



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Carrera de Ciencias Biológicas

**Evaluación del efecto de polinizadores y de la configuración del agroecosistema sobre el rendimiento y la composición del aceite de semillas de soja (*Glycine max*)**

Tesinista: Nahuel Ezequiel Palombo

Firma: .....

Director: Dr. Leonardo Galetto

Firma: .....

Co-director: Dr. Damián Maestri

Firma: .....

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal

Año 2017

**Título de la Tesina:**

“Evaluación del efecto de polinizadores y de la configuración del agroecosistema sobre el rendimiento y la composición del aceite de semillas de soja (*Glycine max*)”

**Tribunal Examinador:**

- Dra. Raquel Gleiser                      Firma: .....
  
- Dr. José Meriles                          Firma: .....
  
- Dra. Silvia Molina                        Firma: .....
  
  
- Calificación: .....
  
  
- Fecha: .....

*A mi madre.*

## ÍNDICE

RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN.....	6
HIPÓTESIS Y PREDICCIONES.....	11
OBJETIVOS.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Área de estudio.....	13
Diseño experimental.....	13
Variables respuesta.....	15
Análisis estadísticos.....	17
RESULTADOS.....	19
Contenido de aceite.....	19
Efecto del tratamiento de polinización.....	19
Efecto de la cantidad de polen.....	21
Efectos de la distancia y la cantidad de hábitat.....	21
Composición de ácidos grasos.....	22
Efecto del tratamiento de polinización.....	23
Efecto de la cantidad de polen sobre el O/Ln.....	25
Efectos de la distancia y la cantidad de hábitat sobre el O/Ln.....	25
DISCUSIÓN.....	27
¿Cómo influye la polinización por insectos sobre el rendimiento y composición del aceite de soja?.....	27
¿Se encuentra relacionado el rendimiento y la composición del aceite de soja con la cantidad de hábitat disponible y/o con la distancia al borde del bosque?.....	29
Polinizadores, deposición de polen y composición del aceite: posibles factores involucrados.....	31
Conservación del bosque y producción agrícola: el valor del bosque nativo en la producción de aceite de soja.....	34
CONCLUSIONES.....	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
AGRADECIMIENTOS.....	46

## RESUMEN

La soja (*Glycine max*) es la legumbre más cultivada en el mundo; su calidad y valor de mercado dependen en gran medida del contenido y la composición del aceite de sus semillas. La expansión de este cultivo en Argentina, principalmente en el Bosque Chaqueño, ha implicado un proceso de pérdida y fragmentación de hábitats, modificando la configuración del paisaje y afectando negativamente la provisión de servicios ecosistémicos, como el de polinización. Se conoce que la disminución del servicio de polinización en cultivos de soja implica una baja en la producción de frutos y semillas; sin embargo, la relación entre la fragmentación de hábitats, el papel de los polinizadores y su contribución al rendimiento de aceite en soja aún no ha sido estudiada. Este trabajo se propone evaluar los posibles efectos de la polinización por insectos y la configuración del agroecosistema sobre el contenido de aceite y su composición de ácidos grasos en cultivos de soja. El área de estudio comprende dos agroecosistemas con fragmentos de bosque inmersos en una matriz de cultivo en el centro de la provincia de Córdoba. Se analizó el contenido total de aceite y su composición de ácidos grasos plantas expuestas y aisladas de polinizadores, teniendo en cuenta la deposición de polen en los estigmas de las flores, la distancia al borde del bosque y la cantidad de hábitat alrededor de cada sitio de muestreo. Los datos obtenidos indican que la polinización por insectos aumenta (9%) el contenido de aceite por planta. Los efectos de la distancia de las plantas al borde del bosque y de la deposición de polen no resultaron significativos. Por otra parte, ninguna de las variables mencionadas afectó significativamente la composición de ácidos grasos de los aceites. Por último, los efectos de la cantidad de hábitat disponible sobre los indicadores analizados fueron opuestos. En su conjunto, los resultados del estudio refuerzan el concepto del bosque como proveedor de un buen servicio de polinización en cultivos de soja, demostrando por primera vez que la polinización por insectos se traduce en un mayor rendimiento de aceite. A los fines de validar estos resultados se sugiere la realización de estudios a mayor escala espacial y la utilización de diferentes genotipos de soja.

**Palabras clave:** polinización, cultivos, soja, fragmentación de hábitat, cantidad de hábitat, rendimiento de aceite, ácidos grasos.

## ABSTRACT

Soybean (*Glycine max*) is the most cultivated legume in the world; their quality and market value depend to a large extent on the content and composition of their oil seed. The expansion of this crop in Argentina, mainly in the Chaco Forest, has involved a process of habitat loss and fragmentation that modified the landscape configuration and negatively affected the provision of ecosystem services, such as pollination. It is known that the decrease of the pollination service in soybean crops involves a decline in the production of fruits and seeds. However, the relationship between habitat fragmentation, the role of pollinators and their contribution to soybean oil yield has not been studied. This work aims to evaluate the possible effects of insect pollination and the agroecosystem configuration on the oil content and their fatty acid composition in soybean crops. The study area includes two agroecosystems with forest fragments immersed in a crop matrix in the center of Córdoba Province. The total oil content and the fatty acid composition were analyzed in plants exposed and isolated from pollinators, taking into account the pollen deposition on flower stigmas, the distance to the forest edge and the habitat amount around each sampling site. The data obtained indicate that insect pollination increases (9%) the oil content per plant. The effects of plants distance at the forest edge and pollen deposition were not significant. On the other hand, none of the this variables significantly affected the oils fatty acid composition. Finally, the effects of the available habitat amount on the analyzed indicators were opposite. As a whole, the results of the study reinforce the concept of the forest as a good pollination service provider in soybean crops, demonstrating for the first time that insect pollination results in a higher oil yield. In order to validate these results it is suggested to carry out studies on a larger spatial scale and the use of different soybean genotypes.

**Key words:** pollination, crops, soybean, habitat fragmentation, habitat amount, oil yield, fatty acids.

## INTRODUCCIÓN

La soja (*Glycine max* (L.) Merrill) es una especie nativa de Asia Oriental y uno de los cultivos más expandidos en el mundo. Siendo la legumbre de mayor importancia económica, contribuye en un 25% a la producción global de aceite comestible y alrededor de dos tercios del aporte de proteínas para la alimentación del ganado (Agrawal et al., 2013). Actualmente, Estados Unidos, Brasil y Argentina son los mayores productores mundiales (FAOSTAT, 2017).

El crecimiento de la demanda de soja a nivel global ha contribuido a la constante expansión de la superficie destinada a su cultivo a expensas de enormes áreas de vegetación nativa, y está alentando a una mayor deforestación en lugar de incrementos en la productividad (Pengue, 2005; Milfont et al., 2013). La expansión de su cultivo en Argentina ha implicado, entre otros procesos, un acelerado desmonte y reemplazo de los ecosistemas naturales y seminaturales por áreas sembradas, teniendo como consecuencia una pérdida directa de la biodiversidad nativa (Grau et al., 2005; Pengue, 2005; Aizen et al., 2009). De esta forma, el avance de la agricultura ha sido la principal causa de la reducción del Bosque Chaqueño (Cáceres, 2015), en donde ha desaparecido una gran parte de lo que restaba en sólo 30 años (Zak et al., 2004; Hoyos et al., 2013; Torrella et al., 2013; Piquer-Rodríguez et al., 2015). Como resultado, los ecosistemas naturales han sido transformados en ecosistemas agrícolas o agroecosistemas, en donde el bosque remanente se encuentra en forma de fragmentos inmersos en una matriz de cultivo.

La polinización por insectos ha sido identificada como un importante servicio ecosistémico, el cual está actualmente amenazado (Kremen et al., 2007; Potts et al., 2010). Este servicio es fundamental para la agricultura, ya que el 70% de los cultivos alimenticios depende de polinizadores en alguna medida, representando el 35% de la producción agrícola mundial (Klein et al., 2007; IPBES, 2016). En este sentido, el bosque y otras áreas naturales cercanas a sistemas agrícolas mantienen una variedad de polinizadores silvestres (Aguilar et al., 2006; Galetto et al., 2007; Decocq et al., 2016); en los últimos años, el intercambio de insectos entre los cultivos y los ambientes naturales ha recibido mucha atención en hábitats fragmentados, donde el aumento de la extensión y conectividad de los bordes facilita la dispersión de los organismos a través de hábitats (Garibaldi et al., 2011; Blitzer et al., 2012; González et al., 2016). Además, existen estudios que muestran correlaciones positivas entre el tamaño de los fragmentos de bosque y la biodiversidad (Bommarco et al., 2010; Potts et al., 2010; Ferreira et al., 2013) e incluso otros que reportan mayores tasas de polinización y

producción de cultivos en lugares adyacentes a fragmentos de bosques en comparación con los que se encuentran más alejados (p.e., Ricketts et al., 2004; Holzschuh et al., 2012; Blanche et al., 2006). Por lo tanto, las evidencias demuestran que la pérdida y fragmentación de hábitat debido a la agricultura intensiva también afecta negativamente al servicio de polinización en muchas plantas cultivadas y, en consecuencia, a la producción mundial de alimentos (Dicks et al., 2016).

La fragmentación es un proceso complejo que ha sido analizado de distintas maneras y a diferentes escalas espaciales, teniendo como indicadores la pérdida de hábitat, el tamaño del fragmento, el aislamiento entre fragmentos, entre otros (Fahrig, 2003). En general, el efecto de la fragmentación sobre el servicio de polinización se ha evaluado utilizando estos indicadores por separado (p.e., aislamiento en Ricketts et al. 2008, y tamaño del fragmento en Bommarco et al. 2010). Por ello, en su “hipótesis de cantidad de hábitat”, Fahrig (2013) sugiere combinar el tamaño y el aislamiento de los fragmentos en un solo indicador de la fragmentación: la cantidad de hábitat. De esta forma, a través de un análisis multi-escala y según el grupo de organismos de interés, pueden generarse sitios de muestreo de igual tamaño pero con una cantidad de hábitat variable (p.e., proporción de bosque) en lugar de comparar parches de hábitat de distintas características. Para ello, se asume que la relación entre una respuesta biológica y las variables ambientales implicadas depende de la escala espacial a la que se miden dichas variables (Miguet et al., 2016). Recientemente, Connelly et al. (2015) realizaron este tipo de análisis para polinización en cultivos, encontrando una disminución en la riqueza y abundancia de polinizadores nativos en paisajes con una mayor área sembrada (i.e., menor cantidad de hábitat). También Bartomeus et al. (2014) encontraron tendencias similares aunque sólo para la riqueza de abejas.

En cuanto a la soja, si bien la especie presenta mayormente un sistema de polinización autógamo, también existe la fecundación cruzada o xenogamia en la que participan activamente los insectos y donde se destaca la abeja melífera (*Apis mellifera*) (Mc Gregor, 1976). Klein et al. (2007) señalan a la soja como un cultivo con una moderada dependencia de polinizadores, lo que implica que la presencia de éstos podría aumentar la producción de frutos y semillas entre un 10 y un 40%. A pesar de su relevancia, el conocimiento de la ecología de polinización de la soja en distintas regiones y para las distintas variedades locales es aun escaso (Chacoff et al., 2010), así como también es poco lo que se conoce respecto a la influencia de los insectos en su polinización y al posible incremento de rendimiento que esto trae aparejado (Blettler et al., 2011). Por el contrario, los esfuerzos para incrementar la

productividad de la soja y la calidad de sus semillas se han concentrado en el desarrollo y la aplicación de prácticas de manejo alternativas (Bellaloui et al., 2015) y variedades adaptadas a climas más cálidos, menor demanda de fertilizantes, resistencia a pesticidas y enfermedades mediante manipulación genética (Sábate et al., 2007; Valencia et al., 2010; Monsanto, 2011).

En los últimos años, diversos estudios han demostrado que, bajo condiciones de cultivo, la soja puede beneficiarse de la polinización llevada a cabo por insectos nativos y adicionando colmenas de *A. mellifera*, conduciendo a un incremento de la producción de frutos y semillas, tanto en cantidad como en calidad de los mismos (Erickson et al., 1978; Moreti et al., 1998; Chiari et al., 2005, 2008; Blettler et al., 2011; Milfont et al., 2013; Santos et al., 2013). No obstante, sólo en Moreti et al. (1998) se realizó un tratamiento control para tener en cuenta los posibles efectos de las estructuras utilizadas para aislar a las plantas de los insectos.

Si se tiene en cuenta la notable importancia del cultivo de soja, los antecedentes del papel positivo de los polinizadores en el incremento del rinde y los relictos de bosque como fuente de polinizadores, resulta llamativa la escasez de estudios que aborden la producción de soja en áreas cercanas a fragmentos de bosque y en función de la configuración del agroecosistema implicado. Dentro de un paisaje fragmentado de Bosque Chaqueño incluido en una matriz de soja en el centro de Argentina, Monasterolo et al. (2015) encontraron tanto un incremento en la productividad en plantas expuestas a polinizadores como una mayor frecuencia de visitas a menor distancia de los fragmentos. Cabe aclarar, sin embargo, que dicho estudio se realizó en una sola localidad y no contó con controles para el tratamiento de plantas aisladas, lo cual puede enmascarar otros efectos que no sean debidos a los polinizadores (p.e., debido a diferencias en las tasas de fotosíntesis). En un estudio realizado en dos agroecosistemas de la provincia de Córdoba y con los controles adecuados, Huais (2015) evidenció que el bosque es una fuente importante de polinizadores para los cultivos de soja, cuya polinización se traduce en una mayor producción de frutos y semillas, aunque de forma mucho más moderada a lo observado por Monasterolo et al. (2015). Cabe destacar que en Huais (2015) la polinización fue medida directamente contando la deposición de polen en los estigmas, observándose una reducción en el número de flores no polinizadas y un mayor número de granos de polen en los estigmas de plantas expuestas. Los valores de estos indicadores fueron mayores cuanto menor fue la distancia a los fragmentos de bosque nativo. Además, se consideró una escala de paisaje analizando cómo la configuración de los agroecosistemas con bosque remanente (Huais, 2015) y la cantidad de hábitat (Huais et al., enviado) influyen en la polinización y producción de los cultivos de soja.

En suma, estos antecedentes sugieren que la presencia de una comunidad diversa de polinizadores en el agroecosistema puede proporcionar servicios de polinización más eficaces y estables que una sola especie a través de distintos mecanismos como variaciones en el comportamiento de forrajeo, mayores eficiencias de polinización, tolerancias climáticas más amplias considerando el conjunto de especies y también dinámicas poblacionales asincrónicas (Kremer et al., 2002; Ricketts et al., 2004; Martins et al., 2014; IPBES, 2016). Es decir, una configuración del agroecosistema más heterogénea y una vegetación más compleja indirectamente pueden favorecer el mantenimiento de una gran diversidad de visitantes florales y un mayor número de interacciones entre los polinizadores (principalmente nativos) y los cultivos (Ricketts et al., 2008; Moreira et al., 2015; Wheelock et al., 2016), lo que finalmente da lugar a un aumento en el rendimiento de los mismos (Carvalho et al., 2011; Bommarco et al., 2013; Garibaldi et al., 2013).

Las semillas de soja están compuestas principalmente por proteínas (34-45%) y aceites (20-25%) (Boydak et al., 2002; Medic et al., 2014). El aceite de soja es utilizado para consumo alimenticio y para distintos usos industriales, entre ellos la producción de biodiesel (Lafont et al., 2014). Argentina es el primer exportador mundial de aceite de soja y el primer productor mundial de biodiesel en base a aceite de soja (Calzada y Rossi, 2016). La composición cuanti- y cualitativa del aceite de soja está controlada genéticamente y es constante dentro de ciertos límites; sin embargo, se sabe que es influenciada por factores bióticos y abióticos, tales como el genotipo, la madurez, estación de crecimiento, las prácticas agrícolas y las condiciones ambientales (temperatura, precipitaciones, suelo, etc.) (Maestri et al., 1998a; Rotundo & Westgate, 2009; Werteker et al., 2010). El aceite obtenido de semillas de soja está constituido mayoritariamente (aproximadamente 85%) por ácidos grasos insaturados, principalmente linoleico y en menor proporción linolénico y oleico (Maestri et al., 1998b). Debido al carácter esencial de los dos primeros, el aceite resulta de excelente calidad nutricional (Ridner, 2006). De este modo y en base a su importancia, el rendimiento de aceite, la concentración de ácido oleico y su relación con la del ácido linoleico (O/Ln), entre otros indicadores, han sido propuestos como criterios a tener en cuenta para evaluar la calidad y el valor comercial de la soja.

Además de los efectos benéficos de la polinización sobre el rendimiento general del cultivo de soja reseñados anteriormente, se ha observado que la polinización por insectos también puede influenciar positivamente la cantidad y la composición química de los aceites en semillas de otros cultivos. Por ejemplo, algunos estudios realizados en colza (Bommarco

et al., 2012), mostaza (Singh & Singh, 1992) y almendra (Brittain et al., 2014) muestran un aumento en el contenido de aceite cuando se comparan plantas aisladas vs. expuestas a polinizadores, siendo incluso afectada, en algunos casos, la composición química del aceite (Brittain et al., 2014; Hom et al., 2015; Negussie et al., 2015). Si bien los mecanismos subyacentes son muy poco comprendidos y apenas investigados para las plantas en general, dicha mejora en la calidad de las semillas podría deberse a un aumento del *fitness* por la polinización cruzada ya que, por ejemplo, una mayor deposición de granos de polen en el estigma puede favorecer la selección de granos de polen más eficientes en alcanzar rápidamente los óvulos y producir la fertilización (Mulcahy, 1979; Carrizo García et al., 2016). Sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios que aborden en conjunto la influencia de la polinización natural y de la configuración del agroecosistema sobre la cantidad o la composición química del aceite de soja. En resumen, la variación genética del contenido de aceite y su composición se ha discutido generalmente en el contexto de los genes implicados en la biosíntesis de lípidos (Burton et al., 2004; Clemente y Cahoon, 2009) teniendo pocas veces en cuenta los efectos maternos y paternos (i.e., gametófito femenino y masculino) (p.e., Brim et al., 1968; Wilcox & Cavins, 1985) o factores ecológicos como la polinización asociada a la configuración del paisaje en donde se encuentran los lotes de cultivo.

En este marco de referencia, resulta de interés ecológico y económico evaluar si los polinizadores y la configuración espacial del agroecosistema pueden afectar no sólo la productividad sino también la composición cuanti- y/o cualitativa del aceite en cultivos de soja de la provincia de Córdoba. Mediante el análisis de los efectos de distintos escenarios de biodiversidad (i.e., paisajes agrícolas con distinta proporción de bosque nativo remanente) y de la polinización natural se pretende responder las siguientes preguntas:

–¿Cómo influye la polinización por insectos sobre el rendimiento y composición del aceite de soja?

–¿Se encuentra relacionado el rendimiento y la composición del aceite de soja con la cantidad de hábitat disponible para los polinizadores alrededor del lote de cultivo y/o con la distancia en que se encuentran las plantas al borde del bosque nativo?

## **HIPÓTESIS Y PREDICCIONES**

### Hipótesis

El bosque nativo actúa como una fuente de polinizadores para el cultivo de soja; por consiguiente, una mayor cantidad de hábitat (i.e., mayor superficie de bosque nativo) favorable a los polinizadores en el paisaje y una menor distancia de las flores en la matriz de cultivo al borde del fragmento de bosque, influyen positivamente la polinización natural en soja, incrementando la acumulación de aceite en la semilla y modificando la proporción cuanti- y/o cualitativa de la composición de ácidos grasos.

### Predicciones

- La acumulación de aceite en las semillas de soja se incrementará en plantas expuestas a polinizadores en comparación a plantas aisladas.
- El contenido de aceite en semillas de soja de plantas expuestas a los polinizadores se relacionará de manera directa con el número de granos de polen depositados en los estigmas de sus flores.
- La acumulación de aceite en las semillas de soja de plantas expuestas a los polinizadores se incrementará cuando se encuentren dentro de cultivos con mayor cantidad de hábitat natural circundante, en comparación con sitios con menor cantidad de hábitat natural.
- La distancia a la fuente de polinizadores (distancia de las plantas de soja al borde del bosque nativo) se relacionará de manera inversa con el contenido de aceite en semillas provenientes de plantas expuestas a la polinización natural.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo general

Evaluar y analizar cómo influyen la presencia de polinizadores, la deposición de polen y la configuración espacial del agroecosistema sobre el rendimiento y composición del aceite de semillas en cultivos de soja.

### Objetivos específicos

- Cuantificar el rendimiento (medido como contenido de aceite) y composición del aceite (medido como contenido de ácidos grasos) de semillas teniendo en cuenta el efecto de la polinización natural.
- Cuantificar el rendimiento (medido como contenido de aceite) y composición del aceite (medido como contenido de ácidos grasos) de semillas en relación a plantas que maduraron frutos en sitios con distinta cantidad de hábitat natural (medido como superficie de bosque nativo) y a distintas distancias del borde del fragmento de bosque.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El estudio se realizó en dos agroecosistemas del centro de la provincia de Córdoba separados por aproximadamente 40 km (Fig. 1) durante dos campañas consecutivas (2015 y 2016). Estos paisajes agrícolas difieren en la superficie de bosque nativo remanente y la fragmentación del mismo, a saber:

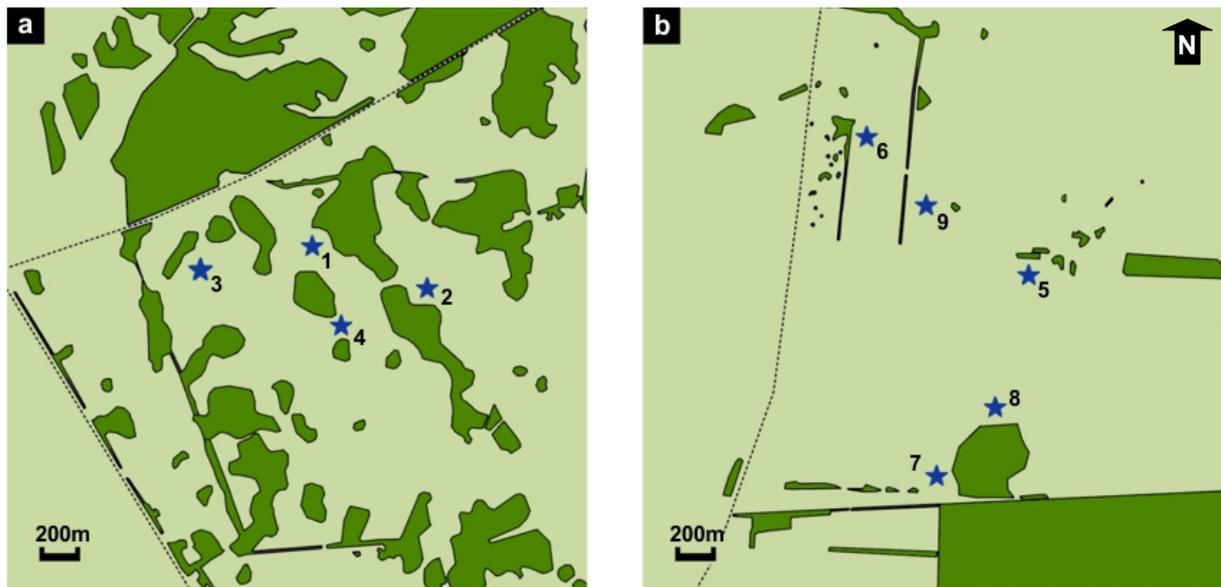
- Dentro de los límites de la estancia Santo Domingo (31°11'52"S; 64°17'09"O; 630 msnm), que posee aproximadamente un 34% de bosque nativo remanente, tomando como referencia un área de 31000 hectáreas comprendidas en un radio de 15 km alrededor de los sitios de muestreo (Fig. 1a).
- Un conjunto de fragmentos ubicados cerca de la localidad de Tinoco (31°07'28"S; 63°53'28"O; 325 msnm), el cual posee aproximadamente un 7% de bosque nativo remanente, tomando como referencia un área de 31000 hectáreas comprendidas en un radio de 15km alrededor de los sitios de muestreo (Fig. 1b).

Los fragmentos de bosque estaban inmersos en una matriz de cultivo de soja (*Glycine max*) de variedad NA 5009 RG, y en ambos paisajes se realizaron aplicaciones regulares de agroquímicos (herbicidas, insecticidas y fungicidas). La densidad medida de plantas fue de aproximadamente 38 plantas/m<sup>2</sup> en los lotes de cultivo localizados en el paisaje con mayor superficie de bosque. En el paisaje con menor superficie de bosque la densidad fue de 26 plantas/m<sup>2</sup> para el primer año y de 46 plantas/m<sup>2</sup> para el segundo.

### Diseño experimental

En este trabajo se evaluó el papel de los insectos polinizadores en la polinización (comparando plantas aisladas vs. expuestas a polinizadores), considerando dos escalas espaciales: a) de sitio (plantas de soja en sitios focales con diferente cantidad de hábitat de bosque nativo a su alrededor) y b) de micrositio (distintas distancias hacia el interior del cultivo en que se ubicaban las plantas de soja respecto del bosque nativo).

Durante los experimentos a campo se seleccionaron 10 sitios de muestreo, cuatro en el paisaje con mayor superficie de bosque y seis en el de menor superficie de bosque. Todos los sitios de muestreo fueron adyacentes a fragmentos de bosque de distintos tamaños (de una a 10 ha) y se encontraron sumergidos en la matriz de cultivo. En la Figura 1 se observan las zonas de estudio de ambos paisajes y se señalan los distintos sitios.

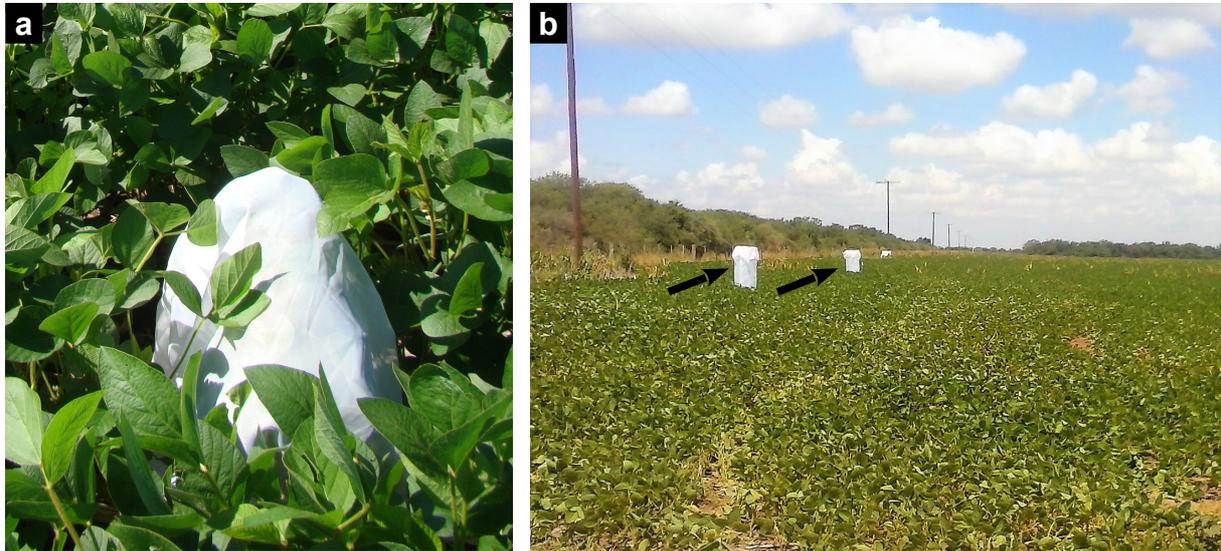


**Figura 1:** Área de estudio. **a)** Paisaje con mayor superficie de bosque remanente. **b)** Paisaje con menor superficie de bosque remanente. En verde oscuro se indica la cobertura de vegetación leñosa y en verde claro la matriz de cultivo. Las estrellas representan los sitios de muestreo (se señalan los sitios **1-9**). Modificado con permiso de Huais et al. (enviado).

Durante la campaña 2015 se seleccionaron ocho sitios de muestreo, cuatro en cada paisaje. Una vez iniciado el periodo de floración se trazaron, por sitio, cuatro transectas de 100 m de longitud cerca del fragmento de bosque y perpendiculares al borde cultivo-bosque. Se determinaron tres estaciones por transecta (0, 50 y 100 m), donde la estación más cercana al bosque (0 m) se ubicó a una distancia aproximada de 10-15 m del límite del fragmento para evitar los efectos directos del borde sobre el desarrollo de las plantas. En cada estación se seleccionaron dos plantas y se las cubrieron con bolsas de voile (Fig. 2a), evitando de esta forma la polinización natural por insectos. Otras dos plantas fueron marcadas y mantenidas expuestas a los polinizadores. Una vez finalizada la floración se retiró el voile para equiparar las condiciones de maduración de frutos y semillas entre las plantas aisladas y las expuestas a polinizadores. Al final del periodo reproductivo se recolectaron las plantas y las semillas producidas de cada uno de los dos tratamientos experimentales.

Durante la campaña 2016 se seleccionaron los dos sitios de muestreo restantes en el paisaje de menor superficie de bosque. Aquí se realizó un tratamiento control con el fin de evaluar el posible efecto de la bolsa sobre el rendimiento de las plantas, donde en lugar de bolsas, se colocaron jaulas de 1,6 m de alto cubiertas con mallas del mismo material sobre algunas plantas de soja (Fig. 2b), permitiendo así que crezcan más libremente. En cada sitio se realizaron cuatro transectas con tres estaciones cada una (0, 100 y 200 m) y se seleccionaron,

por estación, dos plantas a ser cubiertas por jaulas con voile y otras dos plantas a ser marcadas y mantenidas expuestas a los polinizadores. De la misma forma, una vez finalizada la floración se retiró el voile de cada jaula y al final del periodo reproductivo se recolectaron las plantas y las semillas producidas por cada uno de los tratamientos experimentales.



**Figura 2:** **a)** Planta embolsada. **b)** Vista del paisaje con menor superficie de bosque remanente donde se observan fragmentos de bosque adyacentes a la matriz de soja. Se distinguen las jaulas con mallas de voile (flechas) dispuestas sobre las plantas para evaluar el efecto de la bolsa. Fotos: P. Huais (a) y N. Palombo (b).

Por último, se realizaron las mediciones y cálculos de la cantidad de hábitat para cada sitio de muestreo utilizando el software QGIS (QGIS Development Team, 2016) combinado con imágenes satelitales. Se definió *a priori* calcular la cantidad de hábitat disponible para los polinizadores determinando áreas circulares de 200 m de radio alrededor de cada sitio de muestreo. Esto se debe a que, para la misma zona de estudio, Huais et al. (enviado) reportaron una relación positiva y significativa entre la deposición de polen y la cantidad de hábitat a esta escala en particular (200 m). Se entiende como “hábitat” a cada área con cubierta de vegetación leñosa, ya que se consideraron estas áreas las más probables para sostener potenciales polinizadores de soja, es decir, ofreciendo sitios de anidación y una amplia variedad de especies con flores durante el año.

### **Variables respuesta**

Finalizada la recolección de semillas, se registraron las siguientes variables en el laboratorio:

### Contenido de aceite

Se seleccionaron 10 g de semillas/planta (o bien, todas las semillas colectadas en caso de que fueran menos de 10 g) para la extracción de aceite, correspondientes a todos los sitios de muestreo y estaciones por transecta, contemplando así la evaluación de las distintas escalas espaciales. A partir de material deshidratado y molido, se procedió a la obtención del aceite mediante extracción continua sólido-líquido en equipo Soxhlet durante 8 horas, empleando n-hexano como disolvente. El extracto se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtró (papel Whatman N° 1). Luego, el aceite obtenido se recuperó del disolvente en evaporador rotatorio a 40°C, y se conservó en oscuridad y frío. El contenido total de aceite se cuantificó por diferencia de pesos previo y posterior a la extracción (AOCS, 1998) y se expresó como porcentaje según base seca (% SBS). Se utilizó una balanza analítica Ohaus Explorer (precisión 0,0001 g).

### Composición de ácidos grasos

Se determinó la composición de ácidos grasos y la relación oleico/linoleico (O/Ln) de los aceites extraídos de muestras de semillas correspondientes a todos los sitios de muestreo y estaciones por transecta, contemplando así la evaluación de las distintas escalas espaciales. La identificación y cuantificación de ácidos grasos de los aceites extraídos se determinó, como ésteres metílicos, por cromatografía gaseosa (CG), utilizando un equipo Perkin-Elmer (Shelton, CT, USA), de acuerdo a metodologías empleadas por Maestri et al. (2015).

### *Preparación de la muestra*

Una alícuota de cada muestra de aceite (aproximadamente 0,5 g) se saponificó con solución de hidróxido de potasio 0,5 N en metanol mediante calentamiento a reflujo durante 5 min. Posteriormente, se llevó a cabo la reacción de esterificación mediante el agregado de solución de cloruro de amonio/ácido sulfúrico en metanol seguido de calentamiento a reflujo durante 5 min. Luego de particionar con n-hexano, esta última fase fue recuperada, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró (papel Whatman N° 1) y concentró en evaporador rotatorio a 40 °C.

### *Cromatografía gaseosa*

La mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos se analizó en una columna de fase polar (polietilenglicol), de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de fase. Se empleó nitrógeno como gas portador (1 mL/min); temperatura de horno programada desde 180 hasta 220°C (2°C/min); temperaturas de inyector y detector (FID), 250°C. Los

ácidos grasos se identificaron por comparación de sus tiempos de retención relativos con respecto a patrones analizados bajo las condiciones señaladas. El contenido de cada uno de los ácidos grasos identificados se expresó como valor porcentual en relación al contenido total de los mismos.

### **Análisis estadísticos**

En el análisis de datos se consideraron tres factores: “Tratamiento”, con dos niveles (plantas aisladas y expuestas a polinizadores); “Cantidad de hábitat”, en un rango del 1 al 40% (considerando un radio de 200 m); y “Distancia” (cuatro puntos de muestreo situados a diferentes distancias del borde del bosque; 0, 50, 100, 200 m) a fin comparar el efecto de cada uno de los mismos sobre las siguientes variables de respuesta: contenido total de aceite, composición de ácidos grasos (considerando el contenido de los principales ácidos grasos: ác. oleico y ác. linolénico) y la relación oleico/linoleico (O/Ln) como indicador de la calidad del aceite. Adicionalmente, se incluyó en el análisis el factor “Cantidad de polen” (medido como nº de granos de polen/estigma/flor) como indicador directo del proceso de polinización. Para ello, a partir de los resultados en Huais et al. (enviado), se tomaron datos del número de granos de polen depositados sobre estigmas de flores provenientes de las mismas plantas a las cuales se les realizó la extracción del aceite de semillas y correspondientes a los sitios de muestreo 1 a 8. De este modo fue posible evaluar si las diferencias en el contenido de aceite y su composición podrían deberse a una deposición polínica diferencial a través de los distintos niveles de cada factor.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando R (R Core Development Team, 2016) a través de modelos lineales generalizados (GLMs) y modelos lineales generalizados mixtos (GLMMs) según el tipo de factores, utilizando la función *glmer* del paquete estadístico *lme4* (Bates et al., 2015). Se utilizaron errores Gamma para modelar las variables respuesta. Se aplicó el criterio de información de Akaike (AIC) para evaluar la importancia de los factores incorporados en el modelo y así determinar aquel que mejor explica la variabilidad de los datos. Los modelos propuestos fueron comparados mediante la función *anova* del paquete *stats* de R para determinar la significancia de los factores individuales. Los gráficos se hicieron utilizando el paquete *ggplot2* (Wickham, 2009).

En primer lugar, se aplicaron GLMMs con el fin de evaluar los efectos del tratamiento sobre las distintas variables respuesta, donde el “Tratamiento” fue la variable predictora (factor fijo). Los factores “Distancia”, “Cantidad de hábitat” y “Cantidad de polen” se

consideraron como factores aleatorios. También se evaluó el modelo nulo y el modelo nulo con los factores aleatorios “Distancia”, “Cantidad de hábitat” y “Cantidad de polen”. En forma similar, se aplicaron GLMMs para descartar el posible efecto del embolsado, comparando el contenido de aceite de semillas entre plantas aisladas con los distintos métodos de clausura (i.e., bolsas y jaulas de voile).

Posteriormente, se realizaron regresiones GLMMs para evaluar los efectos de la “Cantidad de polen”, la “Distancia” y la “Cantidad de hábitat” (factores fijos o aleatorios según el caso) sobre cada variable de respuesta en las plantas expuestas a polinizadores. También se evaluaron los modelos nulos y modelos nulos con factores aleatorios para cada caso. Por último, se realizaron los mismos análisis para las plantas aisladas, los cuales funcionaron como controles permitiendo detectar diferencias en los distintos niveles de cada factor debido a otros efectos además de la polinización por insectos.

## RESULTADOS

### Contenido de aceite

Se realizó la extracción del aceite de semillas para un total de 179 plantas. Considerando todas las muestras, el contenido de aceite promedio obtenido se encontró dentro de los valores reportados para la soja en general (20-25%) y también dentro de lo reportado para la misma variedad en el centro de la provincia de Córdoba (20-22%) (Villarroel et al., 2016).

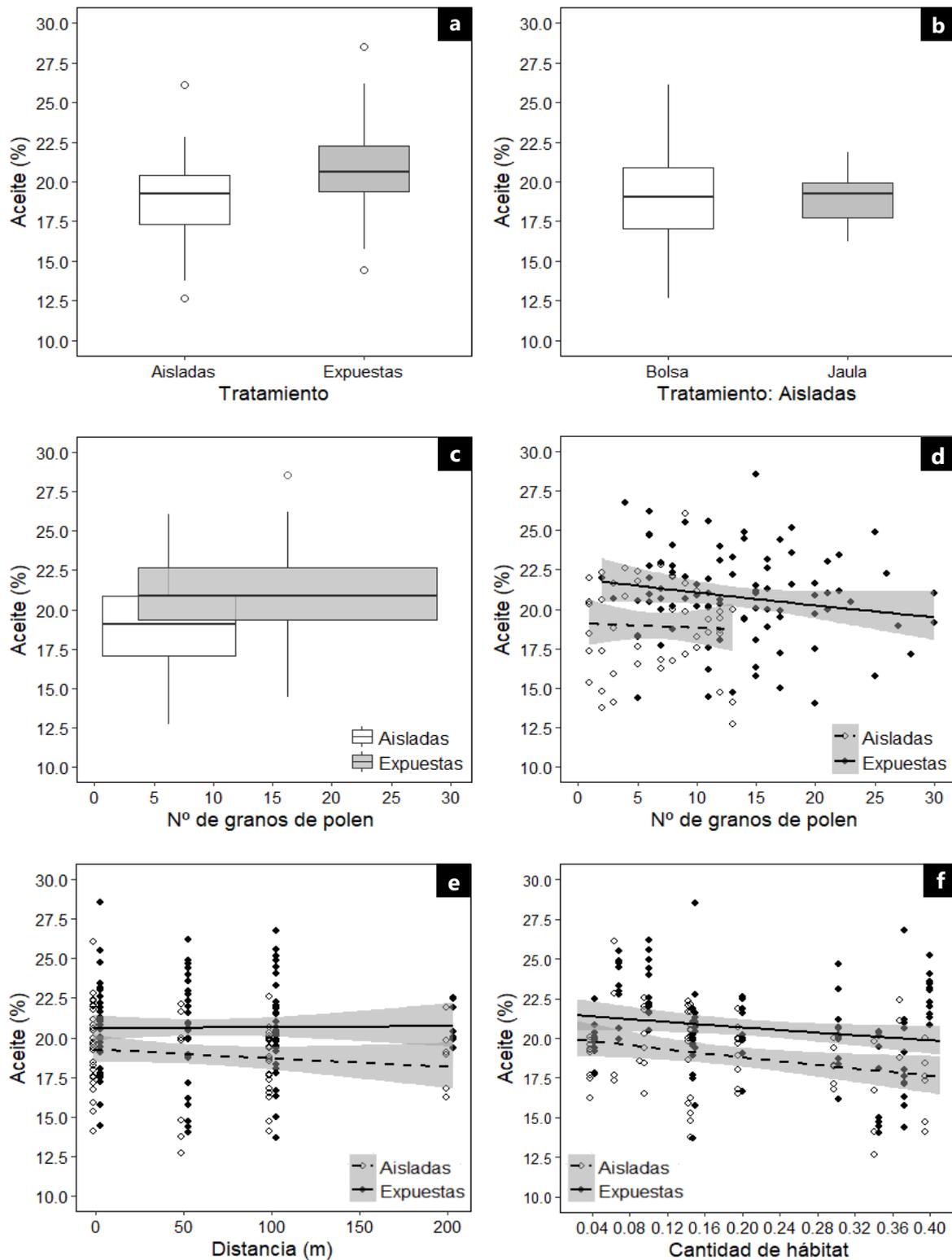
#### *Efecto del tratamiento de polinización*

Al comparar el contenido de aceite de semillas provenientes de todos los sitios de muestreo entre plantas expuestas y aisladas de polinizadores, se observó en las plantas de soja expuestas un rendimiento significativamente mayor ( $t = -4,76$ ,  $P < 0,0001$ ) al de las plantas aisladas (Fig. 3a). El contenido de aceite promedio fue de 20,63% en plantas expuestas a polinizadores y de 18,91% en plantas aisladas, lo que representa un incremento del 9,1% por efecto del tratamiento. En la Tabla 1 se exponen los modelos propuestos incluyendo además la cantidad de hábitat y la distancia al borde del bosque en plantas expuestas a los visitantes florales. Se observa que el modelo con el AIC más bajo (M1) excluye al factor “Distancia” e incluye a los factores “Tratamiento” y “Cantidad de hábitat”, siendo estos últimos los factores más adecuados para explicar el comportamiento de la variable respuesta.

Al comparar el contenido de aceite entre plantas aisladas con bolsas de voile vs. plantas aisladas con jaulas con voile (control efecto bolsa), no se encontraron diferencias significativas entre ambos métodos de clausura ( $t = 0,06$ ,  $P = 0,952$ ; Fig. 3b). A su vez el contenido de aceite de estas últimas fue significativamente menor ( $t = -2,52$ ,  $P = 0,0131$ ) al de las semillas de plantas expuestas a la polinización por insectos.

**Tabla 1:** Modelos (GLMMs) para evaluar el contenido de aceite (CA) según el tratamiento (plantas expuestas vs. plantas aisladas a polinizadores). Se utilizó a “Tratamiento” como factor fijo y los factores aleatorios “Distancia” y “Cantidad de hábitat” (M1-M2), y “Distancia”, “Cantidad de hábitat” y “Cantidad de polen” (M1”-M2”); con datos de los sitios 1 a 8). Se muestran los dos modelos con menor AIC.

Modelos	gl	AIC	$\Delta$ AIC
M1. CA ~Tratamiento + (1  Cant. de hábitat)	4	845,50	0,00
M2. CA ~Tratamiento + (1  Distancia)+(1  Cant. de hábitat)	5	847,50	2,00
M1”. CA ~Tratamiento + (1 Cant. de hábitat)+(1 Cant. de polen)	5	671,65	0,00
M2”. CA ~Tratamiento + (1  Distancia)+(1  Cant. de hábitat)+(1 Cant. de polen)	6	672,30	0,65



**Figura 3:** Gráficos de cajas (a-c) y regresiones (d-f) representado la variación en el contenido de aceite (%SBS) de semillas en plantas aisladas ( $n=66$ ) y expuestas ( $n=113$ ) a polinizadores y en función de los distintos factores analizados: **a)** Tratamiento y **b)** Control del efecto bolsa; **c,d)** Cantidad de polen ( $n^{\circ}$  de granos de polen/estigma/flor); **e)** Distancia (m) al borde del fragmento de bosque; **f)** Cantidad de hábitat a un radio de 200 m del sitio de muestreo. En las regresiones los puntos blancos y negros representan las muestras provenientes de plantas aisladas y expuestas a polinizadores, respectivamente.

### *Efecto de la cantidad de polen*

Al incorporar la cantidad de polen en los modelos anteriores (Tabla 1, modelos M1" y M2") se observó que los mejores modelos también incluyen a este factor debido a la deposición diferencial de granos de polen entre los tratamientos (Fig. 3c) observada en Huais et al. (enviado). Sin embargo, al analizar el contenido de aceite en relación al número de granos de polen depositados en los estigmas de las flores, los mejores modelos obtenidos excluyen al factor "Cantidad de polen" (Tabla 2, modelos M1) e indican una independencia de los datos respecto a este factor. No se encontró una relación significativa entre el contenido de aceite y la cantidad de polen depositado en los estigmas de plantas expuestas ( $t= 1,52, P= 0,133$ ; Fig. 3d). Tampoco se encontró una relación significativa entre las variables para el caso de las plantas aisladas ( $t= 0,71, P= 0,479$ ; Fig. 3d).

**Tabla 2:** Modelos (GLMMs) para evaluar el contenido de aceite (CA) según la cantidad de polen (con datos de los sitios 1 a 8), en plantas expuestas y aisladas. Se utilizó a "Cantidad de polen" como factor fijo y los factores aleatorios "Distancia" y "Cantidad de hábitat". Se muestran los dos modelos con menor AIC.

<b>Modelos</b>	<b>gl</b>	<b>AIC</b>	<b><math>\Delta</math>AIC</b>
<b>Tratamiento: Expuestas</b>			
M1. CA ~ 1 + (1  Cantidad de hábitat)	3	431,56	0,00
M2. CA ~ Cantidad de polen + (1  Cantidad de hábitat)	4	433,56	2,00
<b>Tratamiento: Aisladas</b>			
M1. CA ~ 1 + (1  Cantidad de hábitat)	3	240,74	0,00
M2. CA ~ 1	2	241,23	0,49

### *Efectos de la distancia y la cantidad de hábitat*

El factor fijo "Distancia" queda excluido para mejores modelos obtenidos (Tabla 3, modelos M1), indicando una independencia de los datos respecto a este factor. El contenido de aceite de plantas de soja expuestas a polinizadores no disminuyó significativamente ( $t= -0,14, P= 0,89$ ; Fig. 3e) con la distancia al borde del bosque. Tampoco se encontró un efecto significativo de la distancia al analizar el contenido de aceite de plantas aisladas ( $t= 1,13, P= 0,265$ ; Fig. 3e), aunque se puede observar una disminución.

Al analizar el contenido de aceite en relación a la cantidad de hábitat disponible en los distintos sitios, los mejores modelos incluyeron al factor "Cantidad de hábitat" (Tabla 4, modelos M1). Se obtuvo una relación negativa y significativa entre el contenido de aceite y la cantidad de hábitat en las plantas expuestas ( $t= 2,00, P= 0,048$ ; Fig. 3f), es decir, una

disminución en el contenido de aceite a mayor cantidad de hábitat disponible. También se obtuvo una relación negativa y significativa al analizar el contenido de aceite de plantas aisladas ( $t= 2,30$ ,  $P= 0,025$ ; Fig. 3f).

**Tabla 3:** Modelos (GLMMs) para evaluar el contenido de aceite (CA) según la distancia al borde del bosque, en plantas expuestas y aisladas. Se utilizó a "Distancia" como factor fijo y el factor aleatorio "Cantidad de hábitat". Se muestran los dos modelos con menor AIC.

Modelos	gl	AIC	$\Delta$ AIC
<b>Tratamiento: Expuestas</b>			
M1. CA ~ 1+ (1  Cantidad de hábitat)	3	523,94	0,00
M2. CA ~ Distancia + (1  Cantidad de hábitat)	4	525,55	1,61
<b>Tratamiento: Aisladas</b>			
M1. CA ~ 1+ (1  Cantidad de hábitat)	3	314,7	0,00
M2. CA ~ Distancia + (1  Cantidad de hábitat)	4	315,41	0,71

**Tabla 4:** Modelos (GLMMs) para evaluar el contenido de aceite (CA) según la cantidad de hábitat, en plantas expuestas y aisladas. Se utilizó a "Cantidad de hábitat" como factor fijo y el factor aleatorio "Distancia". Se muestran los dos modelos con menor AIC.

Modelos	gl	AIC	$\Delta$ AIC
<b>Tratamiento: Expuestas</b>			
M1. CA ~ Cantidad de hábitat	3	557,34	0,00
M2. CA ~ 1	2	559,24	1,90
<b>Tratamiento: Aisladas</b>			
M1. CA ~ Cantidad de hábitat	3	312,63	0,00
M2. CA ~ 1	2	315,78	3,15

### Composición de ácidos grasos

Se determinó la composición de ácidos grasos para un total de 156 muestras de aceite. Los perfiles obtenidos mostraron la distribución típica de ácidos grasos del aceite de semillas de soja (Tabla 5). El aceite contiene un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados, alrededor de un 82-83% en general, considerando todas las muestras. La composición de ácidos grasos estuvo dominada por el ácido linoleico (C18:2) seguido por ác. oleico (C18:1), ác. palmítico (C16:0), ác. linolénico (C18:3) y ác. esteárico (C18:0). También se encontraron en pequeñas cantidades los ácidos araquídico (C20:0), gadoleico (C20:1), behénico (C22:0) y palmitoleico (C16:1).

**Tabla 5:** Contenido de aceite (%SBS), contenido de ácidos grasos (%) del mismo y relación oleico/linoleico (O/Ln) en semillas de soja de plantas aisladas (n=66) y expuestas (n=90) a polinizadores correspondientes a todos los sitios de muestreo.

Parámetro	Tratamiento	
	Aisladas	Expuestas
Contenido de aceite	18,91 ± 2,55	20,63 ± 2,79
Ac. palmítico (C16:0)	11,91 ± 0,50	11,82 ± 0,61
Ac. palmitoleico (C16:1)	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,01
Ac. esteárico (C18:0)	4,54 ± 0,31	4,29 ± 0,32
Ac. oleico (C18:1)	21,39 ± 2,59	21,11 ± 1,75
Ac. linoleico (C18:2)	53,37 ± 2,16	53,88 ± 1,63
Ac. linolénico (C18:3)	7,99 ± 0,81	8,04 ± 0,51
Ac. araquídico (C20:0)	0,37 ± 0,03	0,36 ± 0,03
Ac. gadoleico (C20:1)	0,18 ± 0,05	0,19 ± 0,05
Ac. behénico (C22:0)	0,38 ± 0,07	0,38 ± 0,06
O/Ln	0,40 ± 0,07	0,39 ± 0,05

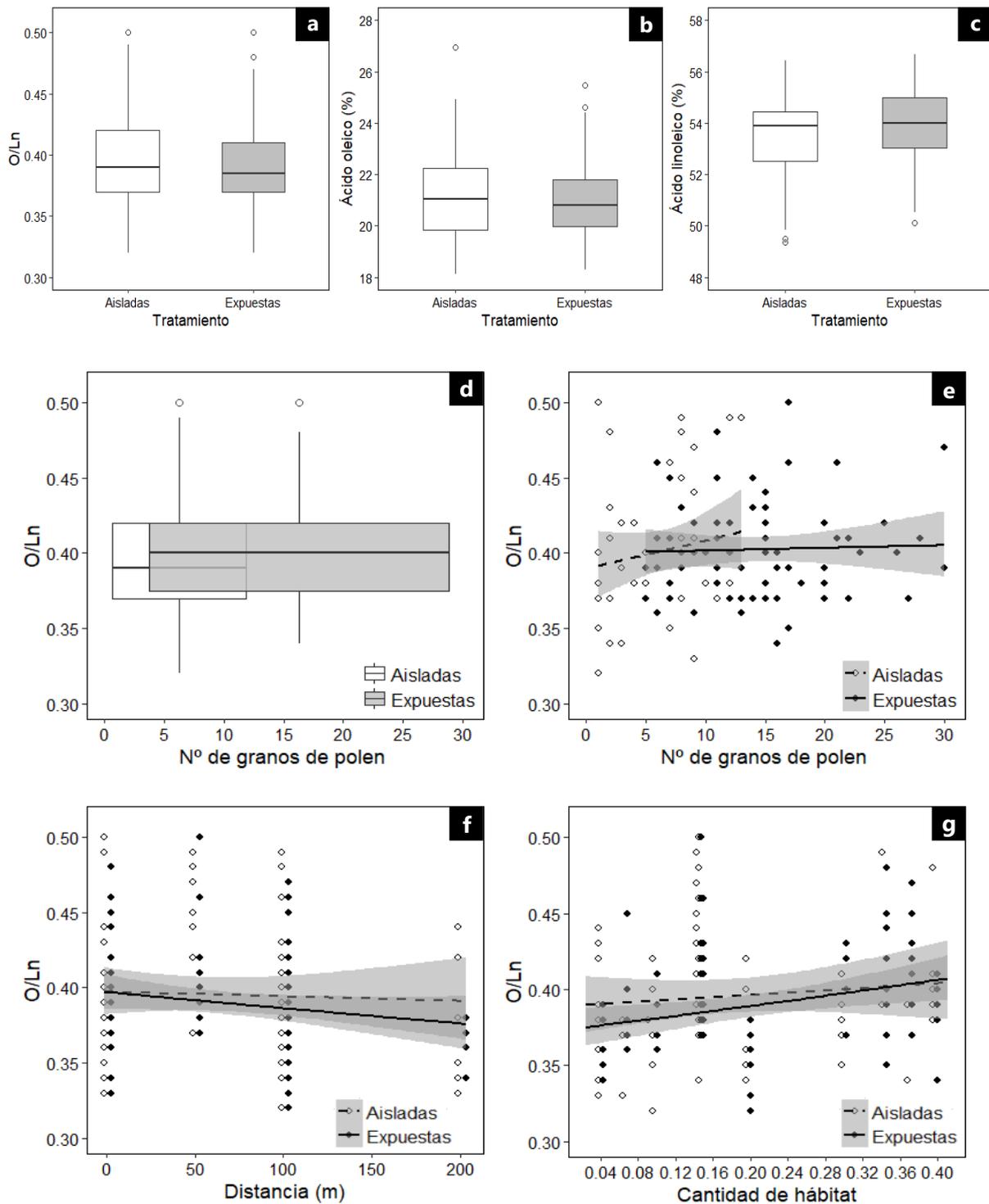
#### *Efecto del tratamiento de polinización*

Al comparar la composición de ácidos grasos en plantas expuestas y aisladas de polinizadores no se encontraron diferencias significativas entre ambos tratamientos para el cociente O/Ln ( $t= 1,64$ ,  $P= 0,100$ ; Fig. 4a) ni para el contenido de los ácidos oleico ( $t=0,33$ ,  $P=0,745$ ; Fig. 4b) y ác. linoleico ( $t= -1,45$ ,  $P= 0,149$ ; Fig. 4c).

En la Tabla 6 se exponen los modelos propuestos para el O/Ln, donde se observa que los factores “Tratamiento” y “Distancia” quedan excluidos del mejor modelo, indicando una independencia de los datos respecto a estos factores. Según el criterio AIC, el modelo que sólo incluye al factor “Cantidad de hábitat” (M1) es el más adecuado para explicar el comportamiento de la variable respuesta.

**Tabla 6:** Modelos (GLMMs) para evaluar la relación O/Ln según el tratamiento (plantas expuestas vs. plantas aisladas a polinizadores). Se utilizó a “Tratamiento” como factor fijo y los factores aleatorios “Distancia” y “Cantidad de hábitat” (M1-M2), y “Distancia”, “Cantidad de hábitat” y “Cantidad de polen” (M1”-M2”, con datos de los sitios 1 a 8). Se muestran los dos modelos con menor AIC.

Modelos	gl	AIC	$\Delta$ AIC
M1. O/Ln ~ 1 + (1  Cantidad de hábitat)	3	-557,89	0,00
M2. O/Ln ~ Tratamiento + (1  Cantidad de hábitat)	4	-557,22	0,67
M1”. O/Ln ~ 1 + (1  Cantidad de hábitat) + (1  Cantidad de polen)	4	-394,61	0,00
M2”. O/Ln ~ 1 + (1  Cantidad de hábitat)	3	-392,91	1,70



**Figura 4:** Gráficos de cajas (a-d) y regresiones (e-g) representado la variación en la relación O/Ln y los ácidos oleico y linoleico (%), según corresponda, en plantas aisladas (n=66) y expuestas (n=90) a polinizadores y en función los distintos factores analizados: **a,b,c)** Tratamiento de polinización; **d,e)** Cantidad de polen (n° de granos de polen/estigma/flor); **f)** Distancia (m) al borde del fragmento de bosque; **g)** Cantidad de hábitat a un radio de 200 m del sitio de muestreo. En las regresiones los puntos blancos y negros representan las muestras provenientes de plantas aisladas y expuestas a polinizadores, respectivamente.

### *Efecto de la cantidad de polen sobre el O/Ln*

Al incorporar la cantidad de polen en los modelos anteriores (Tabla 6, M1" y M2"), nuevamente se observó que el mejor modelo incluye a este factor debido a la deposición diferencial de granos de polen entre tratamientos (Fig. 4d) observada en Huais et al. (enviado). Sin embargo, al analizar el cociente O/Ln en relación al número de granos de polen depositados en los estigmas de las flores, los mejores modelos obtenidos excluyen al factor fijo "Cantidad de polen" (Tabla 7, modelos M1). No se encontró una relación significativa entre el O/Ln y la cantidad de polen depositado en los estigmas de plantas expuestas ( $t= 1,61$ ,  $P= 0,289$ ; Fig. 4e). Tampoco se encontró una relación significativa entre las variables para el caso de las plantas aisladas ( $t= -1,49$ ,  $P= 0,144$ ; Fig. 4e).

**Tabla 7:** Modelos (GLMMs) para evaluar la relación O/Ln según la cantidad de polen (con datos de los sitios 1 a 8), en plantas expuestas y aisladas. Se utilizó a "Cantidad de polen" como factor fijo y los factores aleatorios "Distancia", "Cantidad de hábitat" y "Tratamiento." Se muestran los dos modelos con menor AIC.

<b>Modelos</b>	<b>gl</b>	<b>AIC</b>	<b><math>\Delta</math>AIC</b>
<b>Tratamiento: Expuestas</b>			
M1. O/Ln ~ 1	2	-237,20	0,00
M2. O/Ln ~ Cantidad de polen	3	-236,53	0,67
<b>Tratamiento: Aisladas</b>			
M1. O/Ln ~ 1 + (1  Cantidad de hábitat)	3	-158,28	0,00
M2. O/Ln ~ Cantidad de polen + (1  Cantidad de hábitat)	4	-157,61	0,67

### *Efectos de la distancia y la cantidad de hábitat sobre el O/Ln*

Nuevamente, el factor fijo "Distancia" queda excluido en los mejores modelos obtenidos (Tabla 8, modelos M1), indicando una independencia de los datos respecto a este factor. Para las plantas expuestas a polinizadores, el análisis de regresión mostró que el cociente O/Ln no fue significativamente diferente entre plantas de soja ubicadas a distintas distancias al borde del bosque ( $t= 0,96$ ,  $P= 0,339$ ; Fig.4f), aunque el O/Ln tiende a disminuir con la distancia. En cuanto a las plantas aisladas, tampoco se encontraron relaciones significativas con la distancia al borde del bosque ( $t= 0,09$ ,  $P= 0,926$ ; Fig. 4f).

Por último, al analizar el O/Ln en relación a la cantidad de hábitat disponible en los distintos sitios, los mejores modelos incluyen al factor "Cantidad de hábitat" (Tabla 9). Para las plantas expuestas se evidenció una relación positiva y significativa entre el cociente O/Ln

y la cantidad de hábitat ( $t= -3,07$ ,  $P= 0,0028$ ; Fig.4g), representando un incremento del O/Ln a mayor cantidad de hábitat. En cuanto a las plantas aisladas de polinizadores, la relación no resultó significativa ( $t= -1,23$ ,  $P=0,217$ ; Fig. 4g), aunque también se puede observar un incremento.

**Tabla 8:** Modelos (GLMMs) para evaluar la relación O/Ln según la distancia al borde del bosque, en plantas expuestas y aisladas. Se utilizó la "Distancia" como factor fijo y el factor aleatorio "Cantidad de hábitat". Se muestran los dos modelos con menor AIC.

Modelos	gl	AIC	$\Delta$ AIC
<b>Tratamiento: Expuestas</b>			
M1. O/Ln ~ 1+ (1  Cantidad de hábitat)	3	-334,82	0,00
M1. O/Ln ~ Distancia + (1  Cantidad de hábitat)	4	-333,64	1,18
<b>Tratamiento: Aisladas</b>			
M1. O/Ln ~ 1+ (1  Cantidad de hábitat)	3	-224,89	0,00
M1. O/Ln ~ Distancia + (1  Cantidad de hábitat)	4	-223,67	1,22

**Tabla 9:** Modelos (GLMMs) para evaluar la relación O/Ln según la cantidad de hábitat, en plantas expuestas y aisladas. Se utilizó la "Cantidad de hábitat" como factor fijo y el factor aleatorio "Distancia". Se muestran los dos modelos con menor AIC.

Modelos	gl	AIC	$\Delta$ AIC
<b>Tratamiento: Expuestas</b>			
M1. O/Ln ~ Cantidad de hábitat	3	-322,08	0,00
M2. O/Ln ~ Cantidad de hábitat + (1  Distancia)	4	-318,13	3,95
<b>Tratamiento: Aisladas</b>			
M1. O/Ln ~ 1	2	-210,78	0,00
M2. O/Ln ~ Cantidad de hábitat	3	-210,43	0,35

## DISCUSIÓN

Si bien los efectos de la polinización por insectos y, en menor medida, de la configuración del paisaje en la producción de frutos y semillas en plantas de soja ya han sido documentados (p.e., Moreti et al., 1998; Milfont et al., 2013; Monasterolo et al., 2015; Huais, 2015), este es el primer trabajo en estudiar la influencia de dichos factores en la producción de aceite en soja. Más precisamente, por primera vez se analiza cómo los polinizadores y la configuración del agroecosistema a diferentes escalas espaciales influyen en el rendimiento de aceite de semillas de soja y en su composición de ácidos grasos. En este estudio se aporta nueva evidencia sobre la importancia del bosque y del servicio ecosistémico de polinización, revelando que también realiza una contribución considerable y previamente desconocida al rendimiento de aceite y, por lo tanto, al valor comercial de la soja. Esta tendencia ha sido recientemente observada en varios otros cultivos y para distintos lugares del mundo (Singh & Singh, 1992; Kasina et al., 2007; Bartomeus et al., 2014; Bommarco et al., 2012; Brittain et al., 2014; Negussie et al., 2015).

### **¿Cómo influye la polinización por insectos sobre el rendimiento y composición del aceite de soja?**

El contenido de aceite de las plantas expuestas a polinizadores fue significativamente mayor al de las plantas aisladas, lo que demostraría una clara influencia de los polinizadores sobre la acumulación de aceite en semillas de soja. Por el contrario, la composición de ácidos grasos (i.e., tipo y proporción de los mismos) no fue afectada significativamente por los distintos tratamientos de polinización.

En términos porcentuales, los resultados obtenidos muestran que las plantas expuestas a polinizadores tuvieron un mayor contenido de aceite (9,1% en promedio) que las plantas aisladas. Cabe destacar que al comparar el contenido de aceite de las plantas aisladas con bolsas de voile vs. el contenido de aceite de las plantas aisladas con jaulas con voile, no se detectaron diferencias significativas entre ambos métodos de clausura. Esto indicaría la ausencia de un efecto de la bolsa para aislar a los insectos en la síntesis y acumulación de aceite en las semillas. Si bien también se podría pensar que las estructuras utilizadas para excluir a los polinizadores de las plantas desempeñan un papel ralentizando el desarrollo de los frutos y semillas (p.e., mediante la reducción de la cantidad de luz recibida), se esperaría que esto tuviera un menor impacto debido a que el periodo de tiempo en el cual las bolsas y

jaulas estuvieron colocadas fue relativamente corto y porque la reducción lumínica en el campo por el voile sería despreciable (<15%).

Como se resume en Nicole (2015), diversos estudios han mostrado que la polinización biótica puede influenciar positivamente la composición química de frutos y semillas y, en consecuencia, el valor nutricional y comercial de los cultivos en formas complejas. Sin embargo, en el presente trabajo no se encontró la misma tendencia para el caso particular de los ácidos grasos del aceite de soja. Si bien con la aplicación de los mismos tratamientos que los utilizados aquí se han reportado diferencias en la composición de ácidos grasos para otros cultivos (p.e., almendra—Brittain et al., 2014; colza—Hom et al., 2015; jatrofa—Negussie et al., 2015), en este caso las muestras provenientes de ambos tratamientos no difirieron entre sí y todas se ajustaron al perfil típico de ácidos grasos para la soja. Esto muestra que la composición química y los mecanismos que la regulan serían específicos para cada cultivo. Es probable que en el caso de la soja, y más precisamente en esta variedad, la composición de ácidos grasos esté en gran parte controlada genéticamente, o bien responda mayormente a otros factores como condiciones climáticas y de manejo del cultivo. Asimismo, la composición química del grano (Maestri et al., 1998b) y la dependencia de la polinización animal (Chacoff et al., 2010) pueden cambiar según la variedad de *G. max* y la región geográfica, por lo cual estos factores también deberían ser tenidos en cuenta. No obstante, ya que la composición y distribución de ácidos grasos determinan la calidad del aceite (i.e., el valor nutricional, el sabor, la estabilidad oxidativa, el punto de fusión, la forma de cristalización, etc.) (Medic, 2014), es importante destacar que en este estudio no se detectaron efectos negativos de los insectos polinizadores sobre la composición cuali- y cuantitativa de ácidos grasos. En consecuencia, podría desestimarse la posibilidad de que la polinización natural de las plantas en la matriz de cultivo altere de manera perjudicial la calidad del aceite de soja.

Los experimentos que manipulan directamente las visitas de polinizadores (p.e., exclusión de polinizadores frente al acceso libre de los mismos) son menos comunes para la mayoría de los cultivos pero han aumentado en los últimos años (Klein et al., 2007; Sandhu et al., 2016). En cualquier caso, la evaluación de la posible influencia de la polinizadores debe realizarse con los controles adecuados para estimar correctamente la contribución que los insectos polinizadores pueden proporcionar a los distintos componentes del rendimiento de los cultivos. En el presente estudio se analizaron una gran cantidad de plantas y se obtuvo un 9,1% más de aceite en plantas expuestas que aisladas de los polinizadores. El control de embolsado también cumplió con su objetivo, permitiendo distinguir en forma más precisa el

aporte de los polinizadores en la producción de aceite. No obstante, para futuras investigaciones debería incluirse, en todos los sitios de muestreo, un tratamiento para evaluar el posible efecto de la bolsa tanto en plantas aisladas como expuestas a los polinizadores. En principio se supone que no se encontrarán efectos ya que la composición de aceites no fue alterada, siendo además comparable el contenido de aceite producido entre bolsas y jaulas de aislamiento. Sin embargo, es necesario medir experimentalmente esta fuente de variación para poder descartarla. Se sugiere, por ejemplo, instalar estructuras con los mismos materiales que los construidos para aislar polinizadores (i.e., bolsas o jaulas con voile), pero que permitan el libre acceso de estos organismos a las flores de soja. De esta manera sería posible descartar efectos diferenciales sobre el desarrollo de plantas aisladas debido a menores tasas fotosintéticas, mayor humedad o menor circulación de aire que en plantas expuestas, menor disponibilidad de espacio para el crecimiento, entre otros.

### **¿Se encuentra relacionado el rendimiento y la composición del aceite de soja con la cantidad de hábitat disponible y/o con la distancia al borde del bosque?**

Respecto al contenido de aceite de semillas en plantas expuestas no se hallaron los resultados esperados para las distintas escalas espaciales estudiadas (sitio y micrositio). Se encontraron diferencias opuestas a las esperadas o bien no se observaron respuestas diferenciales por efecto de la configuración del agroecosistema. En el caso de la composición de ácidos grasos los resultados también fueron dispares. Para las plantas aisladas (las cuales funcionaron como controles en este caso) se observó un comportamiento similar.

No se evidenció un aumento en el contenido de aceite en las plantas expuestas a la polinización por insectos a mayor cantidad de hábitat en los sitios de muestreo, es decir, con un incremento en la proporción de bosque disponible para los polinizadores. Los sitios en los que se obtuvo un mayor rendimiento de aceite por planta fueron variables en cuanto a su cantidad de hábitat. Y, en oposición a lo esperado, el análisis de regresión mostró una relación negativa entre ambas variables. No obstante, se observó un aumento significativo en el contenido de ácido oleico y en su relación con el ácido linoleico (O/Ln) en plantas expuestas a polinizadores ubicadas en sitios con mayor cantidad de hábitat, lo que puede representar un efecto positivo en la calidad del aceite.

En cuanto a la distancia de las plantas al borde cultivo-bosque, no se observaron diferencias en el contenido de aceite ni en su composición de ácidos grasos entre estaciones ubicadas a distintas distancias del borde. Es decir que no se encontró una disminución en el contenido de aceite a mayor

distancia del fragmento de bosque ni tampoco variaciones en el perfil de ácidos grasos.

Aunque un mayor servicio de polinización (i.e., incremento en la frecuencia de visitas y/o en la deposición de polen) en plantas ubicadas cerca de los fragmentos (Huais, 2015; Monastero et al., 2015) y con el incremento de la cantidad de hábitat (Huais et al., enviado) ha sido reportado para la zona de estudio, esto no se tradujo en un aumento en el contenido de aceite de las semillas. Una observación a tener en cuenta es el movimiento que tienen los organismos polinizadores desde el bosque hacia el cultivo durante la floración de plantas de soja. Al respecto, se vio que *A. mellifera* se distribuye en forma bastante uniforme en el cultivo y que su frecuencia de visitas, a diferencia de los insectos nativos, no disminuyó significativamente con la distancia (Huais et al., enviado). Es posible que la distancia a la cual las abejas melíferas presentes en el paisaje pueden desplazarse hasta la matriz de cultivo sea mayor a la considerada por este estudio (>100 y 200 m). Por ejemplo, el trabajo de Ricketts et al. (2008), donde se resumen los resultados de diferentes estudios sobre cultivos en los cinco continentes, indica una disminución de un 50% en la tasa de visitas de *A. mellifera* a una distancia de 2 km de las áreas naturales y una distancia de 600 m si se consideran sólo las especies nativas. Para la soja en particular, Erickson et al. (1978) evaluaron el rendimiento de grano a distintas distancias de los apiarios, obteniendo una disminución significativa del rinde a distancias mayores a 100 m. De esta manera, se necesitaría una mayor evaluación para determinar si las escalas espaciales utilizadas (i.e., transectas de 100-200 m de longitud y un radio de 200 m alrededor del sitio de muestreo) son las adecuadas para detectar efectos en el rendimiento de aceite debido a la presencia dominante de *Apis mellifera* en las visitas a las flores de soja (Huais, 2015).

Sin embargo, es posible que las diferencias en la magnitud del servicio de polinización entre los distintos sitios no fueran suficientemente grandes para mostrar un efecto detectable sobre el rendimiento de aceite por planta. Es decir, incluso los lotes de cultivo ubicados en los sitios con menor cantidad de hábitat podrían tener una densidad de insectos suficientemente alta para garantizar un buen rinde, especialmente si el cultivo (como la soja) tiene un alto grado de polinización autógama. Teniendo en cuenta que en la soja un 50-60% de las visitas flores correspondieron a *A. mellifera* (Monasterolo et al., 2015; Huais et al., enviado) y considerando el comportamiento de forrajeo mencionado para la misma, puede esperarse que su contribución a la polinización del cultivo sea más o menos constante entre distintos sitios y, en consecuencia, que el gradiente de disminución en el servicio de polinización ya reportado se vea mitigado por la abeja y no permita encontrar mayores diferencias en el contenido de

aceite en las plantas de soja. Si las especies que prosperan (incluyendo la abeja melífera) en agroecosistemas homogéneos e intensamente cultivados son polinizadores efectivos, las pérdidas en el rendimiento (p.e., en ciertos componentes del rendimiento como el contenido de aceite) pueden estar parcialmente dissociadas de las pérdidas en la calidad del servicio de polinización (p.e., disminución en la riqueza y abundancia de especies) (Bartomeus & Winfree, 2013). Además, aunque los polinizadores nativos pueden incrementar el éxito reproductivo y la producción de frutos y semillas independientemente de la acción de *A. mellifera* (Garibaldi et al., 2013; Rader et al., 2016), esta última es una especie generalista y menos dependiente de la configuración del paisaje que se introduce comercialmente en los ambientes para ser manejada, por lo cual debería ser tomada en cuenta si se pretende incrementar la producción de los cultivos dependientes de polinizadores.

Por otro lado, el hecho de que no haya diferencias en el rendimiento de aceite entre plantas de soja expuestas y aisladas en relación a la distancia y la cantidad de hábitat sugiere que otros factores ambientales o bióticos pueden estar operando simultáneamente, lo cual también puede estar ocasionando las diferencias en la composición de ácidos grasos encontradas. Ya que en este estudio las plantas aisladas representan el caso extremo donde los polinizadores están completamente ausentes, una futura investigación para la soja que mida la deposición de polen a mayores distancias, además de las tasas de visitas, apoyaría con mayor certidumbre que la polinización es el proceso principal que explica el aumento del rendimiento.

### **Polinizadores, deposición de polen y composición del aceite: posibles factores involucrados**

Este trabajo se centró en determinar la existencia de efectos de la polinización por insectos sobre el contenido de aceite y su composición de ácidos grasos ya que estos parámetros de calidad están vinculados al valor comercial de la soja y otras oleaginosas. Como se mencionó anteriormente, los efectos de la polinización por insectos sobre la composición de las semillas han sido escasamente investigados y, a la fecha, son completamente desconocidos para la soja. A menudo se asume que la calidad química de las semillas es determinada sólo por el genotipo del progenitor femenino en el que crecen y no se ve influenciada por el genotipo del polen (Singh et al., 2007). Sin embargo, en algunos cultivos los efectos del genotipo del polen son bien conocidos; en el maíz por ejemplo se sabe que los contenidos de aceite y proteína son influenciados por el genotipo del polen

(Letchworth & Lambert, 1998). En este marco, el efecto positivo de polinizadores sobre el contenido de aceite encontrado en este trabajo lleva a preguntarse cuáles serían los posibles factores que lo expliquen.

Se propone que el incremento en el contenido de aceite de semillas en las plantas expuestas podría ser el resultado de un mayor *fitness* de la semilla producida por polinización cruzada. Como los insectos pueden contribuir con grandes cantidades de polen provenientes de otros individuos, esto aumentaría no sólo la probabilidad de fecundación sino también la posibilidad de fertilización por padres más eficientes a través de la competencia entre polen y/o la selección femenina (Mulcahy, 1979). Como se resume en Lankinen & Green (2015), existen varios caracteres de los granos de polen que pueden afectar su eficiencia (viabilidad, capacidad y velocidad de germinación, tasa de crecimiento del tubo polínico, tamaño del grano, etc.) y los distintos gametófitos masculinos varían respecto a ellos, lo que puede traducirse en una competencia entre los mismos y una fertilidad diferencial. Además, existen caracteres femeninos que pueden incrementar esta competencia, tales como la longitud y superficie del pistilo, el número de óvulos por ovario, la disponibilidad de nutrientes en el estilo, entre otros. De esta manera, la cantidad y calidad del polen depositado en la flor pueden afectar al *fitness* de cada grano de polen al momento de la fecundación y, en consecuencia, repercutir en la descendencia. Sin embargo, la evidencia es escasa y sólo unos pocos estudios lo han puesto a prueba (ver en Skogsmyr & Lankinen, 2002; Moore & Pannell, 2011), encontrándose en varios una relación positiva entre la cantidad y/o la calidad del polen y el vigor de la descendencia (p.e., en *Physalis peruviana*—Chautá-Mellizo et al., 2012).

Por consiguiente, dada la complejidad de los factores involucrados, aún no está clara la magnitud del beneficio de los polinizadores a los distintos componentes del rendimiento de la soja (i.e., número de frutos y semillas, peso de semillas, contenido de aceite, etc.), ni tampoco si esto se debe a un aumento la cantidad de polen depositado en los estigmas, a un aumento en la calidad de dicho polen, o ambos. En cuanto a otras oleaginosas de importancia para la Argentina, este último caso ha sido recientemente demostrado en híbridos de girasol mediante experimentos de polinización manual (Chamer et al., 2015), donde se encontraron relaciones positivas entre la cantidad/calidad del polen y el rendimiento, aunque con resultados no concluyentes para el contenido de aceite. En el presente estudio, no se encontraron relaciones entre la cantidad de polen (i.e., número de granos de polen depositados en los estigmas de las flores) y el contenido de aceite de semillas provenientes de plantas expuestas, ni tampoco para la composición de ácidos grasos. No obstante, como las flores de plantas aisladas recibieron

una menor cantidad de polen (ver en Huais et al., enviado) y se autofecundaron, puede pensarse que dicho polen sea de menor calidad por el hecho provenir del mismo progenitor y que finalmente sea la causa del menor rendimiento de aceite encontrado. En este sentido, Aizen & Harder (2007) proponen que la calidad del polen tiene un mayor impacto que su cantidad debido a que la cantidad sólo se ve limitada al inicio de la recepción del polen por parte del estigma, mientras que la magnitud del efecto de la calidad del polen permanece inalterada durante toda la etapa de recepción. Estas limitaciones por la calidad del polen tienen un mayor impacto aún en especies autocompatibles como la soja. Futuros estudios específicos para *G. max* deberían poner a prueba esta distinción entre calidad y cantidad de polen mediante experimentos de polinización manual y también bajo condiciones naturales ya que, para conservar la calidad del servicio de polinización natural, es importante identificar los polinizadores eficientes y en especial los que facilitan la polinización cruzada.

Siguiendo esta línea de razonamiento, cabe preguntarse cuál sería la influencia de la polinización cruzada en el control genético de la composición de la semilla y en particular del aceite. En la soja, así como en otras oleaginosas, la biosíntesis y acumulación de aceite tienen lugar durante el desarrollo y la maduración seminal (Santos, 2010). La semilla consiste principalmente en el embrión, el cual es genéticamente diferente de la planta madre. Sin embargo, la acumulación de reservas que se da en mayor medida en los cotiledones depende inicialmente del suministro de fotoasimilados y precursores químicos que son transportados y regulados desde la planta madre; posteriormente ya interviene el embrión en su control (Nguyen et al., 2016). Por lo tanto, la composición de la semilla puede depender del genotipo del embrión, del genotipo materno, o ser influenciada por ambos.

El mecanismo de herencia del contenido de aceite y su composición determina la estrategia de selección en programas de mejoramiento de los cultivos. El contenido de aceite en las semillas de soja es un complejo carácter poligénico regido por una serie de genes en su mayoría con efectos pequeños y bajo influencia del ambiente (Eskandari et al., 2013). Estudios genéticos han determinado que la síntesis de aceite en soja es determinada principalmente por el genotipo materno, obteniéndose resultados similares para la composición de ácidos grasos (Singh et al., 2007). Para los ácidos grasos palmítico, esteárico, oleico y linoleico, se ha establecido que su contenido depende en gran parte del genotipo materno, mientras que el contenido de ácido linolénico es afectado por el embrión (Brim et al. 1968; Wilcox & Cavins, 1985; Hailong et al., 2007). Aunque los genes implicados en la síntesis de estos cinco ácidos grasos son conocidos y han sido clonados, el conocimiento

sobre la implicación de estos genes en la síntesis de ácidos grasos *in vivo* (p.e., efectos aditivos, interacciones epistáticas, enzimas y compuestos reguladores de la biosíntesis en las células de la semilla, etc.) es muy limitado (Nguyen et al., 2016). Si existen efectos paternos, como se muestra en el presente estudio al menos para el contenido de aceite, la influencia del polen y de los polinizadores asociados debería ser puesta en consideración para poder interpretar de manera adecuada los resultados obtenidos.

### **Conservación del bosque y producción agrícola: el valor del bosque nativo en la producción de aceite de soja**

El presente estudio reveló que la disminución en la calidad del servicio de polinización en plantas de soja no solo varía en función de la pérdida y fragmentación del bosque (Huais et al., enviado), afectando negativamente algunas variables referidas a la producción de frutos y semillas (Monasterolo et al. 2015; Huais, 2015), sino que también tiene un efecto negativo en otro componente del rendimiento: el contenido de aceite por planta. Si bien la producción de frutos y semillas es una medida más directa de la reproducción vegetal, el rendimiento de aceite en el cultivo puede reflejar de mejor manera el valor económico de la polinización por insectos (Bommarco et al., 2012; Klatt et al. 2014) y, por lo tanto, el interés de los agricultores. Así, aunque un 9,1% de aumento promedio del contenido de aceite puede parecer una leve ventaja para la planta, desde el punto de vista de los productores puede traducirse en una diferencia sustancial en sus ingresos.

Para el mismo sistema en estudio, previamente Huais (2015) reportó que la productividad de semillas (kg/ha) se incrementó un 24% debido a la polinización por insectos. Más precisamente, en lotes de cultivo en ausencia de polinizadores se producirían 4.318.000 kg/ha, mientras que en lotes de cultivo en presencia de polinizadores se producirían 5.348.000 kg/ha (para el cálculo se consideró una densidad de 35 plantas/m<sup>2</sup>). A partir de este resultado se puede analizar cómo esas diferencias se traducen en el rendimiento de aceite por planta. Antes de nada, el hecho de que aumente la producción de semillas por efecto de la polinización por insectos significa que también aumente la producción de aceite. Por ejemplo, si se considera un contenido de aceite promedio igual a 20% para todas las plantas, se obtiene que en lotes de cultivo en ausencia de polinizadores se alcanzaría un rendimiento de aceite de 863.600 kg/ha, mientras que en lotes de cultivo en presencia de polinizadores se alcanzaría un rendimiento igual a 1.069.000 kg/ha. Al mismo tiempo, los experimentos para aislar a las plantas de los insectos demostraron que la falta de

polinización se traduce en una disminución directa en el contenido de aceite. Así, al analizar esta diferencia (9,1% más) en términos de productividad por hectárea se obtiene que en los lotes de cultivo en ausencia de polinizadores se alcanzaría un rendimiento de aceite de 816.534 kg/ha, mientras que en lotes de cultivo en presencia de polinizadores se alcanzaría un rendimiento de aceite igual a 1.103.292 kg/ha. Esta diferencia representa en total un 35% más de rendimiento de aceite debido a la polinización por insectos. Como resultado, se observa que a pesar de que las diferencias entre el contenido de aceite de las plantas individuales sean leves, estas diferencias pueden magnificarse al considerar el rendimiento de grano de los lotes de cultivo con un muy buen servicio de polinización.

Por otro lado, si bien se demostró que el acceso diferencial de los polinizadores a las flores repercute en el rendimiento, la densidad de plantas presente en el lote de cultivo puede ser un factor importante a la hora de explicar no sólo las diferencias en el rendimiento por hectárea sino también las diferencias en el contenido de aceite de las plantas individuales. En el presente estudio la densidad de plantas fue variable entre los lotes de cultivo de los distintas localidades (26, 38 y 46 plantas/m<sup>2</sup>; no se realizaron mediciones para los distintos sitios de muestreo), lo cual podría haber influenciado en una mayor competencia entre plantas y, finalmente, en un menor rendimiento. Al respecto, existen evidencias (Egli, 1988; Rodríguez et al., 2015) que indican un incremento de la competencia por recursos (luz, agua, nutrientes, etc.) entre las plantas de soja a mayores densidades de éstas, afectando negativamente la producción de semillas más allá del aumento del número de plantas. Además, la densidad óptima de la soja depende de la variedad, la ubicación geográfica, la estación y de las prácticas agrícolas (Rahman et al., 2011). Si bien la información sobre los efectos de la densidad de plantas en la composición de semillas de soja es limitada, Bellaloui (2014) señala que la densidad de plantas en el cultivo también puede afectar el llenado de las semillas, impactando finalmente en el contenido de aceite. Como se plantea en Egli (1988), una densidad determinada de plantas/m<sup>2</sup> generaría un máximo rendimiento/ha y una mínima competencia entre plantas vecinas, por lo que este factor también debería ser tenido en cuenta por los productores para optimizar la producción de aceite.

Para terminar, más allá de las limitaciones y la simplicidad de los cálculos expuestos, esta aproximación permite ilustrar de manera clara el valor económico potencial de la conservación del bosque en los paisajes agrícolas (particularmente en soja) teniendo en cuenta únicamente el servicio de polinización. Incluir otros servicios proporcionados por estos fragmentos (p.e., control de plagas, almacenamiento de carbono, purificación de agua,

reciclado de nutrientes, etc.) le daría mayor precisión a las estimaciones y aumentarían su valor (Mitchell et al., 2014; Decocq et al., 2016). Teniendo en cuenta la importancia del efecto de los cambios masivos del uso y cobertura de la tierra debidos a la agricultura extensiva y su incidencia sobre el servicio ecosistémico polinización (IPBES, 2016), este estudio muestra que es posible incrementar la producción de los cultivos dependientes de polinizadores y a su vez garantizar el mantenimiento y el manejo adecuado de la biodiversidad.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio muestran que, aunque la soja es considerada en general como autocompatible, la polinización cruzada resulta necesaria no sólo para mejorar la producción de frutos y semillas, sino también para aumentar el rendimiento de aceite y el valor comercial de la soja. Mientras que el contenido de aceite por planta se vio incrementado por la exposición a insectos polinizadores, no se encontraron variaciones similares en la composición de ácidos grasos. Los gradientes de visitas de polinizadores y de deposición polínica a través de los sitios con distinta cantidad de bosque nativo remanente y a distintas distancias al borde del cultivo-bosque no se vieron reflejados en un gradiente de características similares al analizar el rendimiento de aceite. Por lo tanto, no se puede esperar una relación simple y directa entre la disponibilidad de polinizadores y el beneficio económico en términos de productividad. Es posible la existencia de otros factores involucrados y una mayor escala espacial a la cual se vean afectados los componentes del rendimiento estudiados. De todas maneras los resultados muestran que el rendimiento de aceite puede verse influenciado por efecto de polinizadores en forma más importante que la que se pensaba, por lo cual esto también debería ser considerado en el estudio de las relaciones entre el servicio de polinización y la producción de cultivos. En este sentido, deberían realizarse pruebas similares donde se consideren un mayor número de paisajes y fragmentos que conformen un gradiente continuo de fragmentación para llegar a conclusiones más generales. Resulta de interés, asimismo, evaluar si la polinización puede afectar la síntesis y acumulación de otros componentes de la semilla (proteínas, carbohidratos).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal, D. K., Billore, S. D., Sharma, A. N., Dupare, B. U., & Srivastava, S. K. 2013. Soybean: introduction, improvement, and utilization in India—problems and prospects. *Agricultural Research*, 2(4), 293-300.
- Aguilar, R., Ashworth, L., Galetto, L., & Aizen, M. A. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology letters*, 9(8), 968-980.
- Aizen, M. A., & Harder, L. D. 2007. Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology*, 88(2), 271-281.
- Aizen, M. A., Garibaldi, L. A., & Dondo, M. 2009. Expansión de la soja y diversidad de la agricultura argentina. *Ecología austral*, 19(1), 45-54.
- AOCS. 1998. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society* (5th ed.). AOCS Press Champaign, USA.
- Bartomeus, I., & Winfree, R. 2013. Pollinator declines: reconciling scales and implications for ecosystem services. *F1000Research*, 2.
- Bartomeus, I., Potts, S. G., Steffan-Dewenter, I., Vaissiere, B. E., Wojciechowski, M., Krewenka, K. M., Tscheulin, T., Roberts, S. P. M., Szentgyorgyi, H., Westphal, C., & Bommarco, R. 2014. Contribution of insect pollinators to crop yield and quality varies with agricultural intensification. *PeerJ*, 2, e328.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., & Walker, S. 2015. Fitting LinearMixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48.
- Bellaloui, N., Bruns, H. A., Abbas, H. K., Mengistu, A., Fisher, D. K., & Reddy, K. N. 2015. Agricultural practices altered soybean seed protein, oil, fatty acids, sugars, and minerals in the Midsouth USA. *Frontiers in plant science* 6.
- Bellaloui, N., Mengistu, A., Walker, E. R., & Young, L. D. 2014. Soybean seed composition as affected by seeding rates and row spacing. *Crop Science*, 54(4), 1782-1795.
- Blanche, K. R., Ludwig, J. A., & Cunningham, S. A. 2006. Proximity to rainforest enhances pollination and fruit set in orchards. *Journal of applied ecology*, 43(6), 1182-1187.
- Blettler, D., Fagúndez, G., Trossero, A., & Fernández, E. 2011. Efecto de la polinización entomófila (especialmente asociada a *Apis mellifera* L.) sobre el rendimiento en Soja [*Glycine max* (L.) Merr.]. Quinto Congreso de la Soja del Mercosur, Rosario, Argentina.
- Blitzer, E. J., Dormann, C. F., Holzschuh, A., Klein, A. M., Rand, T. A., & Tscharntke, T. 2012. Spillover of functionally important organisms between managed and natural habitats. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 146(1), 34-43.

- Bommarco, R., Biesmeijer, J. C., Meyer, B., Potts, S. G., Pöyry, J., Roberts, S. P., Steffan-Dewenter, I., & Öckinger, E. 2010. Dispersal capacity and diet breadth modify the response of wild bees to habitat loss. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 207, 2075-2082.
- Bommarco, R., Kleijn, D., & Potts, S. G. 2013. Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends in ecology & evolution*, 28(4), 230-238.
- Bommarco, R., Marini, L., & Vaissière, B. E. 2012. Insect pollination enhances seed yield, quality, and market value in oilseed rape. *Oecologia*, 169(4), 1025-1032.
- Boydak, E., Alpaslan, M., Hayta, M., Gerçek, S., & Simsek, M. 2002. Seed composition of soybeans grown in the Harran region of Turkey as affected by row spacing and irrigation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(16), 4718-4720.
- Brim, C. A., Schutz, W. M., & Collins, F. I. 1968. Maternal effect on fatty acid composition and oil content of soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science*, 8(5), 517-518.
- Brittain, C., Kremen, C., Garber, A., & Klein, A. M. 2014. Pollination and plant resources change the nutritional quality of almonds for human health. *PloS one*, 9(2), e90082.
- Burton, J. W., Miller, J. F., Vick, B. A., Scarth, R., & Holbrook, C. C. 2004. Altering fatty acid composition in oil seed crops. *Advances in agronomy*, 84, 273-306.
- Cáceres, D. M. 2015. Accumulation by Dispossession and Socio-Environmental Conflicts Caused by the Expansion of Agribusiness in Argentina. *Journal of Agrarian Change*, 15(1), 116-147.
- Calzada, J., & Rossi, G. 2016. Commodities: 84% de la soja argentina se exporta como grano, harina, aceite y biodiesel. *Bolsa de Comercio de Rosario, Informativo Semanal*. Año XXXIII - N° Edición 1750.
- Carrizo García, C., Nepi, M., & Pacini, E. 2016. It is a matter of timing: asynchrony during pollen development and its consequences on pollen performance in angiosperms—a review. *Protoplasma*, 254(1), 57-73.
- Carvalho, L. G., Veldtman, R., Shenkute, A. G., Tesfay, G. B., Pirk, C. W. W., Donaldson, J. S., & Nicolson, S. W. 2011. Natural and within-farmland biodiversity enhances crop productivity. *Ecology letters*, 14(3), 251-259.
- Chacoff, N. P., Morales, C. L., Garibaldi, L. A., Ashworth, L., & Aizen, M. A. 2010. Pollinator dependence of Argentinean agriculture: current status and temporal analysis. *American Journal of Plant Science Biotech* 3: 106-116.
- Chamer, A. M., Medan, D., Mantese, A. I., & Bartoloni, N. J. 2015. Impact of pollination on sunflower yield: Is pollen amount or pollen quality what matters?. *Field Crops Research*, 176, 61-70.
- Chautá-Mellizo, A., Campbell, S. A., Bonilla, M. A., Thaler, J. S., & Poveda, K. 2012. Effects of natural and artificial pollination on fruit and offspring quality. *Basic and Applied Ecology*, 13(6), 524-532.

- Chiari, W. C., Toledo, V. D. A. A. D., Hoffmann-Campo, C. B., Rúvolo-Takasusuki, M. C. C., Toledo, T. C. S. D. O., & Lopes, T. D. S. 2008. Pollination by *Apis mellifera* in transgenic soy (*Glycine max* (L.) Merrill) Roundup Ready™ cv. BRS 245 RR and conventional cv. BRS 133. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 30(2), 267-271.
- Chiari, W. C., Toledo, V. D. A. A. D., Rúvolo-Takasusuki, M. C. C., Oliveira, A. J. B. D., Sakaguti, E. S., Attencia, V. M., Martins Costa, F. & Mitsui, M. H. 2005. Pollination of soybean (*Glycine max* L. Merrill) by honeybees (*Apis mellifera* L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(1), 31-36.
- Clemente, T. E., & Cahoon, E. B. 2009. Soybean oil: genetic approaches for modification of functionality and total content. *Plant physiology*, 151(3), 1030-1040.
- Decocq, G., Andrieu, E., Brunet, J., Chabrierie, O., De Frenne, P., De Smedt, P., Deconchat, M., Diekmann, M., Ehrmann, S., Giffard, B., Mifsud, E. G., Hansen, K., Hermy, M., Kolb, A., Lenoir, J., Liira, J., Moldan, F., Prokofieva, I., Rosenqvist, L. Varela, E., Valdés, A., Verheyen, K., & Wulf, M. 2016. Ecosystem services from small forest patches in agricultural landscapes. *Current Forestry Reports*, 2(1), 30-44.
- Dicks, B.L. V, Viana, B., Bommarco, R., Brosi, B., Arizmendi, C., Cunningham, S.A., Galetto, L., Hill, R., Lopes, V., Pires, C., & Taki, H. 2016 Ten policies for pollinators. What governments can do to safeguard pollination services. *Science*, 354, 975–976.
- Egli, D. B. 1988. Plant density and soybean yield. *Crop Science*, 28(6), 977-981.
- Erickson, E. H., Berger, G. A., Shannon, J. G., & Robins, J. M. 1978. Honey bee pollination increases soybean yields in the Mississippi Delta region of Arkansas and Missouri. *Journal of Economic Entomology*, 71(4), 601-603.
- Eskandari, M., Cober, E. R., & Rajcan, I. 2013. Genetic control of soybean seed oil: I. QTL and genes associated with seed oil concentration in RIL populations derived from crossing moderately high-oil parents. *Theoretical and applied genetics*, 126(2), 483-495.
- FAOSTAT. 2016. Datos disponibles en: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S/>. Último acceso en julio de 2017.
- Ferreira, P. A., Boscolo, D., & Viana, B. F. 2013. What do we know about the effects of landscape changes on plant–pollinator interaction networks?. *Ecological Indicators*, 31, 35-40.
- Fox, J. 2003. Effect Displays in R for Generalised Linear Models. *Journal of Statistical Software*, 8, 1–27.
- Galetto, L., Aguilar, R., Musicante, M., Astegiano, J., Ferreras, A., Jausoro, M., Torres, C., Ashworth, L., & Eynard, C. 2007. Fragmentación de hábitat, riqueza de polinizadores, polinización y reproducción de plantas nativas en el Bosque Chaqueño de Córdoba, Argentina. *Ecología Austral*, 17(1), 67-80.

- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Kremen, C., Morales, J.M., Bommarco, R., Cunningham, S.A., Carvalheiro, L.G., Chacoff, N.P., Dudenhöffer, J.H., Greenleaf, S.S., Holzschuh, A., Isaacs, R., Krewenka, K., Mandelik, Y., Mayfield, M.M., Morandin, L.A., Potts, S.G., Ricketts, T.H., Szentgyörgyi, H., Viana, B.F., Westphal, C., Winfree, R. & Klein, A.M. 2011. Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology Letters*, 14, 1062–1072.
- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M.A., Bommarco, R., Cunningham, S.A., Kremen, C. & Carvalheiro, L.G. 2013. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science*, 339(6127), 1608-1611.
- González, E., Salvo, A., Defagó, M. T., & Valladares, G. 2016. A moveable feast: Insects moving at the forest-crop interface are affected by crop phenology and the amount of forest in the landscape. *PloS one*, 11(7), e0158836.
- Grau, H. R., Aide, T. M., & Gasparri, N. I. 2005. Globalization and soybean expansion into semiarid ecosystems of Argentina. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 34(3), 265-266.
- Hailong, N. I. N. G., Wenxia, L. I., & Wenbin, L. I. 2007. Analysis of embryo, cytoplasm and maternal effects on fatty acid components in soybean (*Glycine max* Merrill.). *Frontiers of Agriculture in China*, 1(3), 276-280.
- Holzschuh, A., Dudenhöffer, J. H., & Tschardtke, T. 2012. Landscapes with wild bee habitats enhance pollination, fruit set and yield of sweet cherry. *Biological Conservation*, 153, 101-107.
- Hom, N. H., Schierholt, A., Möllers, C., & Becker, H. C. 2015. Pollen genotype effects on seed quality traits in winter oilseed rape. *Crop Science*, 55(2), 493-500.
- Hoyos, L. E., Cingolani, A. M., Zak, M. R., Vaieretti, M. V., Gorla, D. E., & Cabido, M. R. 2013. Deforestation and precipitation patterns in the arid Chaco forests of central Argentina. *Applied Vegetation Science*, 16(2), 260-271.
- Huais, P. Y. 2015. Evaluación experimental de la polinización y la productividad de cultivos de soja en relación a la pérdida de bosque a diferentes escalas espaciales. (Tesina de Grado. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba).
- IPBES. 2016. Summary for policymakers of the assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production. S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, H. T. Ngo, J. C. Biesmeijer, T. D. Breeze, L. V. Dicks, L. A. Garibaldi, R. Hill, J. Settele, A. J. Vanbergen, M. A. Aizen, S. A. Cunningham, C. Eardley, B. M. Freitas, N. Gallai, P. G. Kevan, A. Kovács-Hostyánszki, P. K. Kwapong, J. Li, X. Li, D. J. Martins, G. Nates-Parra, J. S. Pettis, R. Rader, & B. F. Viana (eds.). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 36 pages.

- Kasina, J. M., Nderitu, J., Nyamasyo, G., & Oronje, M. L. 2007. Sunflower pollinators in Kenya: does diversity influence seed yield? *Afr. Crop Sci. Conf. Proc.* 8, 1149-1153.
- Klatt, B. K., Holzschuh, A., Westphal, C., Clough, Y., Smit, I., Pawelzik, E., & Tschardtke, T. 2014. Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *Proc. R. Soc. B.* Vol. 281, No. 1775, p. 20132440. The Royal Society.
- Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tschardtke, T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274(1608), 303-313.
- Kremen, C., Williams, N. M., & Thorp, R. W. 2002. Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(26), 16812-16816.
- Kremen, C., Williams, N. M., Aizen, M. A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., & Winfree, R. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology letters*, 10(4), 299-314.
- Lafont, J. J., Durango, L. C., & Aramendiz, H. 2014. Estudio químico del aceite obtenido a partir de siete variedades de soya (*Glycine max* L.). *Información tecnológica*, 25(2), 79-86.
- Lankinen, Å., & Green, K. K. 2015. Using theories of sexual selection and sexual conflict to improve our understanding of plant ecology and evolution. *AoB Plants*, 7, plv008.
- Letchworth, M. B., & Lambert, R. J. 1998. Pollen parent effects on oil, protein, and starch concentration in maize kernels. *Crop Science*, 38(2), 363-367.
- Maestri, D. M., Guzmán, G. A., & Giorda, L. M. 1998. Correlation between seed size, protein and oil contents, and fatty acid composition in soybean genotypes. *Grasas y aceites*, 49(5-6), 450-453.
- Maestri, D. M., Labuckas, D. O., Meriles, J. M., Lamarque, A. L., Zygadlo, J. A., & Guzmán, C. A. 1998. Seed composition of soybean cultivars evaluated in different environmental regions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(4), 494-498.
- Maestri, D., Martínez, M., Bodoira, R., Rossi, Y., Oviedo, A., Pierantozzi, P., & Torres, M. 2015. Variability in almond oil chemical traits from traditional cultivars and native genetic resources from Argentina. *Food Chemistry* 170, 55-61.
- Martins, K. T., Gonzalez, A., & Lechowicz, M. J. 2015. Pollination services are mediated by bee functional diversity and landscape context. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 200, 12-20.
- McGregor, S. E. 1976. *Insect pollination of cultivated crop plants*(Vol. 496). Agricultural Research Service, US Department of Agriculture.
- Medic, J., Atkinson, C., & Hurburgh Jr, C. R. 2014. Current knowledge in soybean composition. *Journal of the American oil chemists' society*, 91(3), 363-384.
- Miguet, P., Jackson, H. B., Jackson, N. D., Martin, A. E., & Fahrig, L. 2016. What determines the spatial extent of landscape effects on species?. *Landscape Ecology*, 31(6), 1177-1194.

- Milfont, M. D. O., Rocha, E. E. M., Lima, A. O. N., & Freitas, B. M. 2013. Higher soybean production using honeybee and wild pollinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. *Environmental chemistry letters*, 11(4), 335-341.
- Mitchell, M. G., Bennett, E. M., & Gonzalez, A. 2014. Forest fragments modulate the provision of multiple ecosystem services. *Journal of Applied Ecology*, 51(4), 909-918.
- Monasterolo, M., Musicante, M. L., Valladares, G. R., & Salvo, A. 2015. Soybean crops may benefit from forest pollinators. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 202, 217-222.
- Monsanto. 2011. Maximizing soybean yield potential. *Agronomic spotlight*. Monsanto technology development. Disponible en: <http://www.merschmanseeds.com/pdfs/resources/agronomy/agronomic-spotlight-maximizing-soybean-yield-potential.pdf>. Último acceso en julio de 2017.
- Moore, J. C., & Pannell, J. R. 2011. Sexual selection in plants. *Current biology*, 21(5), R176-R182.
- Moreira, E. F., Boscolo, D., & Viana, B. F. 2015. Spatial heterogeneity regulates plant-pollinator networks across multiple landscape scales. *PloS one*, 10(4), e0123628.
- Moreti, A. C. D. C. C., da Silva, E. C. A., Alves, M. L. T. M. F., & da Silva, R. M. B. 1998. Observações sobre a polinização entomófila da cultura de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Boletim de Indústria Animal*, 55(1), 91-94.
- Mulcahy, D. L. 1979. The rise of the angiosperms: a genecological factor. *Science*, 206(4414), 20-23.
- Negussie, A., Achten, W. M., Verboven, H. A., Aerts, R., Sloan, R., Hermy, M., & Muys, B. 2015. Conserving open natural pollination safeguards *Jatropha* oil yield and oil quality. *Bioenergy Research*, (1), 340-349.
- Nguyen, T. Q., Kisiala, A., Andreas, P., Neil Emery, R. J., & Narine, S. 2016. Soybean seed development: fatty acid and phytohormone metabolism and their interactions. *Current genomics*, 17(3), 241-260.
- Nicole, W. 2015. Pollinator power: nutrition security benefits of an ecosystem service. *Environmental health perspectives*, 123(8), A210.
- Pengue, W. A. 2005. Transgenic crops in Argentina: the ecological and social debt. *Bulletin of Science, Technology & Society*, 25(4), 314-322.
- Piquer-Rodríguez, M., Torella, S., Gavier-Pizarro, G., Volante, J., Somma, D., Ginzburg, R., & Kuemmerle, T. 2015. Effects of past and future land conversions on forest connectivity in the Argentine Chaco. *Landscape Ecology*, 30(5), 817.
- Potts S.G., Biesmeijer J.C., Kremen C., Neumann P., Schweiger O., & Kunin W.E. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345–353.
- QGIS Development Team. 2016. QGIS Geographic Information System. Disponible en: <http://qgis.osgeo.org/>.

- R Core Development Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. Disponible en: <http://www.R-project.org/>.
- Rader, R., Bartomeus, I., Garibaldi, L. A., Garratt, M. P., Howlett, B. G., Winfree, R., ... & Bommarco, R. 2016. Non-bee insects are important contributors to global crop pollination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(1), 146-151.
- Rahman, M. M., Hossain, M. M., Anwar, M. P., & Juraimi, A. S. 2011. Plant density influence on yield and nutritional quality of soybean seed. *Asian Journal of Plant Sciences*, 10(2), 125.
- Ricketts, T. H., Daily, G. C., Ehrlich, P. R., & Michener, C. D. 2004. Economic value of tropical forest to coffee production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(34), 12579-12582.
- Ricketts, T. H., Regetz, J., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Bogdanski, A., Gemmill-Herren B., Greenleaf, S. S., Klen A. M., Mayfield, M. M., Morandin, L. A., Ocheing, A., & Viana, B. F. 2008. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns?. *Ecology letters*, 11(5), 499-515.
- Ridner, E. 2006. Soja, propiedades nutricionales y su impacto en la salud. Grupo QSA, Sociedad Argentina de Nutrición, Buenos Aires.
- Rodríguez, H., De Battista, J., Arias, N., García, E., Sosa, F., Alaluf, C. & Rochás, M. 2015. Efectos de la reducción de la densidad de siembra en soja. En: *Cultivo de Soja en el centro este de E. R. Resultados 2014/15*. INTA EEA Concepción del Uruguay.
- Rotundo, J. L., & Westgate, M. E. 2009. Meta-analysis of environmental effects on soybean seed composition. *Field Crops Research*, 110(2), 147-156.
- Sabaté, S., Olea, I., Vinciguerra, F., & Raimondo, J. 2007. Variedades de Soja Tolerantes a Herbicidas del Grupo Químico Sulfonilureas (STS), una nueva herramienta para el manejo del sorgo de Alepo resistente a glifosato en el NOA. *El Cultivo de la Soja en el Noroeste Argentino, Campaña 2008*, 189-197.
- Sandhu, H., Waterhouse, B., Boyer, S., & Wratten, S. 2016. Scarcity of ecosystem services: an experimental manipulation of declining pollination rates and its economic consequences for agriculture. *PeerJ*, 4, e2099.
- Santos, D. J. 2010. Fenología en el cultivo de soja: una "hoja de ruta" (2<sup>da</sup> ed.). INTA EEA Paraná.
- Santos, E., Mendoza, Y., Vera, M., Carrasco-Letelier, L., Díaz, S., & Invernizzi, C. 2013. Aumento en la producción de semillas de soja (*Glycine max*) empleando abejas melíferas (*Apis mellifera*). *Agrociencia Uruguay*, 17(1), 81-90.
- Singh, R. J., Nelson, R. L., & Chung, G. H. 2007. Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement. *Oilseed crops*, 4, 13-50.
- Singh, R. P., & Singh, P. N. 1992. Impact of bee pollination on seed yield, carbohydrate composition and lipid composition of mustard seed. *Journal of Apicultural Research*, 31(3-4), 128-133.

- Skogsmyr, I. O., & Lankinen, Å. 2002. Sexual selection: an evolutionary force in plants? *Biological Reviews*, 77(4), 537-562.
- Torrella, S. A., Ginzburg, R. G., Adámoli, J. M., & Galetto, L. 2013. Changes in forest structure and tree recruitment in Argentinean Chaco: Effects of fragment size and landscape forest cover. *Forest ecology and management*, 307, 147-154.
- Valencia, R., & Ligarreto, M. 2010. Mejoramiento genético de la soya (*Glycine max* [L.] Merrill) para su cultivo en la altillanura colombiana: una visión conceptual prospectiva. *Agronomía Colombiana*, 28(2), 155-163.
- Villarroel, D. D., Vélez, J. P., Scaramuzza, F. M., & Juan, N. A. 2016. Evaluación de la calidad del grano de tres variedades de soja en distintos ambientes del centro de la provincia de Córdoba. 15° Curso Internacional de Agricultura y Ganadería de Precisión con agregado de valor en origen. INTA EEA Manfredi.
- Werteker, M., Lorenz, A., Johannes, H., Berghofer, E., & Findlay, C. S. 2010. Environmental and varietal influences on the fatty acid composition of rapeseed, soybeans and sunflowers. *Journal of Agronomy and Crop Science* 196: 20-27.
- Wheelock, M. J., Rey, K. P., & O'Neal, M. E. 2016. Defining the Insect Pollinator Community Found in Iowa Corn and Soybean Fields: Implications for Pollinator Conservation. *Environmental Entomology*, 45(5), 1099-1106.
- Wickham, H. (2009). *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer New York, 1(2), 3.
- Wilcox, J. R., & Cavins, J. F. 1985. Inheritance of low linolenic acid content of the seed oil of a mutant in *Glycine max*. *Theoretical and applied genetics*, 71(1), 74-78.
- Zak, M. R., Cabido, M., & Hodgson, J. G. 2004. Do subtropical seasonal forests in the Gran Chaco, Argentina, have a future?. *Biological conservation*, 120(4), 589-598.

## **AGRADECIMIENTOS**

Alrededor de esta Tesina existe una red de personas e instituciones que, de muchas y distintas maneras, contribuyeron a su realización. Quiero dar las gracias a las siguientes:

Al IMBIV, por permitirme realizar mis tareas en sus instalaciones. También a CONICET, SECyT-UNC y SYNGENTA, por los fondos otorgados para realizar este trabajo. Asimismo, al Consejo Interuniversitario Nacional (CIN) que me otorgó una beca en el marco de mi Tesina de grado.

A la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales y a la Universidad Nacional de Córdoba, donde pude realizar y disfrutar de mis estudios durante estos años. En particular, a las y los docentes de la Carrera de Ciencias Biológicas por todo lo transmitido durante este proceso de formación.

Quiero agradecer a mis directores, Leonardo Galetto y Damián Maestri, por dirigir este proyecto, por su gran aporte en mi formación y por su pleno apoyo y disposición. Sus comentarios, recomendaciones y críticas han permitido que se mejorara sustancialmente el trabajo. Asimismo, a otros miembros del Instituto por su aporte y colaboración: a Leonardo Amarilla, Pablo Huais, Gabriel Grilli, Romina Bodoira y Damián Barrionuevo. También a Daniela Schürerer por las tareas compartidas en el laboratorio.

Doy gracias a mis amigos/as y compañeros/as y de la Carrera por los saberes, momentos y mates compartidos. Y, como siempre, a Agus, Lore y Martín por tantos años de amistad y felices momentos.

Por último, y con la mayor importancia, quiero agradecer profundamente a mi familia, quien me ha soportado durante esta prolongada etapa. A Elian, Ale, Yani y Tizi por compartir conmigo el día a día. A mis queridos padres, Susana y Walter, por su apoyo permanente e incondicional, fomentando desde siempre mi interés por aprender.

Córdoba, 17 Agosto de 2017.

