de *Osmia sp*. durante más años, como se ha hecho en otros estudios (Benedek 2008, Koh et al 2018), lo cual sería muy prometedor sabiendo que *O. rufa* dobla su población cada año (Krunic & Stanisavljevic, 2006).

4. Conclusiones

Teniendo en cuenta los objetivos específicos del estudio, se concluye lo siguiente:

1. **Liberación de puestas de ejemplares de *Osmia* en estaciones de nidificación.**

   - Se realiza una liberación exitosa de *O.rufa* de dos poblaciones en dos campos experimentales. Por la crisis de la Covid-19, las abejas liberadas pertenecen a dos grupos con dos rupturas de hibernación distintas. Se aprovecha para extraer información respecto a los impactos de estas rupturas de hibernación en el desarrollo de las abejas. Las temperaturas altas durante la hibernación tienen un efecto más dañino sobre ellas al llevar a una emergencia más tardía, más extendida en el tiempo y una mayor mortalidad.

   - Se encuentran parasitoides en los capullos comerciales (*Torymus sinensis*) probablemente transportados desde el punto de origen. Este transporte puede suponer por lo tanto un vector de entrada peligroso de parasitoides.

2. **Evaluación del establecimiento de las poblaciones introducidas.**

   - Se confirma la idoneidad del formato de los hoteles nido utilizados en el experimento. Después de la época de cópula, los nidos centrales tienen una ocupación del 50% cuando la mayoría de las hembras (el 86%) ha emergido.

   - Al igual que otras especies de *Osmia*, la *O. rufa* comienza su expansión desde el primer año, lo que se ha demostrado con hoteles nido colocados a 80 m de la estación central. Se observan las primeras detecciones en los nidos de deriva entre una semana y cuatro días desde la primera observación en el nido central.

- Se da una mayor ocupación en los nidos de deriva situados hacia el SE y el NO.
- La actividad de las hembras es bastante alta en comparación con otros estudios, realizando viajes de aprovisionamiento de un promedio de 2:56 minutos.

3. **Cuantificación del aumento de éxito reproductivo del almendro.**

- La *Osmia rufa*, incluso con las desavenencias encontradas durante este proyecto (retraso en la llegada desde la casa comercial y desincronización parcial con la floración de los almendros) ha demostrado un efecto positivo sobre el *fruit set* de los almendros.
- No se ha visto diferencia entre las réplicas espaciales, lo que refuerza este resultado.
- Se observe un fruit set superior en las ramas situadas hacia el sur.
- El efecto positivo sobre la producción de almendra es mayor en los árboles situados a 40 m del nido central y en los árboles situados hacia el NE.

4. **Evaluación de la eficiencia polinizadora de las poblaciones de *Osmia rufa* introducidas**

- Se observan únicamente cuatro eventos de polinización de cuatro machos de *O. rufa*.
- Durante las observaciones de la actividad polinizadora, se observó una dominancia de actividad de abeja de la miel *Apis mellifera* seguida de dípteros y *O. rufa*.
- La actividad polinizadora fue máxima a principio de marzo.

Como **conclusión general**, la *Osmia rufa* presenta un efecto positivo sobre la producción de almendros, incluso con el limitado solapamiento con la floración de los almendros.

Se **recomendaría** lo siguiente:

- Se necesitaría una combinación de poblaciones mantenidas en el campo varios años más la adición de poblaciones comerciales criadas a temperaturas frías y liberadas en sincronía con los almendros.
- Otra estrategia para evaluar sería la combinación de *O. rufa* con otros polinizadores alternativos como el *Bombus terrestris*.
- En caso de seguir adquiriendo abejas comerciales, es de vital importancia el controlar estas poblaciones para evitar la introducción de parásitos desde los países de origen. Se recomienda utilizar poblaciones criadas *in situ* preferiblemente.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer al propietario y encargados de la finca de Son Marrano por su constante ayuda y todas las facilidades brindadas para la realización de este estudio. A la Conselleria de Medi Ambient, Agricultura i Pesca y al Fondo de Garantía Agraria y Pesquera de las Islas Baleares (FOGAIBA) por el apoyo. Un agradecimiento especial va para los estudiantes colaboradores del Laboratorio de Zoología por su colaboración en las tareas de campo: Maribel Queter, Toni Capó y Marc Flexas. A los técnicos de laboratorio por las tareas de apoyo.

Justificación del personal del proyecto

La doctora Lucía Latorre ha estado contratada con los fondos del proyecto para llevarlo a cabo interviniendo en el diseño, coordinación e implementación del proyecto; supervisión de alumnos y alumnas colaboradoras, redacción de informe final.

Cayetano Herrera y Clàudia Comparini han formado parte del personal colaborador realizando tareas de campo y de laboratorio, identificación de polinizadores y apoyo en la redacción del informe final.

Las doctoras Anna Traveset y Mar Leza han formado parte del personal investigador del proyecto participando en la dirección y coordinación, concepción y diseño experimental y apoyo en la redacción del informe final.

Análisis de sostenibilidad económica y medioambiental

Este proyecto nace de la necesidad de resolver un problema actual relacionado con el cultivo del almendro y su producción en las Islas Baleares. El anàlisis de sostenibilidad, que ha evaluado tanto el beneficio como los costes/riesgos, ha permitido concluir que a nivel económico, incluyendo la inversión en material, el estudio ha permitido obtener beneficiós económicos tanto a corto como a largo plazo, ya que se ha pretendido augmentar la producción del cultivo de almendro una vez introducidos los polinizadores, a la vez que se ha conseguido crear una base que puede ser usada en un futuro. Por otro lado, a nivel mediambiental, el impacto del presente proyecto es positivo, ya que supone un aumento de las poblaciones de polinizadores silvestres. Todos los materiales empleades para llevarlo a cabo seran reciclados y/o reutilizados, minimizando el impacto sobre el medio ambiente.

Bibliografia

Artz, DR., Allan, MJ., Wardell, GI. i Pitts-Singer, T. (2014). Influence of nest box color and release sites on Osmia lignaria (Hymenoptera: Megachilidae) reproductive success in a commercial almond orchard. *Journal of Economic Entomology*, 107(6), 45–54

Baldock, K. C. R. (2020). Opportunities and threats for pollinator conservation in global towns and cities. Current Opinion in Insect Science, 38, 63–71.

Banaszak, J. & L. Romasenko, 1998. Megachilid Bees of Europe. Pedagogical University of Bydgoszcz, Poland, 239 pp.

Beltrán, R., Traveset, A. (2018). Redes de interacción entre flores e himenópteros en dos comunidades costeras. Efectos de la pérdida de hábitat. *Ecosistemas*, 27(2), 102–114.

Benedek, P., 2008, Preliminary studies on propagating natural mason bee (mixed *Osmia cornuta* and *O. rufa*) populations in artificial media at the sites for fruit orchard pollination. *International Journal of Horticultural Science* 14 (1-2): 95-101.

Bosch, J. (1994a) Improvement of field management of *Osmia cornuta* (Latreille) (Hymenoptera, Megachilidae). *Apidologie* 25, 71–83.

Bosch, J. i Blas, M. (1994). Foraging behaviour and pollinating efficiency of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* on almond (Hymenoptera, Megachilidae and Apidae). *Applied Entomology and Zoology*, 1, 1–9.

Bosch, J. (1994b). The nesting behaviour of the mason bee *Osmia cornuta* (Latr) with special reference to its pollinating potential (Hymenoptera, Megachilidae). *Apidologie*, *25*(1), 84–93.

Bosch J, Kemp WP, Peterson SS. (2000) Management of *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae) populations for almond pollination: methods to advance bee emergence. Environ. Entomol. 29, 874 – 883

Bosch, J., i Kemp, W. P. (2001). *How to manage the blue orchard bee as an orchard pollinator*. Sustainable Agriculture Network/National Agricultural Library.

Bosch J, Kemp WP (2004) Effect of pre-wintering and wintering temperature regimes on weight loss, survival, and emergence time in the mason bee *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Mega- chilidae). Apidologie 35:469–479

Bosch, J., Kemp, W.P. & Trostle, G.E. (2006) Bee population returns and cherry yields in an orchard pollinated with *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). Journal of Economic Entomology, 99, 408–413.

Bosch, Jordi, Osorio-Canadas, S., Sgolastra, F., & Vicens, N. (2021). Use of a managed solitary bee to pollinate almonds: Population sustainability and increased fruit set. *Insects*, *12*(1), 1–11.

CAIB 1998. Catàleg de biodiversitat del parc natural de s'Albufera de Mallorca. Inventaris tècnics de Biodiversitat – 3. Conselleria de Medi Ambient. Direcció General de Biodiversitat.

Dymond K., J. L. Celis-Diez, S.G. Potts, B.G. Howlett, B.K. Willcox, M.P.D. Garratt. (2021) The role of insect pollinatros in avocado production: A global review. Journal of Applied Entomology. 145 (5) (2021), pp. 369-383.

Eeraerts M, Vanderhaegen R, Smagghe G, Meeus I. 2019 Pollination efficiency and foraging behaviour of honey bees and non-Apis bees to sweet cherry. Agric. For. Entomol. 22, 75–82

Ferracini C, Ferrari E, Saladini MA, Pontini M, Corradetti M, Alma A, 2015b. Non-target host risk assesment for the parasitoid Torymus sinensis. BioControl 60: 593-594.

Ghazoul, J. (2004) Alien abduction: disruption of native plantpollinator interactions by invasive species. Biotropica 36, 156– 164.

Gibbs M., K. Schönrogge, A. Alma, G. Melika, A. Quacchia, G.N. Stone, A. Aebi. (2011). *Torymus sinensis*: a viable management option for the biological control of *Dryocosmus kuriphilus* in Europe?- BioControl, 56 (4): 527-538.

Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C. i Rotheray, E. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347(6229).

Greenleaf, S. S., i C. Kremen. (2006). Wild bees enhance honey bees' pollination of hybrid sunflower. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 103: 90–95.

Gruber, B., K. Echel, J. Everaars, and C. F. Dormann. 2011. On managing the red mason bee (*Osmia bicornis*) in apple orchards. Apidologie 42:564–676.

Güler, Yasemin. (2020) 'The status of the red mason bee in the orchards of Ankara and Çankiri Provinces, Turkey' Turkish Journal of Entomology, 44 (2): 249-258.

Herbari Virtual del Mediterrai Occidental. Acceso online: http://herbarivirtual.uib.es/

Holm, S.N. (1973) *Osmia rufa* (Hymenoptera:Megachilidae) as a pollinator ofplants in greenhouses. Entomol. Scand. 4(3), 217–224

Jauker, F., F. Peter, V. Wolters, T. Diekötter, (2012). Early reproductive benefits of massflowering crops to the solitary bee *Osmia rufa* outbalance post-flowering disadvantages. *Basic Appl. Ecol*. 13, 268–276

Juan, A., Leza, M., Marqués, A. (2016). Efectes de la pol·linització assistida. Experiència amb *Bombus terrestris*. Jornada Técnica de referència III Jornada de l'ametller, Manacor.

Jordan, A., Patch, H. M., Grozinger, C. M., & Khanna, V. (2021). Economic dependence and vulnerability of United States agricultural sector on insect-mediated pollination service. Environmental Science & Technology, 55(4), 2243-2253.

Kodad, O., & Socias i Company, R. (2009). Effect of pollination time on fruit set in an authogamous almond cultivar. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 84(3), 350-354

Koh, I., Lonsdorf, EV., Artz, D., Pitts-Singer, TL. i Ricketts, T. (2018). Ecology and economics of using native managed bees for almond pollination. *Journal of Economic Entomology*, 111(1), 16–25.

Krunic M., L. Z. Stanizavljevic (2006)- The biology of European orchard bee *Osmia cornuta* (Latr.) (Hymenoptera: Megachilidae).- Faculty of Biology University of Belgrade, Belgrade, Serbia

MacIvor, J. (2017). Cavity-nest boxes for solitary bees: a century of design and research. *Apidologie*, 48(3), 311–327.

Marqués A., Leza, M. (2018). Improvement of almond production using *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Mediterranean conditions. University of Balearic Islands.

Marqués, A., Herrera, C., Juan, A., Ruíz, M., Traveset, A., Leza, M. (2018). Improvement of the almond production using bumblebees. Eurbee8, Gent, Belgium.

Marqués A., Traveset, A., Leza, M. (2019) Millora del cultiu de l'ametller a les Illes Balears: estudi de la biodiversitat dels pol·linitzadors silvestres i efecte de la introducció de pol·linitzadors comercials. Informe FOGAIBA.

Marqués, A., Juan, A., Ruíz, M., Traveset, A., Leza, M. (2018). ¿Se puede mejorar la producción del almendro introduciendo insectos polinizadores? El caso de *Bombus terrestris*. I Jornada de Entomologia, Sòller.

Monzón, VH., Bosch, J. i Retana, J. (2004). Foraging behavior and pollinating effectiveness of *Osmia cornuta* (Hymenoptera:Megachilidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) on "Comice" pear. *Apidologie*, 35, 575–585.

Norfolk, O., Eichhorn, MP. i Gilbert, F. (2016). Flowering ground vegetation benefits wild pollinators and fruit set of almond within arid smallholder orchards. *Insect Conservation and Diversity*, 9(3), 236–243.

Ornosa, C., F. Torres, F.J. Ortiz-Sánchez (2006). Catálogo de los Megachilidae del Mediterráneo occidental (Hymenoptera, Apoidea) I. Osmiini. *Graellsia*, 62(2): 223-260.

Pitts-Singer, TL., Artz, DR., Peterson, SS., Boyle, K. i Wardell, G. (2018). Examination of a Managed Pollinator Strategy for Almond Production Using *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *Environmental Entomology*, 1–14.

Potts, SG., Biesmeijer, JC., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O. i Kunin, W. (2010). Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(6), 345–353.

Powney, G. D., Carvell, C., Edwards, M., Morris, R. K., Roy, H. E., Woodcock, B. A., i Isaac, N. J. (2019). Widespread losses of pollinating insects in Britain. *Nature communications*, 10(1), 1-6.

Radmacher S, Strohm E (2011) Effects of constant and fluctuating temperatures on the development of the solitary bee *Osmia bicornis* (Hymenoptera: Megachilidae). Apidologie 42:711–720.

Rallo, J. (1987). *Frutales y abejas (Publicació*). Madrid, Spain

Rodrigo, J. i Herrero, M. (2002). Effects of pre-blossom temperatures on flower development and fruit set in apricot. *Scientia Horticulturae*, 92, 125–135

Rubí, V. (1980). El Almendro. Ed. Delegacion del Ministerio de Agricultura en Baleares. Dilagro, Lérida, España. 13-18 pp.

Ryder J. T., A. Cherrill, R. Prew, J. Shaw, P. Thorbek & K.F.A. Walters (2019), Impact of enhanced *Osmia bicornis* (Hymenoptera: Megachilidae) populations on pollination and fruit quality in comercial sweet cherry (Prunus avium L.) orchards. *Journal of Apicultural Research*, 59 (1): 77-87.

Schenk M., O. Mitesser, T. Hovestadt, A. Holzschuh (2018) 'Overwintering temperatura and body condition shift emergence dates of spring-emerging solitary bees' *Peer J,* 6: e4721.

Sgolastra F, Bosch J, Molowny-Horas R, Maini S, Kemp WP (2010) Effect of temperature regime on diapause intensity in an adult-wintering Hymenopteran with obligate diapause. J Insect Physiol 56(2):185–194

Sritongchuay T, W. Kanuengnit, M. Orr and A. Hughes (2020) Insufficient native pollinators during artificially induced early flowering decrease yield and long-term economic viability of a tropical fruit crop. Journal of Applied Ecology, 58:80-91.

Stokstad, E. (2007). The case of the empty hives. *Science*, 316(5827), 970-972.

Swaminathan, S. (2019). Impact of Climate Change on Insect Pollination. *Management Research*, 1(01), 1-12.

Torchio, P. F., Asensio, E. i Thorp, R. W. (1987). Introduction of the European bee, *Osmia cornuta*, into California almond orchards (Hymenoptera: Megachilidae). *Environmental Entomology*, 16(3), 664-667.

Traveset, A., Castro-Urgal, R., Rotllàn-Puig, X., Lázaro, A. (2017). Effects of habitat loss on the plant–flower visitor network structure of a dune community. *Oikos*, 127(1), 45–55.

vanEngelsdorp, D. et al. Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS One* **4**, e6481 (2009)

vanEngelsdorp, D., Meixner, M.D. (2010) A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. J. Invertebr. Pathol. 103, S80– S95

Vicens, N. & Bosch, J. (2000). Pollination efficacy of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae, Apidae) on 'Red Delicious' Apple. Environmental Entomology 29, 235–40.

ANEXO 1 Resumen de diseño de modelos para los distintos análisis realizados en el trabajo.

	Análisis	Tipo de análisis	Variable respuesta	Distribución	Función link	Variables definitorias fijas	Variables definitorias aleatorias	Estructura de covarianza
2.5.1 Liberación de puestas de Osmia	Emergencia diaria	GLMM	N. osmias emergidas por día (n)	Poisson	logarítmica	1. Tiempo (días desde inicio) 2. Sexo (machos y hembras) 3. Grupo (1 o 2)	Campo	Diagonal
	Emergencia acumulada	GLMM	N. osmias emergidas acumuladas a lo largo del tiempo	Poisson	Identidad	1. Tiempo. Lineal y cuadrático. 2. Sexo 3. Grupo	Campo	Identidad
	Mortalidad	GLMM	N. osmias muertas a lo largo del experimento	Gamma	Identidad	1. Tiempo. 2. Sexo 3. Grupo	Campo x grupo	Componentes
		Test de Fisher	N. osmias muertas a lo largo del experimento			1. Sexo 2. Grupo (análisis separados)		
	Mortalidad acumulada	GLMM	N. osmias muertas a lo largo del experimento + muertas en capullo	Gamma	Logaritmica	1. Grupo. 2. Edad (adulto o larva) 3. Emergido	Campo	Identidad
2.5.2 Establecimiento poblaciones	Nidos centrales	GLMM	Serie temporal de ocupación de los nidos centrales	Poisson	Identidad	1. Tiempo (días desde inicio) 2. Orientación	Campo	Componentes
	Nidos de deriva	GLMM	Serie temporal de ocupación de los nidos de deriva	Poisson	Logaritmica	1. Tiempo (días desde la primera ocupación 2. Orientación	Campo x orientación x tiempo	Identidad

2.5.3 Éxito reproductivo	Fruit set	GLMM	Frutos/yemas florales x 100	Poisson	Identity	1. Tratamiento 2. Rama	Tratamiento x campo	CSH
	Distancia	GLMM	Frutos/yemas florales x 100 (sólo en campos tratamiento)	Poisson	Power	1. Distancia (m desde estación central) 2. Rama (orientación)	Campo	Simetría compuesta
	Orientación	GLMM	Frutos/yemas florales x 100 (sólo en campos tratamiento)	Poisson	Identity	1. Distancia (m desde estación central) 2. Rama (orientación)	Campo	CSH