

**Study of the solitary bee *Osmia caerulescens* L. in
traditional cherry orchard agroecosystems:
offspring characteristics and nutritional strategies**

Estudio de la abeja solitaria *Osmia caerulescens* L. en
agroecosistemas tradicionales de cultivo de cerezo:
características de la descendencia y estrategias nutricionales



FACULTAD DE BIOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA ANIMAL, PARASITOLOGÍA,
ECOLOGÍA, EDAFOLOGÍA Y QUÍMICA AGRÍCOLA

ÁREA DE ZOOLOGÍA

TESIS DOCTORAL

**Study of the solitary bee *Osmia caerulescens* L. in
traditional cherry orchard agroecosystems: offspring
characteristics and nutritional strategies**

Estudio de la abeja solitaria *Osmia caerulescens* L. en
agroecosistemas tradicionales de cultivo de cerezo:
características de la descendencia y estrategias nutricionales.

Memoria presentada por la Licenciada en Biología Estefanía Tobajas Talaván
para optar al título de Doctor en Biología por la Universidad de Salamanca.

Salamanca 2021

Los Doctores **Dña. Laura Baños Picón**, Profesor Contratado Doctor de la Universidad de Salamanca; y **D. Josep Daniel Asís Pardo**, Catedrático de Zoología de la Universidad de Salamanca

Certifican que:

la Tesis Doctoral titulada “**Study of the solitary bee *Osmia caerulescens* L. in traditional cherry orchard agroecosystems: offspring characteristics and nutritional strategies** (Estudio de la abeja solitaria *Osmia caerulescens* L. en agroecosistemas tradicionales de cultivo de cerezo: características de la descendencia y estrategias nutricionales)” que presenta **Dña. Estefanía Tobajas Talaván** para optar al título de Doctor en Biología por la Universidad de Salamanca, ha sido realizada bajo su dirección, en el Área de Zoología de la Facultad de Biología de la Universidad de Salamanca y reúne todos los requisitos científicos y formales necesarios para su defensa.

En Salamanca, a 25 de junio de 2021.

Fdo.: Laura Baños Picón

Fdo. Josep D. Asís Pardo

Agradecimientos

Muchas son las personas que de una manera u otra me habéis acompañado durante este largo proceso y a las que quiero dedicar estas líneas.

Primero agradecer a mis directores, Laura y Josep, por toda la dedicación que me habéis prestado. Por ayudarme no solo a crecer como investigadora sino también como persona. Gracias por contagiarme vuestra pasión y enseñarme a ver los paisajes agrícolas desde muchos puntos de vista. Porque os habéis convertido en mi MINI familia y porque ha sido un verdadero placer recorrer este camino a vuestro lado. Muchísimas gracias.

Darles las gracias a mis padres porque sin vosotros nada de esto hubiera sido posible. Gracias por vuestro apoyo y esfuerzo, porque siempre estáis ahí cuando os necesito. Gracias por los valores que me habéis enseñado, por educarme en la constancia, porque como bien dices mamá...todo llega. Gracias por creer en mí. También quiero darles las gracias a mis hermanos, siempre mostrando interés y animándome en todo lo que hago. Noelia, gracias por las horas recorriendo el valle, pasando calor y comiendo bajo los cerezos. Jesús, gracias por estar siempre que te necesito. Sabéis que los dos sois un ejemplo para mí. Agradecerle al resto de mi familia, abuelos, tías, tíos y primos por interesaros en lo que hago y sentiros orgullosos, y a mis estrellas del cielo que sé que hoy brillaréis con más fuerza.

Por supuesto darle las gracias a Sera y Sari, porque todo esto también es gracias a vosotros. Gracias porque siempre estáis pendientes de mí y de lo que necesito. Gracias por todo el apoyo que me habéis prestado y por hacerme sentir como una hija.

No quiero olvidarme de los compañeros de departamento, Natalia y Víctor, que también formáis parte de mi MINI familia. Gracias por todos los momentos que hemos compartido, que no son pocos, porque Víctor siempre será Pamela-Leticia y porque Natalia, detrás de abril siempre irá cerral.

Darle las gracias a las personas que me acogieron durante la estancia en Suecia, desde la universidad hasta las personas con las que conviví, porque todas, de una

manera u otra, hicisteis que mi estancia fuera más fácil. Gracias por permitirme disfrutar de una experiencia tan enriquecedora.

Por supuesto, dar las gracias a mis amigas y amigos porque siempre os habéis interesado en lo que hago y porque las abejas ya no son lo mismo para vosotros. A Sari y María, mi apoyo en Salamanca. Sari nunca olvidaré la ayuda que me prestaste cuando todo se volvía negro, porque no te importó y lo único que preguntaste fue ¿cuándo nos vamos? María, gracias, gracias por todo. Gracias por estar pendiente de mí, por animarme, porque, aunque los últimos tiempos no han sido fáciles, siempre estás ahí, porque mi último empujón, también ha sido el tuyo. Gracias a las dos por todo.

También quiero dar las gracias a Maribel porque no solo has sido mi profesora de inglés, sino que he conocido a una persona fantástica a la que siempre llevaré dentro. A Javi, por las oportunidades prestadas y a Allende, por sus momentos y sus risas incondicionales. A mi compañero de cuatro patas, por todos los años vividos juntos...te echo de menos.

Por último, pero no por ello menos importante, darle las gracias a Alberto. Gracias por tu apoyo, por todo el interés mostrado, porque sé que a veces no ha sido fácil, pero siempre has estado a mi lado. Gracias por tu paciencia y tu comprensión. Porque “todo lo que me das, te estaré siempre agradecida”. Gracias por estar siempre a mi lado.

Index / Índice

Chapter 1

Introduction

1.1. Traditional farming systems	1
1.2. Pollination and solitary bees	2
1.3. Landscape context at different spatial scales	4
1.4. Top-down and bottom-up forces	6
1.4.1. Natural enemies	7
1.4.2. Resources	8
1.4.2.1. Pollen	9
1.5. <i>Osmia caerulea</i> (Linnaeus, 1758)	11
1.6. Study area: Jerte valley	12
1.7. Aims and objectives of the thesis	14

Introducción

1.1. Sistemas agrícolas tradicionales	17
1.2. Polinización y abejas solitarias	18
1.3. Contexto del paisaje a diferentes escalas espaciales	21
1.4. Fuerzas descendentes (<i>top-down</i>) y ascendentes (<i>bottom-up</i>)	23
1.4.1. Enemigos naturales	24
1.4.2. Recursos	25
1.4.2.1. Polen	26
1.5. <i>Osmia caerulea</i> (Linnaeus, 1758)	28
1.6. Área de estudio: valle del Jerte.....	30
1.7. Objetivos de la tesis	31
Referencias/ <i>References</i>	33

Chapter 2

Effects of hillside aspect, landscape features, and kleptoparasitism on the reproductive success of the solitary bee *Osmia caerulescens*

Efectos de la orientación, las características del paisaje y el cleptoparasitismo sobre el éxito reproductor de la abeja solitaria *Osmia caerulescens*

Resumen	43
Abstract	45
1. Introduction	47
2. Materials and methods	50
2.1. Study area	50
2.2. Landscape and site selection	51
2.3. Trap-nests and data collection	53
2.4. Statistical analysis	55
3. Results	57
4. Discussion	60
References	64

Chapter 3

Pollen use by the solitary bee *Osmia caerulescens* in cherry orchard agroecosystems in Spain

Empleo del polen por la abeja solitaria *Osmia caerulescens* en agroecosistemas de cultivo de cerezo en España

Resumen	73
Abstract	75
1. Introduction	77
2. Materials and methods	80
2.1. Bee sampling	80
2.2. Pollen sampling and pollen identification	82
2.3. Data analysis	83

3. Results	84
4. Discussion	89
References	93

Chapter 4

Landscape composition and agricultural habitat types influence pollen diet of a solitary bee in cherry orchard agroecosystems

La composición del paisaje y los tipos de hábitats agrícolas influyen en la dieta de polen de una abeja solitaria en agroecosistemas de cultivo de cerezo

Resumen	101
Abstract	103
1. Introduction	105
2. Materials and methods	107
2.1. Study region and study sites	107
2.2. Quantifying landscape context.....	109
2.3. Trap-nests and bee collection	110
2.4. Pollen identification	111
2.3. Data analysis	112
3. Results	113
3.1. Pollen richness and pollen diversity	113
3.1. Pollen composition dissimilarity	117
4. Discussion	121
References	125
Supplementary material	131

Chapter 5

Conclusions	137
Conclusiones	141

Chapter 1

Introduction



1.1. Traditional farming systems

Throughout Europe, farmland comprises the major part of land use, namely 40 % of the land is agricultural land (European Commission, 2011). Intensive agriculture, through land conversion and changes in conventional agricultural practices to increase crop yields, poses major threats to biodiversity (Simoncini *et al.*, 2019). Fortunately, in spite of the rapid change of farming practices in the last decades, some traditional agroecosystems are still present in Europe, which have been distinguished as High Nature Value (HNV) (Palacín & Alonso, 2018) (Fig. 1).

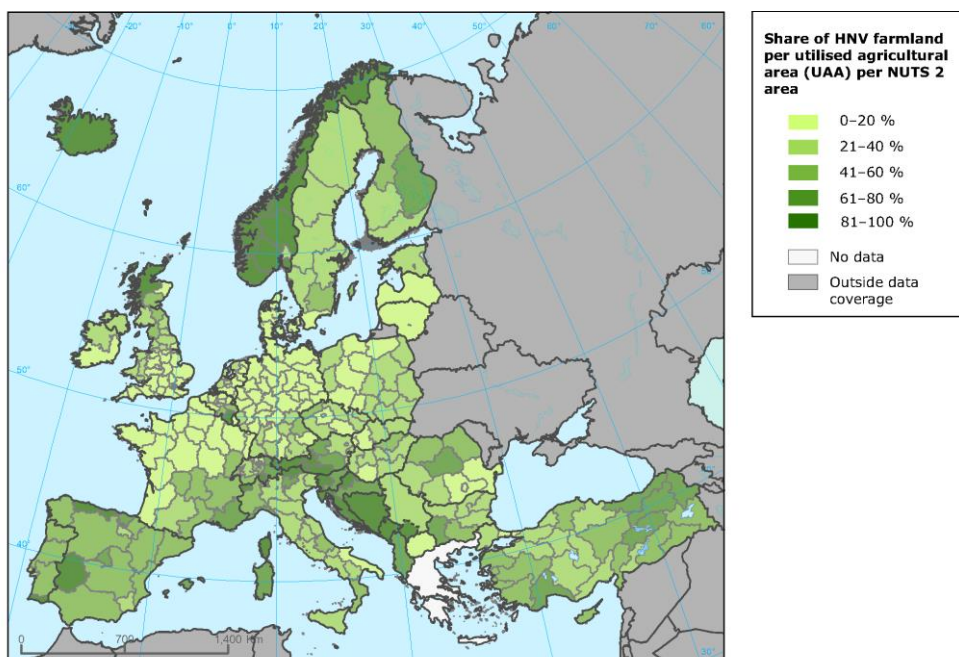


Figure 1. Share of High Nature Value (HNV) farmland per utilized agricultural area (UAA) (European Environment Agency 2012).

The concept of HNV farmland originates from the 1990s and is defined as "areas in Europe where agriculture is a major (usually the dominant) land use and where that agriculture supports or is associated with either a high species and habitat diversity or the presence of species of European conservation concern, or both" (Andersen *et al.*, 2003). HNV farmlands (HNVf) can be divided into three broad categories: (1) farmland with a high proportion of semi-natural vegetation; (2) farmland dominated by a mosaic

of cultivated land and small-scale features (mature trees, shrubs, scrub, field margins and hedges); and (3) farmland supporting rare species or significant populations of European or world (Andersen *et al.*, 2003; Campedelli *et al.*, 2018). HNVf are inherently rich in biodiversity and are known to contribute to the provision of ecosystem services, thus contributing to EU countryside environmental sustainability and resilience (Plieninger & Bieling, 2013; Bernués *et al.*, 2016). However, despite their acknowledged conservation importance, they are still highly threatened (Plieninger & Bieling, 2013), primarily by the abandonment of agricultural land and the expansion of intensive agriculture, accompanying the increased use of agrochemicals and machinery, the removal of non-productive landscape features and the increase of field size (Stoate *et al.*, 2009; Pe'er *et al.*, 2014; Strohbach *et al.*, 2015; Clough *et al.*, 2020). Thus, the preservation and development of HNV farming systems is a strategic priority for EU member states and contributes to targets for halting biodiversity loss (Brunbjerg *et al.*, 2016; Benedetti, 2017; Maskell *et al.*, 2019).

1.2. Pollination and solitary bees

Pollination, the transfer of pollen between the male and female parts of flowers that enables fertilization and reproduction, can be achieved by wind and water, but the majority of the global cultivated and wild plants depend on pollination by animals (Potts *et al.*, 2016). It is estimated that at least 78% of wild plants and 75% of leading global crops are pollinated by animals (Ollerton *et al.*, 2011; Kleijn *et al.*, 2015). Pollination is widely recognized as an essential ecosystem service and contributes significantly to nutritional security (Klein *et al.*, 2018), but there is increasing evidence that many pollinator species are declining due to changes in land cover and configuration, land management, agrochemical use and/or climate change (Senapathi *et al.*, 2017; Woodcock *et al.*, 2017; Dicks *et al.*, 2020; Soroye *et al.*, 2020). Concern for this trend prompted the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES) to undertake an assessment on pollinators, pollination and food production (IPBES, 2016), which have led to the launching of numerous pollinator initiatives on national, regional and global levels (European Commission 2018; FAO, 2020).

Bees are considered the most important pollinators (Klein *et al.*, 2018). Globally, around 20 000 bee species are described (Danforth *et al.*, 2019), of which up to 50 species are managed and about 12 specifically for crop pollination (Potts *et al.*, 2016). Wild and managed bees are important pollinators on all continents (except Antarctica) and most biomes (Ollerton, 2017). The value of the global pollination service provided by wild bees was estimated at \$3 251/ha, similar to the contribution of managed honeybees (Kleijn *et al.*, 2015). The solitary bees make up over 80% of all bee species globally (López-Urbe, 2021). Female solitary bees are all capable of producing offspring, they all build and maintain their own nest, and they all forage for the floral resources (primarily pollen and nectar) necessary for provisioning their brood cells without the assistance from other females (Danforth *et al.*, 2019; Maccagnani & Sgolastra, 2020). The nests ordinarily consist of brood cells that are provisioned with the amount of food suitable for offspring to reach the adult stage; afterward, each brood cell is closed (Michener, 2007). Therefore, the complete development of offspring depends on the food resources that their mothers have deposited in the brood cell prior to laying an egg (Seidelmann, 2018).

The nesting habits of solitary bee species can be very different, but three main groups can be described: species that dig nests in the soil (*e.g.* Melittidae or Andrenidae), species that nest in pre-existing cavities, mainly in the stems of plants or in cavities excavated by other insects (*e.g.* Megachilinae), and species that excavate their nests in the wood (*e.g.* *Xilocopa* Latreille or *Lithurgus* Berthold) (Danforth *et al.*, 2019; Maccagnani & Sgolastra, 2020).

According to the pollen host-plant preferences, Robertson (1925) proposed the terms we use today to reflect the spectrum of pollen in bees: polylectic bees (those that collect pollen from multiple plants) and oligolectic bees (which restrict pollen collection to several, usually related species, one genus or family). This simplest division has been updated by some authors (Cane & Sipes, 2006; Müller & Kuhlmann, 2008; Dötterl & Vereecken, 2010; Cane, 2021). Polylectic bees are usually divided into narrow polylectics, for bees preferring single plant species or genus but also marginally collecting pollen from plants of other families, and broad polylectics, for bees collecting pollen from plants of multiple families, while broad oligolectics are species collecting the pollen of many genera in a single large family, and narrow oligolectics refers to those collecting pollen

from only a few species in a genus or a few closely related genera (Danforth *et al.*, 2019). The polylectic bees with a strong preference for pollen from one plant family are classified as mesolectic (Cane & Sipes, 2006). Monolectic bees are those collecting pollen from a single plant species only (Cane & Sipes, 2006; Müller & Kuhlmann, 2008; Dötterl & Vereecken, 2010) but currently Cane (2020) has changed the meaning of this category: monolectic bees are, according to this author, the species collecting pollen from a single genus of flowering plant, whilst bee species considered to be monolectic and/or oligolectic scarcely collect pollen from plants other than their most preferred one, and some polylectic species can highly prefer one or several pollen sources among the others (Müller, 2018). The provisioning of a brood cell involves a series of foraging trips during which a female gathers pollen and nectar for larval consumption. The foraging range is related to body size, and maximum foraging distance recorded for solitary bees range from as little as 100 m to as much as 6 km (Zurbuchen *et al.*, 2010; Hofmann *et al.*, 2020). Consequently, the number of offspring produced by a female solitary bee is highly dependent on a variety factors, including floral resources abundance, foraging distance, female body size, female age, and the availability of mature oocytes, among others (Williams & Kremen, 2007; Bosch, 2008; Seidelmann *et al.*, 2010; Zurbuchen *et al.*, 2010; Hofmann & Renner, 2020).

1.3. Landscape context at different spatial scales

Observations of what happens at a single site are usually influenced by the surrounding landscape, which is commonly termed “landscape context” (Pearson, 2002). Agricultural landscapes can be characterized by two broad categories of parameters, which together describe the overall structure or complexity of a landscape (Martin *et al.*, 2016). Landscape composition refers to the cover types present on the landscape and to the amount of each class extant (Turner & Gardner, 2015). Otherwise, the landscape configuration provides quantitative descriptions of the spatial arrangement of cover types on the landscape (Fahrig *et al.*, 2011). These include a wide variety of measures ranging from edge length and edge-to-area ratios to the number, size, and distance between patches (Martin *et al.*, 2016) (Fig. 2).

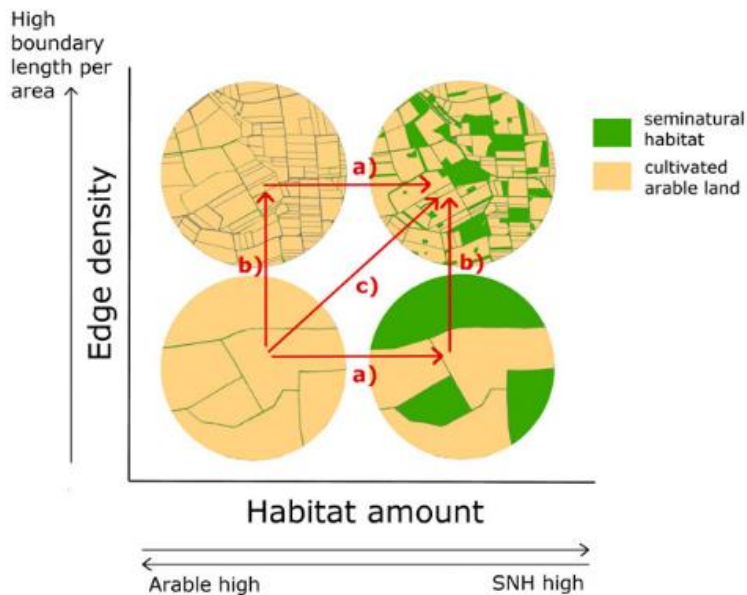


Figure 2. Conceptual representation of the distinction between landscape composition and configuration (Martin *et al.*, 2019).

The landscape composition and configuration are key factors in determining biodiversity and associated ecosystem services in agricultural landscapes (Fahrig, 2013; Martin *et al.*, 2019). For instance, complex landscapes where small and/or irregularly shaped fields and habitat patches prevail have a high density of edges supporting spillover of dispersal-limited populations between patches (Smith *et al.*, 2014; Fahrig, 2017). This may enhance populations' survival in the face of disturbance and their potential to provide services in crops (Boetzl *et al.*, 2019). However, the landscape is structured across scales in space and time, and organisms perceive and respond to this structure at different scales (McGarigal *et al.*, 2016). Therefore, a complex system must be analysed simultaneously at multiple scales to prevent bias in determining the potential influential factors (Chen *et al.*, 2018). Multi-scale approaches seek to identify the scale, or scales at which the organism interacts with the environment to determine it being found in, or doing better in, one place over another (McGarigal *et al.*, 2016).

Wild bee populations can be influenced by multi-scale factors through local management practices, including provision and availability of alternative flower resources, availability

of quality habitat in the direct neighbourhood, and landscape context (Kremen *et al.*, 2007; Carvalheiro *et al.*, 2011; Kennedy *et al.*, 2013). At the local scale, habitat management can have a great influence on wild bees and pollination services, often in interaction with, and sometimes more important than, landscape scale effects (Jha & Vandermeer, 2009; Concepción *et al.*, 2012; Kennedy *et al.*, 2013). At the landscape scale, the reduction in the proportion of semi-natural habitats or the increasing distance to these habitats can negatively affect bee abundance and richness, because semi-natural habitats provide essential resources for many bee species and determine the access of bees to the crops (Holzschuh *et al.*, 2010; Garibaldi *et al.*, 2011; Tschardt *et al.*, 2012; Machado *et al.*, 2020). Wild bees can also respond to changes at regional scales through differences in a variety of aspects, for example the regional species pool, large-scale patterns of land use and climatic and soil conditions (Holzschuh *et al.*, 2007; Arena *et al.*, 2018). Therefore, the multiple-scale approaches are required to understand how spatial features affect different pollinator traits (Moreira *et al.*, 2015; Motzke *et al.*, 2016; Arena *et al.*, 2018).

1.4. Top-down and bottom-up forces

Bee populations may be limited by top-down forces such as natural enemies. Progeny density, that is a biological characteristic providing a direct measure of host availability, and the spatial concentration of brood cells, can affect the parasitism risk (Farzan *et al.*, 2017). There are different studies in which parasitism rate in solitary hymenopterans is density-dependent, but inversely density-dependent, or density independent relationships have also been observed (Antonini *et al.*, 2003; Asís *et al.*, 2007; Steffan-Dewenter & Schiele, 2008; Palladini & Maron, 2014; Pereira-Peixoto *et al.*, 2016; Farzan *et al.*, 2017; Groulx & Forrest, 2017; Dainese *et al.*, 2018; Hopfenmüller *et al.*, 2020). Other factors such as nest architecture, choice of nesting material and age of mother bee also affect the parasitism rate (Münster-Swendsen & Calabuig, 2000; Seidelmann, 2006; MacIvor & Salehi, 2014).

Both foraging and nesting resources act as bottom-up forces (Goulson *et al.*, 2015; Woodard & Jha, 2017; Dainese *et al.*, 2018). Resources from flowering plants represent

the primary energy source for both adult and larval bees and as such are a major driver of wild bee populations (Roulston & Goodell, 2011; Scheper *et al.*, 2014). Choosing the nesting substrates and finding the materials appropriate to establish the nests are also important in the reproductive success of solitary bees (Danforth *et al.*, 2019). However, these bottom-up forces have become increasingly scarce in agroecosystems, affecting the population dynamics of solitary bees (Potts *et al.*, 2010; Goulson *et al.*, 2015; Dainese *et al.*, 2018).

1.4.1. Natural enemies

The solitary bees provision their nests with pollen and nectar for the developing offspring and these provisions, or the offspring themselves, may be attacked by parasites and predators of various taxa and with different life-history strategies (Smith *et al.*, 2018). Most enemies of solitary bees gain access to the nest as adults that oviposit into open cells or as specialized, highly mobile larvae that attack the host at early larval stages (Minckley & Danforth, 2019).

Kleptoparasites or brood parasites employ different mechanisms and strategies to reach brood cells without being detected by their hosts (Rocha-Filho *et al.*, 2017). Usually, kleptoparasite females enter the host nests and lay an egg when the host female leaves to search for pollen and nectar (Litman, 2019). Kleptoparasitic bees are identified as the most important natural enemies of solitary bees regardless of where they nest (below or above ground) (Minckley & Danforth, 2019). Members of the family Sapygidae are also brood parasites, attacking only bees that nest above-ground (Spear *et al.*, 2016; Groulx & Forrest, 2017; Minckley & Danforth, 2019). Other additional groups of brood parasites are the scuttle flies Phoridae and the ichneumonid genus *Grotea* Cresson, 1864 (Herrera-Flórez, 2014; Danforth *et al.*, 2019).

Larval bees are also vulnerable to attack from a variety of wasp, fly and beetle parasitoids. Adult velvet ants (Mutillidae), cuckoo wasps (Chrysididae) and wasps in the superfamily Chalcidoidea enter bee nests or oviposit through the brood cell walls in order to place their eggs in or on developing bee larvae (Sihem *et al.*, 2017; Danforth *et al.*, 2019). The flies Bombyllidae and Anthomyiidae launch the eggs into the open nest of diverse solitary bee hosts (Felicoli *et al.*, 2017; Danforth *et al.*, 2019). Beetles have also evolved the ability

to parasitize bees. The larvae of Meloidae and Ripiphoridae latch onto foraging adult bees as they move from flower to flower (Minckley & Danforth, 2019; Ulysséa & Albertoni, 2020). The larvae of *Trichodes* Herbst, 1792 (Cleridae) are predators of nests in a variety of substrates (Coudrain *et al.*, 2013; Osorio *et al.*, 2015; Farzan *et al.*, 2017; Bihaly *et al.*, 2021); how the first instar larva gets to the nest has not been observed, but it does it probably by phoresis; the females oviposit into unopened flower bud (Danforth *et al.*, 2019).

Solitary bees are attacked by a diversity of natural enemies that in some cases account for a high loss of the bee brood, while sometimes, losses of less than 20% have been reported (Minckley & Danforth, 2019).

1.4.2. Resources

Solitary bees construct their nests in a wide variety of substrates. The majority of species excavate tunnel systems in soil, and others construct nests in pre-existing cavities. While the last ones do not excavate their nests, they spend considerable time and effort preparing the nest and brood cells (Danforth *et al.*, 2019). They inhabit a diversity of cavities such as holes in the ground, cavities in stone, beetle burrows, snail shells, and virtually any human material that looks and feels like a stem, tube, or hollow cavity, and some collect and transport particular resources to the nest, including mud, leaves, resin, pith, dead wood (Roulston & Goodell, 2011; Danforth *et al.*, 2019). Therefore, the availability of these resources and their quality can be a limiting factor for maintaining populations and communities of bees (Dainese *et al.*, 2018; Harmon-Threatt, 2020).

Bees are nutritionally dependent throughout their lives on floral resources, which they acquire while adults are active; females gather floral resources for their offspring, and males and females of all species consume nectar and sometimes pollen for their own sustenance (Michener, 2007). Therefore, the floral resource availability mediates the suite of population dynamic and energetic processes (Roulston & Goodell, 2011). Within a landscape, floral resources can be heterogeneous in time and space (Ogilvie & Forrest, 2017). Plant species bloom at different times, leading to temporal turnover in the floral assemblage which itself may vary spatially (Kudo, 2014; Mallinger *et al.*, 2016; CaraDonna *et al.*, 2017). Landscape composition, landscape configuration and farm

management also affect the floral resource availability (Gaba *et al.*, 2010; Fahrig *et al.*, 2015; Evans *et al.*, 2018). For instance, higher floral abundance and diversity on low intensity cropped systems are linked to larger bee populations (Power & Stout, 2011). Conversely, the intensively managed agricultural habitats usually are devoid of flowers and pollinators are rare in these habitats (Cole *et al.*, 2017). Abiotic factors also mediate floral resource availability and diversity and thus may correspondingly alter plant-pollinator interactions (Forrest, 2015; Woodard & Jha, 2017). The response to these changes will depend on life-history traits. For instance, bees with longer flight seasons encounter more resource turnover; or larger bees, which tend to have broader foraging ranges, have more opportunities to adjust to local floral resource changes (Greenleaf *et al.*, 2007; Ogilvie & Forrest, 2017).

1.4.2.1. Pollen

Bees exploit a large variety of flowering plants for pollen and nectar, which contain all the nutrients the offspring will need to develop from larva to adult (Michener, 2007). But the pollen is not an easy-to-use nutrient source for bees (Eckhardt *et al.*, 2014; Danforth *et al.*, 2019). Its collection is difficult due to the frequently small pollen quantities contained in a single flower (Müller *et al.*, 2006), its removal from the flowers often requiring specialized morphological or behavioural adaptations (Thorp, 2000) and its nutrient content differing greatly among plant taxa (Ruedenauer *et al.*, 2019). In addition, pollen might contain harmful secondary metabolites such as alkaloids, lactones, diterpenes or cyanogenic glycosides, which negatively affected survival of bees (Sedivy *et al.*, 2011).

Pollen grains vary in size, shape, and morphology (Fig. 3). Typical pollen grains are between 10 and 100 micrometres but can range from extremely small (<5 µm) to enormous (<210 µm), and their shape varies widely, from typically round or ovoid grains to triangular grains or linear grains (Pacini & Franchi, 2020).

Pollen grains consist of multiple, discrete layers, some of which are indigestible (Danforth *et al.*, 2019). The outermost layer of pollen is the pollenkitt, a thin, semiliquid coating that consists of lipids, hydrocarbons, terpenoids, and carotenoid pigments (Pacini & Hesse, 2005). Their main functions are to stick single grains together, to adhere to the pollinator body, adhere to the stigma surface and facilitate rehydration (Lin *et al.*, 2015). The degree

to which the pollenkitt is digested by bees varies among species (Praz *et al.*, 2008). The pollen exine (external layer) is generally considered the main barrier to digestion, but extraction of pollen grain contents can take place through pores while the exine remains intact (Ferreira & Absy, 2013; Pacini & Franchi, 2020). These outer layers, particularly the exine, give pollen its shape and texture (Danforth *et al.*, 2019).

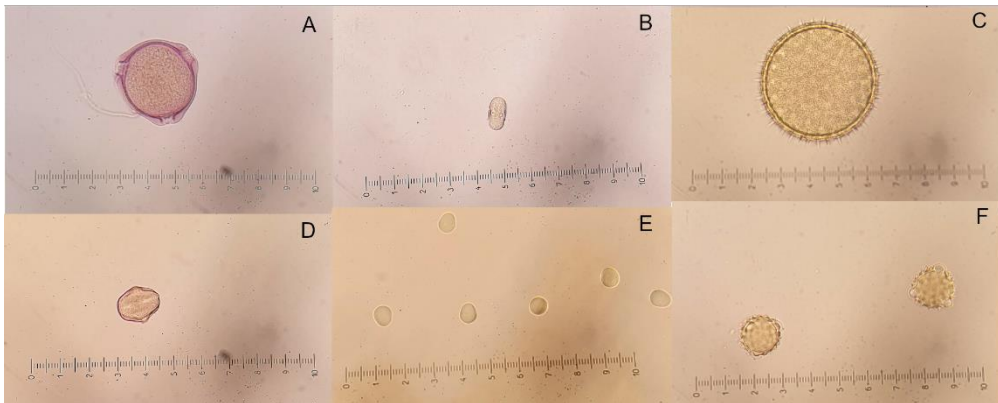


Figure 3. Morphology, shape, and size variety of pollen grains: Onograceae (A); Umbelliferae (B); Malvaceae (C); Fabaceae (D); Boraginaceae (E); Compositae (F). (E. Tobajas).

The nutritional value of pollen ranges widely among plant taxa. The primary nutritional components of pollen include protein, amino acids, starches, sterols, and lipids (Nicolson, 2011). The pollen nutritional value for bees have focused primarily on protein content (Danforth *et al.*, 2019). Protein levels in pollen vary widely from 2–60%, being higher in plants that fully or highly depend on insect pollinators (Ruedenauer *et al.*, 2019). Total lipid content is usually less than 10% and higher levels of lipids are considered attractive to bees (Nicolson, 2011; Vaudo *et al.*, 2016).

In addition, flowers of many plant taxa restrict access to their pollen by concealing it within specialized anthers or flower structures from where it can be efficiently harvested only by bees possessing specialized morphological or behavioural adaptations (Müller *et al.*, 2006; Westerkamp & Classen-Bockhoff, 2007).

Therefore, the effects of pollen quality on survival and development depend on the foraging decisions that mother bees make when allocating provisions into the brood cell (Bukovinszky *et al.*, 2017). Mother bees may adjust foraging decisions to mix pollen of different quality and optimize offspring provisions (Roulston & Goodell, 2011). When

bees can discriminate between pollen of different quality, they should preferentially forage on flowers that provide high quality pollen for their offspring (Praz *et al.*, 2008; Leonhardt & Blüthgen, 2012).

1.5. *Osmia caerulescens* (Linnaeus, 1758)

Osmia caerulescens (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Megachilidae) is a solitary bee of Palearctic distribution that is common in the Iberian Peninsula and is included in the LC category (least concern) in the European red list of bees. Females establish their nests in pre-existing cavities, placing linear series of brood cells, separated by partitions of chewed plant material (Bosch *et al.*, 1993). They are able to use a wide range of diameters to establish their nests (Vicens *et al.*, 1993), although exhibiting a preference for nests of 4–5 mm diameter (Westrich, 1990). When the females set the nest in high-diameter cavities, the brood cells are irregularly arranged and more compressed than when nests are established in cavities of smaller diameters (Westrich, 1990; Vicens *et al.*, 1993; Rosas-Ramos *et al.*, 2017). *Osmia caerulescens* is a species with sexual body size dimorphism, whose females are larger than males (Rosas-Ramos *et al.*, 2017). The females are dark blue-black with metallic reflections, about 10–12 mm long, and sparsely covered with brown hairs and black scopa on the underside of the abdomen (Fig. 4A). The males are metallic green, about 9 mm long, and they often appear first and loiter around the nests seeking mates (Fig. 4B).

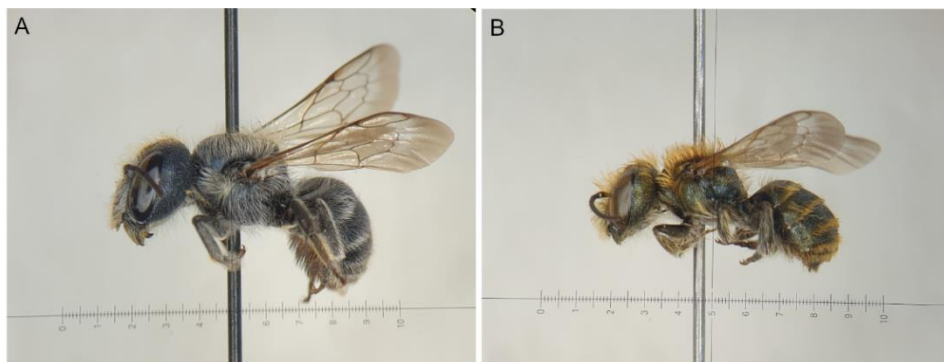


Figure 4. *Osmia caerulescens* female (A) and male (B) (E.Tobajas).

In Southern Europe, the species has two generations per year (Tasei, 1972; Vicens *et al.*, 1993). Wintering adults fly from May to June, and their larvae develop quickly to emerge in July and nest until September (Tasei, 1972; Vicens *et al.*, 1993). *Osmia caerulescens* is a polylectic bee that collects pollen nearly exclusively on Fabaceae, Lamiaceae, Asteraceae and Brassicaceae (Tasei, 1976; Vicens *et al.*, 1993; Müller, 1996). Nevertheless, Gresty *et al.*, (2018), using pollen metabarcoding, reported a lower diet breadth, since 91% of pollen identified in the samples were *Rosa canina* L., Sp.Pl.1:491. 1753. Among the natural enemies that attack their nests the sapygiid wasp *Sapyga quinquepunctata* (Fabricius, 1781), the bombyliid fly *Anthrax anthrax* Schrank 1781, the kleptoparasitic bee *Stelis phaeoptera* (Kirby, 1802) and dermestid beetles *Trogoderma* sp. Dejean, 1821 have been recorded (Asensio & Rodriguez, 1980, Vicens *et al.*, 1993, Alonso, 2017).

Osmia caerulescens is an abundant species in agricultural habitats, where it exhibits a high adaptability to the environment (Baños-Picón *et al.*, 2013; Rosas-Ramos *et al.*, 2017; Martínez-Núñez *et al.*, 2020). The landscape and local scale factors influence offspring traits in significant and sometimes interactive ways (Rosas-Ramos *et al.*, 2017). For instance, the high resource heterogeneity at the local level offered by polycrop systems favours populations of this species in terms of abundance (Baños-Picón *et al.*, 2013; Rosas-Ramos *et al.*, 2017) while in vineyard crops, *O. caerulescens* depends more on the surrounding landscape (Rosas-Ramos *et al.*, 2017).

1.6. Study area: Jerte valley

The Jerte valley is located in the hilly region of west-central Spain (Spanish Central System) and covers an area of 438 km² (Fig. 5A). This region is enclosed by two mountain ranges and is linearly arranged with NE-SW inclination along the course of the Jerte river. The hillsides of the valley are reduced as one goes from east to west, due to the decrease in the height of the mountains (Fig. 5B). In the eastern hillside of the valley, the mountain heights are 2 200 m a.s.l., and slopes average 1 200 m, whereas the west hillsides of the valley are only at an elevation of 650 m a.s.l., and the slopes average 360 m in length. Due to its narrowness, its depth, and its southern opening, the region presents its own climatic features (Pozas & González, 2016), which is classified as a Mediterranean continental

mountain climate with a mean annual temperature range of 15–16 °C and an annual rainfall of 1 000–1 100 mm. It exhibits a marked seasonal contrast, having a warm period with high temperatures and low rain, being August the warmest month (mean temperature 26 °C; mean precipitation 9 mm), and a cold period with low temperatures and abundant rain, with January being the coldest month (mean temperature 7.7 °C; mean precipitation 155 mm).



Figure 5. Location of Jerte valley, in the province of Cáceres, western Spain (A); hillsides panoramic view (B); and cherry orchards in terraces (C).

Human activity has been a continuous process in the valley since early historic times (Flores del Manzano, 1984). The human settlements began in the Bronze Age, (3 000 BP); the olive tree orchards were initiated in the Muslim period; a maximum deforestation occurred between the 13th and 17th century, for extensive grazing activities, and the cherry tree orchards began to grow in the 19th century and massively expanded during the last 40 years (Carrasco *et al.*, 2003). Presently, the sweet cherry (*Prunus avium* L.) is the dominant crop and occupies ca. 30% of the area both at the bottom of the valley and on its slopes, and their production is regulated by the Protected Designation of Origin

“Cereza del Jerte” (D. O. P. Cereza del Jerte). Due to the steepness of the hillsides, sweet cherry is mainly cultivated on terraces separated by stone walls (Fig. 5C). The area is dominated by traditional management of cherry orchards. The orchards are composed by small and medium-sized fields, belonging to multiple landowners, and are composed of cherry trees of different ages and a low level of mechanization regarding farming practices. These traditional orchards, interspersed with remnant natural vegetation, shape a patchy agricultural landscape. The remnant habitats of natural vegetation are formed by holm oak forests (*Quercus ilex* L.), oak forests (*Quercus pyrenaica* Willd.), shrubs of *Cytisus* Desf., and pastures.

1.7. Aims and objectives of the thesis

The main focus of this thesis is to study the reproductive and nutritional strategies, throughout the offspring characteristics and pollen diet, of the solitary bee *Osmia caerulescens* and their relationship with landscape features in traditional sweet cherry orchard agroecosystems (Jerte valley, Extremadura-Spain).

Specific goals are:

1. To assess the response, at population and individual levels, to bottom-up and top-down forces, by analysing the effects of the hillside aspect and the landscape complexity, which can affect both the availability of resources and the presence of natural enemies (Chapter 2).
2. To identify the pollen diet that *Osmia caerulescens* establish as food for its offspring through the analysis of post-emergence pollen residues, evaluating the possible relationship between the pollen diet and the developmental stage reached, the nest construction comparing the pollen contents of innermost, middle and outermost cells, and the adult body size (Chapter 3).
3. To evaluate how the landscape composition along the altitudinal gradient at different spatial scales, together with the hillside aspect, determine the pollen collected by *Osmia caerulescens* for its offspring and to analyse what landscape habitat types are drivers on the pollen composition dissimilarity (Chapter 4).

Introducción



1.1. Sistemas agrícolas tradicionales

En Europa, la mayor parte del suelo está ocupado por tierras de cultivo, que suponen alrededor de un 40 % del territorio (Comisión Europea, 2011). La agricultura intensiva, a través de la conversión de la tierra y los cambios en las prácticas agrícolas convencionales que incrementan el rendimiento de los cultivos, plantea importantes amenazas para la biodiversidad (Simoncini *et al.*, 2019). Afortunadamente, y a pesar de que en las últimas décadas se ha producido un notable cambio en las prácticas agrícolas, algunos agroecosistemas tradicionales todavía están presentes en Europa y han sido identificados como tierras agrícolas de Alto Valor Natural (*High Nature Value*, o HNV) (Palacín & Alonso, 2018) (Fig. 1).

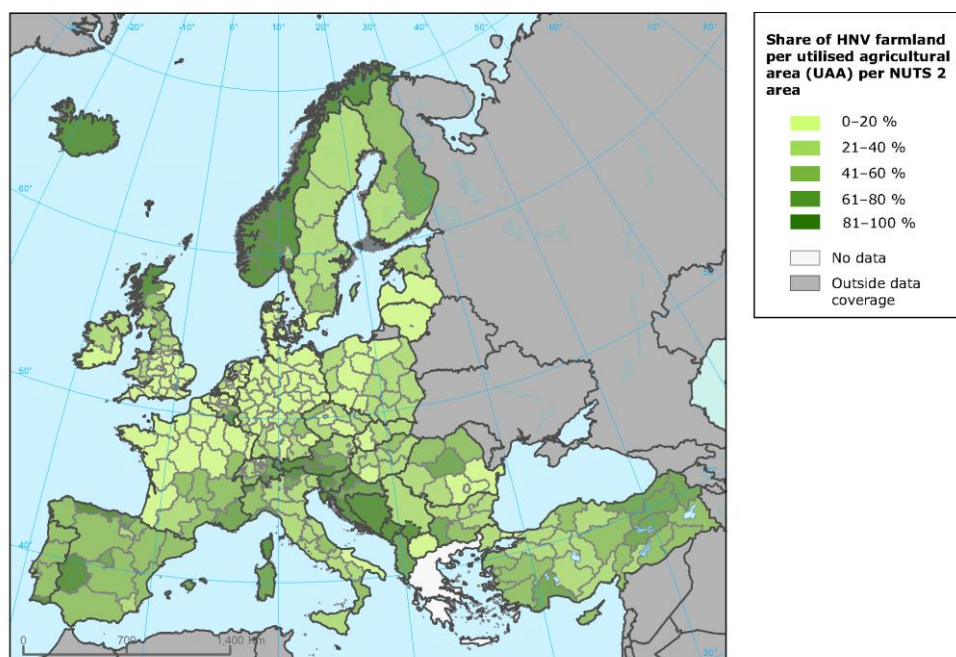


Figura 1. Proporción de tierras agrícolas de Alto Valor Natural (AVN; en inglés HNV) por Área Agrícola Utilizada (en inglés UAA) (Agencia Europea de Medio Ambiente, 2012).

El concepto de tierras agrícolas de Alto Valor Natural (AVN) se origina en la década de los 90, siendo estas zonas definidas como “áreas de Europa donde el uso de suelo agrícola es importante (normalmente dominante) y donde esta agricultura apoya o está asociada con una alta diversidad de especies y hábitats o con la presencia de especies de interés

europeo para la conservación, o ambas” (Andersen *et al.*, 2003). Las tierras agrícolas AVN pueden dividirse en tres amplias categorías: (1) tierras agrícolas con una alta proporción de vegetación seminatural; (2) tierras agrícolas dominadas por un mosaico de tierras cultivadas y elementos a pequeña escala (árboles maduros, arbustos, matorrales, márgenes de cultivo y setos); y (3) tierras agrícolas que albergan especies raras o poblaciones importantes a nivel europeo o mundial (Andersen *et al.*, 2003; Campedelli *et al.*, 2018). Las tierras agrícolas AVN son intrínsecamente ricas en biodiversidad y contribuyen a la prestación de servicios ecosistémicos, apoyando así la sostenibilidad y resiliencia medioambiental del medio rural de la EU (Plieninger & Bieling, 2013; Bernué *et al.*, 2016). Sin embargo, a pesar de su reconocida importancia para la conservación, estas tierras se encuentran muy amenazadas (Plieninger & Bieling, 2013), debido principalmente al abandono de terreno agrícola y a la expansión de la agricultura intensiva, la cual lleva asociado un mayor uso de agroquímicos y maquinaria, la eliminación de elementos no productivos del paisaje y el incremento del tamaño de las parcelas (Stoate *et al.*, 2009; Pe’er *et al.*, 2014; Strohbach *et al.*, 2015; Clough *et al.*, 2020). Por lo tanto, la preservación y el desarrollo de sistemas agrícolas ANV es una estrategia prioritaria para los estados miembros de la UE y contribuye a los objetivos para detener la pérdida de biodiversidad (Brunbjerg *et al.*, 2016; Benedetti, 2017; Maskell *et al.*, 2019).

1.2. Polinización y abejas solitarias

La polinización, o transferencia de polen entre las partes masculinas y femeninas de las flores que permite la fertilización y la reproducción, puede ser llevada a cabo por el viento y el agua, pero la mayoría de los cultivos a nivel mundial y de las plantas silvestres depende de la polinización por animales (Potts *et al.*, 2016). Se estima que, al menos el 78 % de las plantas silvestres y el 75 % de los principales cultivos mundiales son polinizados por animales (Ollerton *et al.*, 2011; Kleijn *et al.*, 2015). La polinización es ampliamente reconocida como un servicio ecosistémico esencial y contribuye significativamente a la seguridad alimentaria (Klein *et al.*, 2018). Sin embargo, cada vez hay más evidencias de que muchas especies de polinizadores están disminuyendo debido a cambios en la cobertura y configuración del suelo, al manejo de la tierra, al empleo de

agroquímicos y/o al cambio climático (Senapathi *et al.*, 2017; Woodcock *et al.*, 2017; Dicks *et al.*, 2020; Soroye *et al.*, 2020). La preocupación por esta tendencia ha llevado a la Plataforma Intergubernamental de Ciencia y Política sobre Biodiversidad y Servicios de los Ecosistemas (*Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*, IPBES) a realizar una evaluación sobre polinizadores, polinización y producción de alimentos (IPBES, 2016), dando lugar al lanzamiento de numerosas iniciativas para polinizadores a nivel nacional, regional y global (Comisión Europea, 2018; FAO, 2020).

Las abejas son consideradas los polinizadores más importantes (Klein *et al.*, 2018). A nivel mundial, se han descrito aproximadamente 20 000 especies de abejas (Danforth *et al.*, 2019), de las cuales 50 son manejadas y alrededor de 12 específicamente se emplean en la polinización de cultivos (Potts *et al.*, 2016). Las abejas silvestres y manejadas son importantes polinizadores en todos los continentes (excepto la Antártida) y en la mayoría de biomas (Ollerton, 2017). El valor del servicio de polinización llevado a cabo por abejas silvestres a nivel global se estima en 3 251 \$/ha, similar a la contribución de las abejas melíferas manejadas (Kleijn *et al.*, 2015). Las abejas solitarias representan más del 80 % de todas las especies de abejas a nivel mundial (López-Uribe, 2021). Las hembras de las abejas solitarias son capaces de producir descendencia, construir y mantener sus propios nidos y buscar los recursos (principalmente polen y néctar) necesarios para aprovisionar sus celdas de cría, sin ayuda de otras hembras (Danforth *et al.*, 2019; Maccagnani & Sgolastra, 2020). Los nidos normalmente están formados por celdas de cría que son aprovisionadas con la cantidad de comida necesaria para que las crías alcancen el estado adulto, cerrándose posteriormente cada celda (Michener, 2007). Por lo tanto, el desarrollo completo de una cría depende de la cantidad de comida que su madre haya depositado en la celda antes de poner un huevo (Seidelmann, 2018). Los hábitats de nidificación de las especies de abejas solitarias pueden ser muy diferentes, pero pueden incluirse en tres grupos principales: especies que excavan nidos en el suelo (*e.g.* Melittidae or Andrenidae), especies que nidifican en cavidades preexistentes, principalmente en tallos de plantas o en cavidades excavadas por otros insectos (*e.g.* Megachilinae), y especies que excavan sus nidos en la madera (*e.g.* *Xylocopa* Latreille o *Lithurgus* Berthold)(Danforth *et al.*, 2019; Maccagnani & Sgolastra, 2020).

Según la preferencia por las plantas hospedadoras para la recolección de polen, Robertson (1925) propuso los términos que utilizamos hoy en día para reflejar el espectro de polen empleado por las abejas, diferenciando: abejas poliléticas (para especies que recolectan polen de múltiples plantas) y abejas oligoléticas (aquellas que restringen la recolección de polen a varias especies, generalmente relacionadas, un género o familia). Esta división más simple ha sido actualizada por algunos autores (Cane & Sipes, 2006; Müller & Kuhlmann, 2008; Dötterl & Vereecken, 2010; Cane, 2021). Las abejas poliléticas generalmente se dividen en poliléticas estrechas, incluyendo a las abejas que prefieren el polen de una sola especie o género, pero que también recolectan en menor cantidad polen de plantas de otras familias; y poliléticas amplias, refiriéndose a abejas que recolectan polen de plantas de múltiples familias, mientras que las oligoléticas amplias son especies que recolectan polen de muchos géneros de una sola familia, y las oligoléticas estrechas las que recolectan polen solo de unas pocas especies de un género, o de unos pocos géneros estrechamente relacionados (Danforth *et al.*, 2019). Las abejas poliléticas con una fuerte preferencia por polen de una sola familia son clasificadas como mesoléticas (Cane & Sipes, 2006). Las abejas monoléticas son aquellas que recogen polen de una sola especie de planta (Cane & Sipes, 2006; Müller & Kuhlmann, 2008; Dötterl & Vereecken, 2010), pero actualmente Cane (2020) ha modificado el significado de esta categoría: las abejas monoléticas son, según este autor, las que recolectan polen de un solo género de plantas. Mientras que las especies de abejas consideradas monoléticas y/u oligoléticas apenas recolectan polen en plantas distintas a las preferidas, algunas especies poliléticas pueden preferir una o varias fuentes de polen entre otras (Müller, 2018). El aprovisionamiento de la celda de cría conlleva una serie de viajes de forrajeo durante los cuales una hembra recolecta polen y néctar para el consumo de la larva. El rango de forrajeo está relacionado con el tamaño corporal, registrándose distancias máxima de forrajeo de abejas solitarias desde tan solo 100 m hasta 6 km (Zurbuchen *et al.*, 2010; Hofmann *et al.*, 2020). Así pues, el número de crías producidas por una hembra de abeja solitaria dependerá de una gran variedad de factores que incluyen la abundancia de recursos florales, la distancia de forrajeo, el tamaño corporal de la hembra, la edad de la hembra o la disponibilidad de ovocitos

maduros, entre otros (Williams & Kremen, 2007; Bosch, 2008; Seidelmann *et al.*, 2010; Zurbuchen *et al.*, 2010; Hofmann & Renner, 2020).

1.3. Contexto del paisaje a diferentes escalas espaciales

Los acontecimientos que suceden en un lugar específico se hallan generalmente influenciados por el paisaje circundante, lo que comúnmente se denomina "contexto paisajístico" (Pearson, 2002). Los paisajes agrícolas pueden caracterizarse a través de dos amplias categorías de parámetros que, en conjunto, describen la estructura general o la complejidad de un paisaje (Martin *et al.*, 2016). La composición del paisaje hace referencia a los tipos de cobertura presentes en el paisaje y a la cantidad que existe de cada tipo (Turner & Gardner, 2015). Por otro lado, la configuración del paisaje proporciona descripciones cuantitativas de la disposición espacial de los tipos de cobertura en el paisaje (Fahrig *et al.*, 2011). Esto incluye una amplia variedad de medidas que van desde los *ratios* longitud de borde y borde/área hasta el número, tamaño y distancia entre parches (Martin *et al.*, 2016) (Fig. 2).

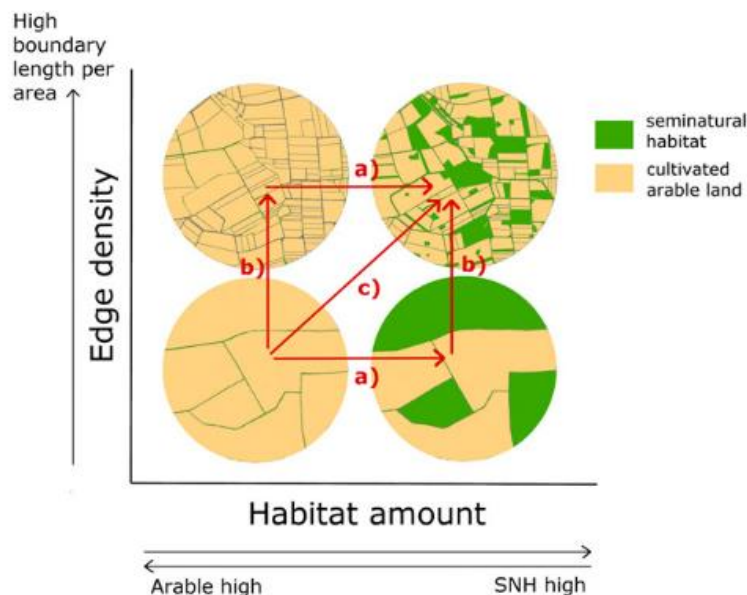


Figura 2. Representación de las diferencias entre composición y configuración del paisaje (Martin *et al.*, 2019).

La composición y configuración del paisaje son factores clave para determinar la biodiversidad y los servicios ecosistémicos asociados a los paisajes agrícolas (Fahrig, 2013; Martin *et al.*, 2019). Por ejemplo, los paisajes complejos en los que predominan parcelas pequeñas y/o irregulares y parches de hábitat, poseen una alta densidad de borde que favorece el *spillover* entre parches de poblaciones con dispersión limitada (Smith *et al.*, 2014; Fahrig, 2017). Esto puede mejorar la supervivencia de las poblaciones a las perturbaciones y su potencial para proporcionar servicios a los cultivos (Boetzel *et al.*, 2019). Sin embargo, el paisaje está estructurado a través de escalas espaciales y temporales, y los organismos perciben y responden a esta estructura a diferentes escalas (McGarigal *et al.*, 2016). Por lo tanto, un sistema complejo debe analizarse simultáneamente a múltiples escalas para evitar sesgos a la hora de determinar los posibles factores que están influyendo (Chen *et al.*, 2018). Enfoques a múltiples escalas permiten identificar la escala, o escalas, a las que los organismos interactúan con el medio para determinar si se encuentran, o en su caso si desempeñan su servicio, mejor en un lugar que en otro (McGarigal *et al.*, 2016).

En las poblaciones de abejas solitarias pueden influir factores a múltiples escalas espaciales, a través de las prácticas de manejo local, incluyendo la disponibilidad de recursos florales alternativos, la disponibilidad de hábitats de calidad en el vecindario directo y el contexto paisajístico (Kremen *et al.*, 2007; Carvalheiro *et al.*, 2011; Kennedy *et al.*, 2013). A escala local, el manejo del hábitat puede tener una gran influencia en las abejas silvestres y el servicio de polinización, a menudo en interacción con efectos a escala de paisaje y, a veces, incluso de forma más importante (Jha & Vandermeer, 2009; Concepción *et al.*, 2012; Kennedy *et al.*, 2013). A escala de paisaje, la disminución en la proporción de hábitats seminaturales o el incremento en la distancia entre estos parches puede afectar negativamente a la abundancia y riqueza de abejas, debido a que los hábitats seminaturales proporcionan recursos esenciales para muchas especies de abejas y determinan el acceso de estas a los cultivos (Holzschuh *et al.*, 2010; Garibaldi *et al.*, 2011; Tschardt *et al.*, 2012; Machado *et al.*, 2020). Las abejas silvestres también pueden responder a cambios a escala regional a través de las diferencias en una variedad de aspectos, como por ejemplo, la comunidad de especies a escala regional, los patrones de

uso de la tierra a gran escala, el clima y las condiciones del suelo (Holzschuh *et al.*, 2007; Arena *et al.*, 2018). Por lo tanto, se requieren enfoques a múltiples escalas para comprender cómo las características espaciales afectan a diferentes rasgos de los polinizadores (Moreira *et al.*, 2015; Motzke *et al.*, 2016; Arena *et al.*, 2018).

1.4. Fuerzas descendentes (*top-down*) y ascendentes (*bottom-up*)

Las poblaciones de abejas pueden verse limitadas por fuerzas descendentes (*top-down*) como es la presencia de enemigos naturales. La densidad de la progenie, que es una característica biológica que proporciona una medida directa de la disponibilidad del hospedador y de la concentración espacial de celdas de cría, puede afectar al riesgo de parasitismo (Farzan *et al.*, 2017). Hay diferentes estudios en los que la tasa de parasitismo en himenópteros solitarios es densidad-dependiente, pero también se han observado relaciones de densidad-dependencia inversa o de densidad-independencia (Antonini *et al.*, 2003; Asís *et al.*, 2007; Steffan-Dewenter & Schiele, 2008; Palladini & Maron, 2014; Pereira-Peixoto *et al.*, 2016; Farzan *et al.*, 2017; Groulx & Forrest, 2017; Dainese *et al.*, 2018; Hopfenmüller *et al.*, 2020). La tasa de parasitismo también puede verse afectada por otros factores como la arquitectura del nido, la elección de los materiales o la edad de la madre (Münster-Swendsen & Calabuig, 2000; Seidelmann, 2006; MacIvor & Salehi, 2014).

Los recursos de forrajeo y nidificación actúan como fuerzas ascendentes (*bottom-up*) (Goulson *et al.*, 2015; Woodard & Jha, 2017; Dainese *et al.*, 2018). Los recursos florales representan la fuente de energía primaria tanto para adultos como para larvas y, como tal, son un factor importante para las poblaciones de abejas silvestres (Roulston & Goodell, 2011; Scheper *et al.*, 2014). Elegir el sustrato de nidificación y encontrar los materiales apropiados para establecer los nidos son, asimismo, aspectos significativos en el éxito reproductor de las abejas solitarias (Danforth *et al.*, 2019). Sin embargo, estas fuerzas ascendentes se han vuelto cada vez más escasas en los agroecosistemas, lo cual afecta a la dinámica poblacional de las abejas solitarias (Potts *et al.*, 2010; Goulson *et al.*, 2015; Dainese *et al.*, 2018).

1.4.1. Enemigos naturales

Las abejas solitarias aprovisionan sus nidos con polen y néctar para el desarrollo de su descendencia y estas provisiones, o la propia descendencia, pueden ser atacadas por parásitos y depredadores de varios taxones y con diferentes estrategias vitales (Smith *et al.*, 2018). La mayoría de los enemigos naturales de las abejas solitarias acceden a los nidos como adultos que ovopositan dentro de las celdas, o como larvas especializadas y altamente móviles que atacan al hospedador durante las primeras etapas larvarias (Minckley & Danforth, 2019).

Los cleptoparásitos o parásitos de las crías emplean diferentes mecanismos y estrategias para alcanzar las celdas sin ser detectados por el hospedador (Rocha-Filho *et al.*, 2017). Normalmente, las hembras cleptoparásitas entran en los nidos del hospedador y ponen un huevo cuando la abeja hembra hospedadora deja el nido para buscar polen y néctar (Litman, 2019). Las abejas cleptoparásitas han sido identificadas como los enemigos naturales más importantes para las abejas solitarias, independientemente del lugar en el que nidifiquen (en el suelo o por encima del mismo) (Minckley & Danforth, 2019). Las avispas de la familia Sapygidae son parásitos de crías que atacan solo a abejas que nidifican por encima del suelo (Spear *et al.*, 2016; Groulx & Forrest, 2017; Minckley & Danforth, 2019). También diversos dípteros de la familia Phoridae y los himenópteros Ichneumonidae del género *Grotea* Cresson, 1864 son parásitos de crías de abejas (Herrera-Flórez, 2014; Danforth *et al.*, 2019).

Las larvas de abejas son asimismo vulnerables a ataques de una amplia variedad de avispas, moscas y escarabajos parásitos. Mutílidos (Mutillidae), crisídidos (Chrysididae) y avispas de la superfamilia Chalcidoidea entran en los nidos u ovopositan a través del tabique de la celda de cría para colocar sus huevos dentro o sobre las larvas en desarrollo (Sihem *et al.*, 2017; Danforth *et al.*, 2019). Las moscas de las familias Bombyllidae y Anthomyiidae lanzan sus huevos a nidos abiertos de diversas abejas solitarias (Felicoli *et al.*, 2017; Danforth *et al.*, 2019). Los escarabajos también han desarrollado la capacidad de parasitar a las abejas. Las larvas de la familia Meloidae y Ripiphoridae se adhieren a las abejas adultas que se encuentran forrajeando, cuando se mueven de una flor a otra (Minckley & Danforth, 2019; Ulysséa & Albertoni, 2020). Las larvas de los escarabajos

Trichodes Herbst, 1792 (Cleridae) son depredadores de nidos en varios tipos de sustratos (Coudrain *et al.*, 2013; Osorio *et al.*, 2015; Farzan *et al.*, 2017; Bihaly *et al.*, 2021). Sin embargo, no se ha observado cómo la larva de primer estadio llega al nido, aunque probablemente lo haga por foresis; las hembras ovopositan en flores sin abrir (Danforth *et al.*, 2019).

Las abejas solitarias son atacadas por diversos enemigos naturales que, en algunos casos, provocan importantes pérdidas en la descendencia, mientras que en otras ocasiones, la reducción es inferior al 20 % (Minckley & Danforth, 2019).

1.4.2. Recursos

Las abejas solitarias construyen sus nidos en una amplia variedad de sustratos. La mayoría de las especies excavan sistema de túneles en el suelo, mientras que otras los establecen en cavidades preexistentes. Estas últimas no excavan sus nidos, aunque emplean una gran cantidad de tiempo y esfuerzo en prepararlo y en acondicionar las celdas de cría (Danforth *et al.*, 2019). Estas especies establecen sus nidos en varios tipos de cavidades, tales como orificios en el suelo, cavidades en piedras, madrigueras de escarabajos, conchas de caracoles y prácticamente cualquier material que sea como un tallo, tubo o cavidad hueca. Además algunas recolectan y transportan al nido recursos particulares como barro, hojas, resina o madera muerta (Roulston & Goodell, 2011; Danforth *et al.*, 2019). Por tanto, la disponibilidad de estos recursos y su calidad pueden ser un factor limitante en el mantenimiento de las poblaciones y comunidades de abejas (Dainese *et al.*, 2018; Harmon-Threatt, 2020).

Las abejas dependen nutricionalmente durante toda su vida de los recursos florales, los cuales son adquiridos cuando los adultos están activos; las hembras recolectan recursos para su descendencia, y los machos y las hembras de todas las especies consumen néctar y, a veces, polen (Michener, 2007). Por ello, la disponibilidad de recursos florales influye en las dinámicas de la población y en los procesos energéticos (Roulston & Goodell, 2011). Dentro de un paisaje, los recursos florales pueden ser heterogéneos en el espacio y el tiempo (Ogilvie & Forrest, 2017). Las plantas florecen en diferentes momentos, lo que da lugar a un recambio temporal en la comunidad de plantas con flor que, a su vez, puede variar espacialmente (Kudo, 2014; Mallinger *et al.*, 2016; CaraDonna *et al.*, 2017). Los

recursos florales también se ven afectados por la composición y configuración del paisaje y por el manejo del cultivo (Gaba *et al.*, 2010; Fahrig *et al.*, 2015; Evans *et al.*, 2018). Por ejemplo, una mayor abundancia y diversidad de flores en sistemas de cultivo de baja intensidad están vinculadas con poblaciones de abejas más abundantes (Power & Stout, 2011). Por el contrario, los hábitats agrícolas manejados intensivamente carecen habitualmente de flores y los polinizadores son escasos (Cole *et al.*, 2017). Los factores abióticos también intervienen en la disponibilidad y diversidad de recursos florales y, por lo tanto, pueden alterar las interacciones planta-polinizador (Forrest, 2015; Woodard & Jha, 2017). La respuesta a estos cambios depende de las características del ciclo vital de la especie. Por ejemplo, las abejas con largos períodos de vuelo se ven más afectadas por el reemplazo temporal de recursos; o las abejas de mayor tamaño, con rangos de forrajeo generalmente más amplios, disponen de más oportunidades para adaptarse a los cambios en los recursos locales (Greenleaf *et al.*, 2007; Ogilvie & Forrest, 2017).

1.4.2.1. Polen

Las abejas explotan una gran variedad de plantas con flor para obtener el polen y el néctar, los cuales contienen todos los nutrientes que la descendencia necesitará para completar el desarrollo de larva a adulto (Michener, 2007). Pero el polen no es una fuente de alimento de acceso fácil para las abejas (Eckhardt *et al.*, 2014; Danforth *et al.*, 2019). Su recolección es costosa debido por una parte a que una sola flor contiene pequeñas cantidades de polen (Müller *et al.*, 2006), requiriéndose además de adaptaciones morfológicas o comportamentales especializadas (Thorp, 2000), y por otra a que el contenido nutricional varía bastante entre taxones de plantas (Ruedenauer *et al.*, 2019). Además, el polen puede contener metabolitos secundarios nocivos como alcaloides, lactonas, diterpenos o glucósidos cianogénicos, que afectan negativamente a la supervivencia de las abejas (Sedivy *et al.*, 2011).

Los granos de polen varían en tamaño y morfología (Fig. 3). Normalmente miden entre 10 y 100 μm , pero pueden variar desde tamaños extremadamente pequeños ($<5 \mu\text{m}$) a muy grandes ($<210 \mu\text{m}$), y su forma varía ampliamente, desde granos típicamente redondos u ovoides hasta granos triangulares o lineales (Pacini & Franchi, 2020).

Los granos de polen están formados por múltiples capas, algunas de las cuales no son digeridas (Danforth *et al.*, 2019). La capa más externa está conformada por el denominado *pollenkitt*, una capa delgada y semilíquida constituida por lípidos, hidrocarburos, terpenoides y pigmentos carotenoides (Pacini & Hesse, 2005). Sus principales funciones son aglutinar granos individuales, adherirse al cuerpo del polinizador, pegarse a la superficie del estigma y facilitar la rehidratación (Lin *et al.*, 2015). El grado de digestión del *pollenkitt* varía entre especies (Praz *et al.*, 2008), siendo habitualmente la exina (capa externa) la principal barrera para esta digestión, ya que el contenido del polen se extrae a través de los poros, mientras que la exina permanece intacta (Ferreira & Absy, 2013; Pacini & Franchi, 2020). Estas capas externas, principalmente la exina, son las que dan al polen su forma y textura (Danforth *et al.*, 2019).

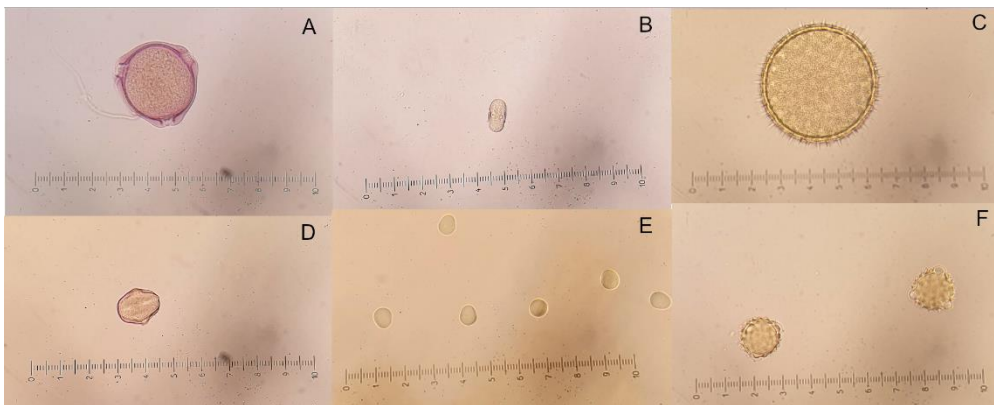


Figura 3. Variedades morfológicas, formas y tamaños de granos de polen: Onograceae (A); Umbelliferae (B); Malvaceae (C); Fabaceae (D); Boraginaceae (E); Compositae (F). (E. Tobajas).

El valor nutricional del polen varía ampliamente entre taxones. Sus principales componentes nutricionales incluyen proteínas, aminoácidos, esteroides y lípidos (Nicolson, 2011). Para la abejas, el valor nutricional del polen se centra principalmente en su contenido proteico (Danforth *et al.*, 2019). El nivel de proteínas en el polen varía entre 2-60 %, siendo mayor en plantas que dependen totalmente, o en gran medida, de insectos polinizadores (Ruedenauer *et al.*, 2019). El contenido total de lípidos normalmente es menor de un 10 % y un nivel alto de lípidos se considera atractivo para las abejas (Nicolson, 2011; Vaudo *et al.*, 2016). Además, las flores de muchas especies de

plantas presentan un acceso restringido a su polen, ocultándolo dentro de anteras especializadas o estructuras florales desde donde puede ser recolectado de manera eficiente solo por abejas que poseen adaptaciones morfológicas o de comportamiento especializados (Müller *et al.*, 2006; Westerkamp & Classen-Bockhoff, 2007).

Por lo tanto, los efectos de la calidad del polen en la supervivencia y el desarrollo dependen de las decisiones de búsqueda de alimento que tomen las hembras a la hora de asignar las provisiones a la celda de cría (Bukovinszky *et al.*, 2017). Las hembras pueden ajustar las decisiones de forrajeo para realizar mezclas de pólenes de diferentes calidades y optimizar la provisión para la descendencia (Roulston & Goodell, 2011). Cuando las abejas pueden discriminar entre pólenes de distinta calidad, se alimentarán preferentemente de aquellas flores que proporcionen polen de alta calidad a su descendencia (Praz *et al.*, 2008; Leonhardt & Blüthgen, 2012).

1.5. *Osmia caerulescens* (Linnaeus, 1758)

Osmia caerulescens (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Megachilidae) es una abeja solitaria de distribución Paleártica, común en la península ibérica y que está incluida en la categoría de preocupación menor en la Lista Roja de abejas europea. Las hembras establecen sus nidos en cavidades preexistentes, disponiendo series lineales de celdas de cría, separadas por tabiques de material vegetal masticado (Bosch *et al.*, 1993). Esta especie es capaz de emplear un amplio rango de diámetros para establecer sus nidos (Vicens *et al.*, 1993), aunque muestra preferencia por nidificar en diámetros de 4-5 mm (Westrich, 1990). Cuando la hembra establece el nido en una diámetro grande, se ha observado que las celdas de cría se encuentran dispuestas de manera irregular y más comprimidas que cuando se establece el nido en una cavidad con un diámetro pequeño (Westrich, 1990; Vicens *et al.*, 1993; Rosas-Ramos *et al.*, 2017).

Osmia caerulescens es una especie que presenta dimorfismo sexual en el tamaño corporal, siendo las hembras más grandes que los machos (Rosas-Ramos *et al.*, 2017). Las hembras son de color negro azulado con reflejos metálicos, de unos 10-12 mm de largo, están cubiertas por pelos marrones dispersos y presentan una escopa negra en la parte inferior del metasoma (Fig. 4A). Los machos son de color verde metálico, de unos 9 mm de largo

y a menudo emergen antes que las hembras, permaneciendo en las proximidades de los nidos en busca de pareja. (Fig. 4B).



Figura 4. Hembra (A) y macho (B) de *Osmia caerulescens*. (E. Tobajas).

La especie presenta dos generaciones por año en el sur de Europa (Tasei, 1972; Vicens *et al.*, 1993). Los adultos invernantes vuelan de mayo a junio y sus larvas se desarrollan rápidamente para emerger en julio y nidificar hasta septiembre (Tasei, 1972; Vicens *et al.*, 1993). *Osmia caerulescens* es un abeja poliléctica que recolecta polen casi exclusivamente de Fabaceae, Lamiaceae, Asteraceae y Brassicaceae (Tasei, 1976; Vicens *et al.*, 1993; Müller, 1996). Sin embargo, Gresty *et al.*, (2018), usando *metabarcoding* de polen, registraron una menor amplitud de dieta, perteneciendo el 91 % del polen identificado en la muestra a la especie *Rosa canina* L., Sp.Pl.1:491. 1753. Entre los enemigos naturales que atacan sus nidos se han citado la avispa *Sapyga quinquepunctata* (Fabricius, 1781), el bombílido *Anthrax anthrax* Schrank 1781, la abeja cleptoparásita *Stelis phaeoptera* (Kirby, 1802) y el escarabajo *Trogoderma* sp. Dejean, 1821 (Asensio & Rodríguez, 1980, Vicens *et al.*, 1993, Alonso, 2017).

Osmia caerulescens es una especie abundante en hábitats agrícolas, donde exhibe una gran adaptabilidad al entorno (Baños-Picón *et al.*, 2013; Rosas-Ramos *et al.*, 2017; Martínez-Núñez *et al.*, 2020). Factores a escala paisajística y local influyen en los rasgos de su descendencia de manera significativa y, a veces, en interacción (Rosas-Ramos *et al.*, 2017). Por ejemplo, la alta heterogeneidad de recursos a nivel local ofrecidos por un sistema de policultivos favorece poblaciones más abundantes (Baños-Picón *et al.*, 2013;

Rosas-Ramos *et al.*, 2017), mientras que en cultivos de viña, *O. caerulescens* depende más del paisaje circundante (Rosas-Ramos *et al.*, 2017).

1.6. Área de estudio: valle del Jerte

El valle del Jerte se encuentra localizado en la región montañosa del centro-oeste de España (Sistema Central) y ocupa una superficie de 438 km² (Fig. 5A). Esta región se encuentra delimitada por dos sierras, con una orientación NE-SO a lo largo del río Jerte. La altitud del valle y la pendiente de las laderas disminuyen a medida que se avanza de este a oeste (Fig. 5B). En la zona oriental, la altitud máxima es de 2 200 m sobre el nivel del mar (s. n. m), con una diferencia de altitud sobre el fondo del valle de 1 200 m, mientras que en la zona occidental, la altitud alcanzada es de 650 m s. n. m, estando el fondo del valle a 360 m. Debido a su estrechez, profundidad y apertura hacia el sur, la región presenta sus propias características climáticas (Pozas & González, 2016), con un clima clasificado como mediterráneo continental de montaña con un rango de temperaturas anuales medias de 15–16 °C y una precipitación anual de 1 000–1 100 mm. Además, presenta un marcado contraste estacional, teniendo un período cálido con altas temperaturas y escasas lluvias, siendo agosto el mes más cálido (temperatura media 26 °C; precipitación media 9 mm), y un período frío con bajas temperaturas y lluvias abundantes, siendo enero el mes más frío (temperatura media 7.7 °C; precipitación media 155 mm). La actividad humana ha sido un proceso continuo en el valle desde los primeros tiempos históricos (Flores del Manzano, 1984). Los asentamientos humanos comenzaron en la Edad de Bronce, (3 000 a. C.), produciéndose posteriormente la aparición de los huertos de olivos en la época musulmana, seguida de una gran deforestación ocurrida entre los siglos XIII y XVII debido a un pastoreo extensivo. Los huertos de cerezos se empezaron a implantar en el siglo XIX, expandiéndose masivamente durante los últimos 40 años (Carrasco *et al.*, 2003). En la actualidad, el cerezo (*Prunus avium* L.) es el cultivo dominante, ocupando aproximadamente el 30 % del área tanto en el fondo de valle como en las laderas, y su producción está regulada por la Denominación de Origen Protegida “Cereza del Jerte” (D. O. P. Cereza del Jerte). Debido a la pendiente de las laderas, los cerezos son cultivados principalmente en terrazas separadas por muros de piedra

(Fig. 5C). La región está dominada por un manejo tradicional. Las parcelas de cerezo son de pequeño y mediano tamaño, pertenecen a múltiples propietarios y están compuestas por árboles de cerezo de diferentes edades y muy bajo nivel de mecanización. Estos huertos tradicionales, intercalados con remanentes de vegetación natural, dan lugar a un paisaje agrícola irregular. Los remanentes de vegetación natural están formados por bosque de *Quercus ilex* L. y *Quercus pyrenaica* Willd., arbustos de *Cytisus* Desf., y praderas o pastos.

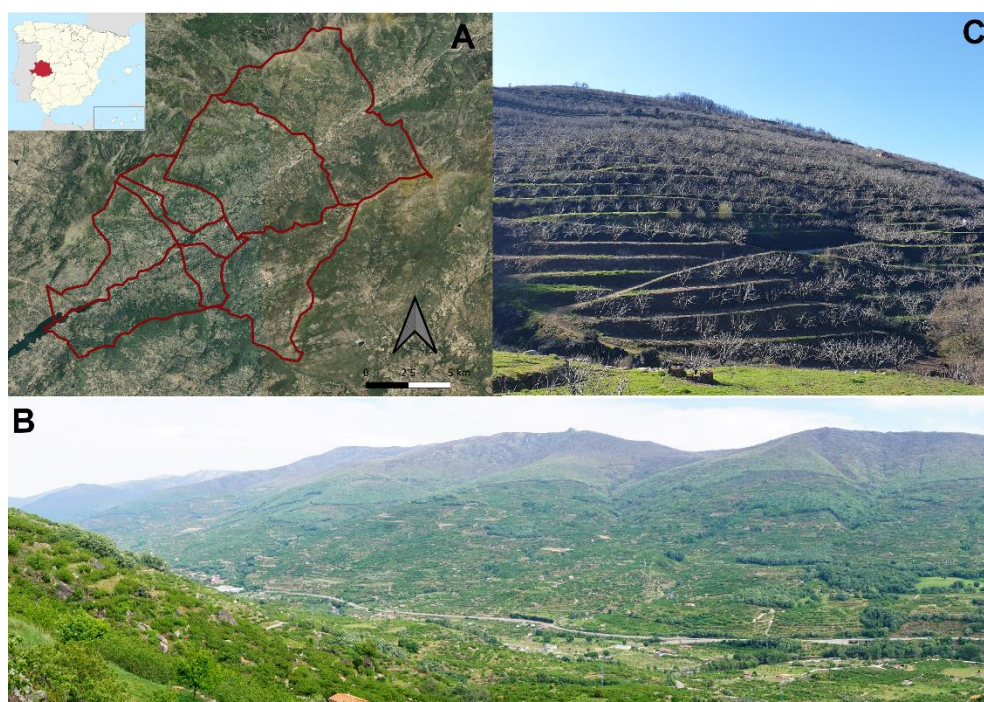


Figura 5. Localización del valle del Jerte en la provincia de Cáceres, oeste de España (A); vista panorámica de las laderas (B); y huertos de cerezo en terrazas (C).

1.7. Objetivos de la tesis

El objetivo principal de la tesis es estudiar las estrategias reproductoras y nutricionales de la abeja solitaria *Osmia caerulescens*, a través de las características de su descendencia y de la dieta de polen, así como su relación con las características del paisaje, en agroecosistemas tradicionales de cultivo de cerezo (valle del Jerte, Extremadura-España).

Los objetivos específicos son:

1. Evaluar la respuesta, a nivel poblacional e individual, a fuerzas ascendentes (*bottom-up*) y descendentes (*top-down*), analizando los efectos de la orientación y la complejidad paisajística, ya que pueden afectar tanto a la disponibilidad de recursos como a la presencia de enemigos naturales (Capítulo 2).
2. Identificar la dieta de polen que *Osmia caerulescens* establece como alimento a su descendencia, a través del análisis de residuos de polen post-emergentes, evaluando la posible relación entre la dieta y las fases de desarrollo alcanzadas, la construcción del nido (comparando el contenido de polen de las celdas internas, medias y externas) y el tamaño corporal del adulto (Capítulo 3).
3. Evaluar cómo la composición del paisaje a lo largo del gradiente altitudinal a diferentes escalas espaciales, junto con la orientación, determinan el polen recolectado por *Osmia caerulescens* para su descendencia y analizar qué tipos de hábitats en el paisaje son los que determinan las diferencias de la composición de polen (Capítulo 4).

Referencias/References

- Andersen, E., Baldock, D., Bennett, H. & Beaufoy, G. (2003) Developing a high nature value farming area indicator. *Report for the European Commission*.
- Antonini, Y., Martins, R.P., Rosa, C.A., Martins, R.P. & Inverse, C.A.R. (2003) Inverse density-dependent and density-independent parasitism in a solitary ground-nesting bee in Southeast Brazil. *Tropical Zoology*, **16**, 83–92.
- Arena, M.V.N., Martines, M.R., Silva, T.N. da, Destéfani, F.C., Mascotti, J.C.S., Silva-Zacarin, E.C.M., *et al.* (2018) Multiple-scale approach for evaluating the occupation of stingless bees in Atlantic forest patches. *Forest Ecology and Management*, **430**, 509–516.
- Asís, J.D., Benítez, A., Tormos, J., Gayubo, S.F. & Tomé, M.A.M. (2007) The significance of the vestibular cell in trap nesting wasps (Hymenoptera: Crabronidae): Does its presence reduce mortality? *Journal of Insect Behavior*, **20**, 289–305.
- Baños-Picón, L., Torres, F., Tormos, J., Gayubo, S.F. & Asís, J.D. (2013) Comparison of two Mediterranean crop systems: Polycrop favours trap-nesting solitary bees over monocrop. *Basic and Applied Ecology*, **14**, 255–262.
- Benedetti, Y. (2017) Trends in high nature value farmland studies: A systematic review. *European Journal of Ecology*, **3**, 19–32.
- Bernués, A., Tello-García, E., Rodríguez-Ortega, T., Ripoll-Bosch, R. & Casasús, I. (2016) Agricultural practices, ecosystem services and sustainability in High Nature Value farmland: Unraveling the perceptions of farmers and nonfarmers. *Land Use Policy*, **59**, 130–142.
- Bihaly, Á.D., Kovács-Hostyánszki, A., Szalai, M. & Sárospataki, M. (2021) Nesting activity of cavity-nesting bees and wasps is lower in small-scale apple orchards compared to nearby semi-natural habitats. *Agricultural and Forest Entomology*, **23**, 49–58.
- Boetzel, F.A., Krimmer, E., Krauss, J. & Steffan-Dewenter, I. (2019) Agri-environmental schemes promote ground-dwelling predators in adjacent oilseed rape fields: Diversity, species traits and distance-decay functions. *Journal of Applied Ecology*, **56**, 10–20.
- Bosch, J. (2008) Production of undersized offspring in a solitary bee. *Animal Behaviour*, **75**, 809–816.
- Bosch, J., Vicens, N. & Blas, M. (1993) Análisis de los nidos de algunos Megachilidae nidificantes en cavidades preestablecidas (Hymenoptera, Apoidea). *Orsis*, **8**, 53–63.
- Brunbjerg, A.K., Bladt, J., Brink, M., Fredshavn, J., Mikkelsen, P., Moeslund, J.E., *et al.* (2016) Development and implementation of a high nature value (HNV) farming indicator for Denmark. *Ecological Indicators*, **61**, 274–281.
- Bukovinszky, T., Rikken, I., Evers, S., Wäckers, F.L., Biesmeijer, J.C., Prins, H.H.T., *et al.* (2017) Effects of pollen species composition on the foraging behaviour and offspring performance of the mason bee *Osmia bicornis* (L.). *Basic and Applied Ecology*, **18**, 21–30.
- Campedelli, T., Calvi, G., Rossi, P., Trisorio, A. & Tellini Florenzano, G. (2018) The role of biodiversity data in High Nature Value Farmland areas identification process: A case study in Mediterranean agrosystems. *Journal for Nature Conservation*, **46**, 66–78.
- Cane, J.H. (2021) A brief review of monolecty in bees and benefits of a broadened definition. *Apidologie*, **52**, 17–22.
- Cane, J.H. & Sipes, S. (2006) Characterizing floral specialization by bees: analytical methods and a revised lexicon for oligolecty. In *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization*. p. 122.
- CaraDonna, P.J., Petry, W.K., Brennan, R.M., Cunningham, J.L., Bronstein, J.L., Waser, N.M., *et al.* (2017) Interaction rewiring and the rapid turnover of plant-pollinator networks. *Ecology Letters*, **20**, 385–394.

- Carrasco, R.M., Pedraza, J., Martin-Duque, Matttera, M., Sanz, M.A. & Bodoque, J.M. (2003) Hazard zoning for landslides connected to torrential floods in the Jerte Valley (Spain) by using GIS techniques. *Natural Hazards*, **30**, 361–381.
- Carvalho, L.G., Veldtman, R., Shenkute, A.G., Tesfay, G.B., Pirk, C.W.W., Donaldson, J.S., *et al.* (2011) Natural and within-farmland biodiversity enhances crop productivity. *Ecology Letters*, **14**, 251–259.
- Chen, C., Ma, M., Wu, S., Jia, J. & Wang, Y. (2018) Complex effects of landscape, habitat and reservoir operation on riparian vegetation across multiple scales in a human-dominated landscape. *Ecological Indicators*, **94**, 482–490.
- Clough, Y., Kirchweger, S. & Kantelhardt, J. (2020) Field sizes and the future of farmland biodiversity in European landscapes. *Conservation Letters*, **13**, 1–12.
- Cole, L.J., Brocklehurst, S., Robertson, D., Harrison, W. & McCracken, D.I. (2017) Exploring the interactions between resource availability and the utilisation of semi-natural habitats by insect pollinators in an intensive agricultural landscape. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **246**, 157–167.
- Concepción, E.D., Fernandez-González, F. & Díaz, M. (2012) Plant diversity partitioning in Mediterranean croplands: Effects of farming intensity, field edge, and landscape context. *Ecological Applications*, **22**, 972–981.
- Coudrain, V., Herzog, F. & Entling, M.H. (2013) Effects of Habitat Fragmentation on Abundance, Larval Food and Parasitism of a Spider-Hunting Wasp. *PLoS ONE*, **8**, 1–8.
- Dainese, M., Riedinger, V., Holzschuh, A. & Kleijn, D. (2018) Managing trap-nesting bees as crop pollinators: Spatiotemporal effects of floral resources and antagonists. *Journal of Applied Ecology*, **55**, 195–204.
- Danforth, B.N., Mickleby, R.L., Neff, J.L. & Fawcett, F. (2019) *The Solitary Bees: Biology, Evolution, Conservation*. Princeton.
- Dicks, L., Breeze, T., Ngo, H., Senapathi, D., An, J., Aizen, M., *et al.* (2020) A global assessment of drivers and risks associated with pollinator decline. *Research Square*, 1–21.
- Dötterl, S. & Vereecken, N.J. (2010) The chemical ecology and evolution of bee-flower interactions: A review and perspectives. *Canadian Journal of Zoology*, **88**, 668–697.
- Eckhardt, M., Haider, M., Dorn, S. & Müller, A. (2014) Pollen mixing in pollen generalist solitary bees: A possible strategy to complement or mitigate unfavourable pollen properties? *Journal of Animal Ecology*, **83**, 588–597.
- European Commission, 2011. Communication from the commission to the European parliament, the council, the economic and social committee and the committee of the regions. In: Our Life Insurance, Our Natural Capital: An EU Biodiversity Strategy to 2020. European Commission, Brussels.
- Evans, E., Smart, M., Cariveau, D. & Spivak, M. (2018) Wild, native bees and managed honey bees benefit from similar agricultural land uses. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **268**, 162–170.
- Fahrig, L. (2013) Rethinking patch size and isolation effects: The habitat amount hypothesis. *Journal of Biogeography*, **40**, 1649–1663.
- Fahrig, L. (2017) Ecological Responses to Habitat Fragmentation per Se. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **48**, 1–23.
- Fahrig, L., Baudry, J., Brotons, L., Burel, F.G., Crist, T.O., Fuller, R.J., *et al.* (2011) Functional landscape heterogeneity and animal biodiversity in agricultural landscapes. *Ecology Letters*, **14**, 101–112.
- Fahrig, L., Girard, J., Duro, D., Pasher, J., Smith, A., Javorek, S., *et al.* (2015) Farmlands with smaller crop fields have higher within-field biodiversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **200**, 219–234.
- Farzan, S., Whitney, J.A. & Yang, L.H. (2017) The Phenology and Spatial Distribution of Cavity-Nesting Hymenoptera and Their Parasitoids in a California Oak-Chaparral Landscape Mosaic. *American Midland Naturalist*, **177**, 84–99.

- Felicioli, A., Ambroselli, S., Cilia, G. & Sagona, S. (2017) Parasitization of a wild and reared population of the solitary bee *Osmia cornuta* Latr. by the parasitoid *Anthrax anthrax* Schrank (Diptera, Bombyliidae): comparison between two types of artificial nest. *Journal of Apicultural Research*, **56**, 598–605.
- Ferreira, M.G. & Absy, M.L. (2013) Pollen analysis of the post-emergence residue of *Melipona* (*Melikerria*) *interrupta* Latreille (Hymenoptera: Apidae) bred in the central Amazon region. *Acta Botanica Brasilica*, **27**, 709–713.
- Forrest, J.R.K. (2015) Plant-pollinator interactions and phenological change: What can we learn about climate impacts from experiments and observations? *Oikos*, **124**, 4–13.
- Gaba, S., Chauvel, B., Dessaint, F., Bretagnolle, V. & Petit, S. (2010) Weed species richness in winter wheat increases with landscape heterogeneity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **138**, 318–323.
- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Kremen, C., Morales, J.M., Bommarco, R., Cunningham, S.A., *et al.* (2011) Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology Letters*, **14**, 1062–1072.
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C. & Rotheray, E.L. (2015) Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, **347** (6229).
- Greenleaf, S.S., Williams, N.M., Winfree, R. & Kremen, C. (2007) Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia*, **153**, 589–596.
- Gresty, C.E.A., Clare, E., Devey, D.S., Cowan, R.S., Csiba, L., Malakasi, P., *et al.* (2018) Flower preferences and pollen transport networks for nesting solitary bees: Implications for the design of agri-environment schemes. *Ecology and Evolution*, **8**, 7574–7587.
- Groulx, A.F. & Forrest, J.R.K. (2017) Nesting aggregation as a predictor of brood parasitism in mason bees (*Osmia* spp.). *Ecological Entomology*, **43**, 182–191.
- Harmon-Threatt, A. (2020) Influence of nesting characteristics on health of wild bee communities. *Annual Review of Entomology*, **65**, 39–56.
- Herrera-Flórez, A.F. (2014) A new species of *Grotea* Cresson (Hymenoptera, Ichneumonidae, Labeninae) from Colombia. *ZooKeys*, **389**, 27–33.
- Hofmann, M.M., Fleischmann, A. & Renner, S. (2020) Foraging distances in six species of solitary bees with body lengths of 6 to 15 mm, inferred from individual tagging, suggest 150 m-rule-of-thumb for flower strip distances. *Journal of Hymenoptera Research*, **77**, 105–117.
- Hofmann, M.M. & Renner, S.S. (2020) One-year-old flower strips already support a quarter of a city's bee species. *Journal of Hymenoptera Research*, **75**, 87–95.
- Holzschuh, A., Steffan-dewenter, I., Kleijn, D. & Tscharrntke, T. (2007) Diversity of flower-visiting bees in cereal fields: effects of farming system, landscape composition and regional context. *Journal of Applied Ecology*, **44**, 41–49.
- Holzschuh, A., Steffan-Dewenter, I. & Tscharrntke, T. (2010) How do landscape composition and configuration, organic farming and fallow strips affect the diversity of bees, wasps and their parasitoids? *Journal of Animal Ecology*, **79**, 491–500.
- Hopfenmüller, S., Holzschuh, A. & Steffan-Dewenter, I. (2020) Effects of grazing intensity, habitat area and connectivity on snail-shell nesting bees. *Biological Conservation*, **242**, 108406.
- IPBES (2016). 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, and H. T. Ngo (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages
- Jha, S. & Vandermeer, J.H. (2009) Contrasting bee foraging in response to resource scale and local habitat management. *Oikos*, **118**, 1174–1180.

- Kennedy, C.M., Lonsdorf, E., Neel, M.C., Williams, N.M., Ricketts, T.H., Winfree, R., *et al.* (2013) A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecology Letters*, **16**, 584–599.
- Kleijn, D., Winfree, R., Bartomeus, I., Carvalheiro, L.G., Henry, M., Isaacs, R., *et al.* (2015) Delivery of crop pollination services is an insufficient argument for wild pollinator conservation. *Nature Communications*, **6**, 1–9.
- Klein, A.M., Boreux, V., Fornoff, F., Mupepele, A.C. & Pufal, G. (2018) Relevance of wild and managed bees for human well-being. *Current Opinion in Insect Science*, **26**, 82–88.
- Kremen, C., Williams, N.M., Aizen, M.A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., *et al.* (2007) Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: A conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*, **10**, 299–314.
- Kudo, G. (2014) Vulnerability of phenological synchrony between plants and pollinators in an alpine ecosystem. *Ecological Research*, **29**, 571–581.
- Leonhardt, S.D. & Blüthgen, N. (2012) The same, but different: Pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. *Apidologie*, **43**, 449–464.
- Lin, H., Lizarraga, L., Bottomley, L.A. & Carson Meredith, J. (2015) Effect of water absorption on pollen adhesion. *Journal of Colloid and Interface Science*, **442**, 133–139.
- Litman, J.R. (2019) Under the radar: detection avoidance in brood parasitic bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **374**(1769), 20180196.
- López-Uribe, M.M. (2021) Wild Bees: Diversity, Ecology, and Stressors. In *Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner*. pp. 81–91.
- Maccagnani, B. & Sgolastra, F. (2020) Solitary Bees As Pollinators. In *Entomovectoring for Precision Biocontrol and Enhanced Pollination of Crops*. pp. 63–79.
- Machado, T., Viana, B.F., Silva, C.I. da & Boscolo, D. (2020) How landscape composition affects pollen collection by stingless bees? *Landscape Ecology*, **35**, 747–759.
- MacIvor, J.S. & Salehi, B. (2014) Bee Species-Specific Nesting Material Attracts a Generalist Parasitoid: Implications for Co-occurring Bees in Nest Box Enhancements. *Environmental Entomology*, **43**, 1027–1033.
- Mallinger, R.E., Gibbs, J. & Gratton, C. (2016) Diverse landscapes have a higher abundance and species richness of spring wild bees by providing complementary floral resources over bees' foraging periods. *Landscape Ecology*, **31**, 1523–1535.
- Martin, E.A., Dainese, M., Clough, Y., Báldi, A., Bommarco, R., Gagic, V., *et al.* (2019) The interplay of landscape composition and configuration: new pathways to manage functional biodiversity and agroecosystem services across Europe. *Ecology Letters*, **22**, 1083–1094.
- Martin, E.A., Seo, B., Park, C.-R., Reineking, B. & Steffan-Dewenter, I. (2016) Scale-dependent effects of landscape composition and configuration on natural enemy diversity, crop herbivory, and yields. *Ecological Applications*, **26**, 448–462.
- Martínez-Núñez, C., Manzaneda, A.J. & Rey, P.J. (2020) Plant-solitary bee networks have stable cores but variable peripheries under differing agricultural management: Bioindicator nodes unveiled. *Ecological Indicators*, **115**, 106422.
- Maskell, L.C., Botham, M., Henrys, P., Jarvis, S., Maxwell, D., Robinson, D.A., *et al.* (2019) Exploring relationships between land use intensity, habitat heterogeneity and biodiversity to identify and monitor areas of High Nature Value farming. *Biological Conservation*, **231**, 30–38.
- McGarigal, K., Wan, H.Y., Zeller, K.A., Timm, B.C. & Cushman, S.A. (2016) Multi-scale habitat selection modeling: a review and outlook. *Landscape Ecology*, **31**, 1161–1175.

- Michener, C.D. (2007) *The Bees of the World*. The Johns Hopkins University Press.
- Minkley, R.L. & Danforth, B.N. (2019) Sources and frequency of brood loss in solitary bees. *Apidologie*, **50**, 515–525.
- Moreira, E.F., Boscolo, D. & Viana, B.F. (2015) Spatial heterogeneity regulates plant-pollinator networks across multiple landscape scales. *PLoS ONE*, **10**, 1–19.
- Motzke, I., Klein, A.-M., Saleh, S., Wanger, T.C. & Tschardt, T. (2016) Habitat management on multiple spatial scales can enhance bee pollination and crop yield in tropical homegardens. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **223**, 144–151.
- Müller, A. (1996) Convergent evolution of morphological specializations in Central European bee and honey wasp species as an adaptation to the uptake of pollen from nototribic flowers (Hymenoptera, Apoidea and Masaridae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **57**, 235–252.
- Müller, A. (2018) Pollen host selection by predominantly alpine bee species of the genera *Andrena*, *Panurginus*, *Dufourea*, *Megachile*, *Hoplitis* and *Osmia* (Hymenoptera, Apoidea). *Alpine Entomology*, **2**, 101–113.
- Müller, A., Diener, S., Schnyder, S., Stutz, K., Sedivy, C. & Dorn, S. (2006) Quantitative pollen requirements of solitary bees: Implications for bee conservation and the evolution of bee-flower relationships. *Biological Conservation*, **130**, 604–615.
- Müller, A. & Kuhlmann, M. (2008) Pollen hosts of western palaeartic bees of the genus *Colletes* (Hymenoptera: Colletidae): The Asteraceae paradox. *Biological Journal of the Linnean Society*, **95**, 719–733.
- Münster-Swendsen, M. & Calabuig, I. (2000) Interaction between the solitary bee *Chelostoma florissomne* and its nest parasite *Sapyga clavicornis*-Empty cells reduce the impact of parasites. *Ecological Entomology*, **25**, 63–70.
- Nicolson, S.W. (2011) Bee food: The chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two. *African Zoology*, **46**, 197–204.
- Ogilvie, J.E. & Forrest, J.R.K. (2017) Interactions between bee foraging and floral resource phenology shape bee populations and communities. *Current Opinion in Insect Science*, **21**, 75–82.
- Ollerton, J. (2017) Pollinator Diversity: Distribution, Ecological Function, and Conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **48**, 353–376.
- Ollerton, J., Winfree, R. & Tarrant, S. (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, **120**, 321–326.
- Osorio, S., Arnan, X., Bassols, E., Vicens, N. & Bosch, J. (2015) Local and landscape effects in a host-parasitoid interaction network along a forest-cropland gradient. *Ecological Applications*, **25**, 1869–1879.
- Pacini, E. & Franchi, G.G. (2020) Pollen biodiversity - Why are pollen grains different despite having the same function? A review. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **193**, 141–164.
- Pacini, E. & Hesse, M. (2005) Pollenkitt - Its composition, forms and functions. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **200**, 399–415.
- Palacín, C. & Alonso, J.C. (2018) Failure of EU Biodiversity Strategy in Mediterranean farmland protected areas. *Journal for Nature Conservation*, **42**, 62–66.
- Palladini, J.D. & Maron, J.L. (2014) Reproduction and survival of a solitary bee along native and exotic floral resource gradients. *Oecologia*, **176**, 789–798.
- Pe'er, G., Dicks, L. V., Visconti, P., Arlettaz, R., Baldi, A., Benton, T.G., *et al.* (2014) EU agricultural reform fails on biodiversity. *Science*, **344**, 1090–1092.

- Pearson, S.M. (2002) Interpreting Landscape Patterns from Organism-Based Perspectives. In *Learning Landscape Ecology*. pp. 187–198.
- Pereira-Peixoto, M.H., Pufal, G., Staab, M., Feitosa Martins, C. & Klein, A.-M. (2016) Diversity and specificity of host-natural enemy interactions in an urban-rural interface. *Ecological Entomology*, **41**, 241–252.
- Plieninger, T. & Bieling, C. (2013) Resilience-based perspectives to guiding high-nature-value farmland through socioeconomic change. *Ecology and Society*, **18**(4).
- 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 and Evolution*, **25**, 345–353.
- Potts, S.G., Imperatriz-Fonseca, V., Ngo, H.T., Aizen, M.A., Biesmeijer, J.C., Breeze, T.D., *et al.* (2016) Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature*, **540**, 220–229.
- Power, E.F. & Stout, J.C. (2011) Organic dairy farming: Impacts on insect-flower interaction networks and pollination. *Journal of Applied Ecology*, **48**, 561–569.
- Posas, B.M. & González, F.J.N. (2016) Hygrothermal behaviour and thermal comfort of the vernacular housings in the Jerte Valley (Central System, Spain). *Energy and Buildings*, **130**, 219–227.
- Praz, C.J., Müller, A. & Dorn, S. (2008) Host recognition in a pollen-specialist bee: evidence for a genetic basis. *Apidologie*, **39**, 547–557.
- Rocha-Filho, L.C., Rabelo, L.S., Augusto, C.S. & Garófalo, C.A. (2017) Cavity-nesting bees and wasps (Hymenoptera: Aculeata) in a semi-deciduous Atlantic forest fragment immersed in a matrix of agricultural land. *Journal of Insect Conservation*, **21**, 727–736.
- Rosas-Ramos, N., Baños-Picón, L., Tobajas, E., Tormos, J. & Asís, J.D. (2017) Both landscape and local scale factors matter for the parental investment strategies of the pollinator *Osmia caerulescens*. *Journal of Apicultural Research*, **56**, 1–12.
- Roulston, T.H. & Goodell, K. (2011) The role of resources and risks in regulating wild bee populations. *Annual review of entomology*, **56**, 293–312.
- Ruedenauer, F.A., Spaethe, J., Kooi, C.J. van der & Leonhardt, S.D. (2019) Pollinator or pedigree: which factors determine the evolution of pollen nutrients? *Oecologia*, **191**, 349–358.
- Scheper, J., Reemer, M., Kats, R. Van, Ozinga, W.A., Linden, G.T.J. Van Der, Schaminée, J.H.J., *et al.* (2014) Museum specimens reveal loss of pollen host plants as key factor driving wild bee decline in the Netherlands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111**, 17552–17557.
- Sedivy, C., Müller, A. & Dorn, S. (2011) Closely related pollen generalist bees differ in their ability to develop on the same pollen diet: Evidence for physiological adaptations to digest pollen. *Functional Ecology*, **25**, 718–725.
- Seidelmann, K. (2006) Open-cell parasitism shapes maternal investment patterns in the Red Mason bee *Osmia rufa*. *Behavioral Ecology*, **17**, 839–848.
- Seidelmann, K. (2018) Optimal resource allocation, maternal investment, and body size in a solitary bee, *Osmia bicornis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **166**, 1–10.
- Seidelmann, K., Ulbrich, K. & Mielenz, N. (2010) Conditional sex allocation in the Red Mason bee, *Osmia rufa*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **64**, 337–347.
- Senapathi, D., Goddard, M.A., Kunin, W.E. & Baldock, K.C.R. (2017) Landscape impacts on pollinator communities in temperate systems: evidence and knowledge gaps. *Functional Ecology*, **31**, 26–37.
- Sihem, A., Karima, B., Noudjoud, M. & Kamel, L. (2017) Nesting behavior of *Osmia tingitana* Benoist (1969) (Hymenoptera: Megachilidae), endemic species of North Africa with first observation of its parasite *Chrysura barbata* Lucas (1849) (Hymenoptera: Chrysididae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **5**, 1181–1186.

- Simoncini, R., Ring, I., Sandström, C., Albert, C., Kasymov, U. & Arlettaz, R. (2019) Constraints and opportunities for mainstreaming biodiversity and ecosystem services in the EU's Common Agricultural Policy: Insights from the IPBES assessment for Europe and Central Asia. *Land Use Policy*, **88**, 104099.
- Smith, A., Harper, C., Kapheim, K., Simons, M., Kingwell, C., Wcislo, W., *et al.* (2018) Effects of social organization and resource availability on brood parasitism in the facultatively social nocturnal bee *Megalopta genalis*. *Insectes Sociaux*, **65**, 85–93.
- Smith, H.G., Birkhofer, K., Clough, Y., Ekroos, J., Olsson, O. & Rundlöf, M. (2014) Beyond dispersal: the role of animal movement in modern agricultural landscapes. In *Animal Movement Across Scales*. pp. 51–70.
- Soroye, P., Newbold, T. & Kerr, J. (2020) Among Bumble Bees Across Continents. *Science*, **367**, 685–688.
- Spear, D.M., Silverman, S. & Forrest, J.R.K. (2016) Asteraceae Pollen Provisions Protect *Osmia* Mason Bees (Hymenoptera: Megachilidae) from Brood Parasitism. *The American Naturalist*, **187**, 797–803.
- Steffan-Dewenter, I. & Schiele, S. (2008) Do resources or natural enemies drive bee population dynamics in fragmented habitats? *Ecology*, **89**, 1375–1387.
- Stoate, C., Báldi, A., Beja, P., Boatman, N.D., Herzon, I., Doorn, A. van, *et al.* (2009) Ecological impacts of early 21st century agricultural change in Europe-A review. *Journal of Environmental Management*, **91**, 22–46.
- Strohbach, M.W., Kohler, M.L., Dauber, J. & Klimek, S. (2015) High Nature Value farming: From indication to conservation. *Ecological Indicators*, **57**, 557–563.
- Tasei, J.-N. (1976) Récolte des pollens et approvisionnement du nid chez *Osmia caerulea* L. (Hymenoptera, Megachilidae). *Apidologie*, **7**, 277–300.
- Tasei, J. (1972) Observations préliminaires sur la biologie d'*Osmia* (*Chalcosmia*) *caerulea* L., (Hymenoptera Megachilidae), pollinisatrice de la luzerne (*Medicago sativa* L.). *Apidologie*, **3**, 149–165.
- Thorp, R.W. (2000) The collection of pollen by bees. In *Pollen and pollination*. pp. 211–223.
- Tscharntke, T., Tylianakis, J.M., Rand, T.A., Didham, R.K., Fahrig, L., Batáry, P., *et al.* (2012) Landscape moderation of biodiversity patterns and processes-eight hypotheses. *Biological Reviews*, **87**, 661–685.
- Turner, M.G. & Gardner, R.H. (2015) Landscape metrics. In *Landscape Ecology in Theory and Practice*. pp. 97–142.
- Ulysséa, M.A. & Albertoni, F.F. (2020) Morphology and biological notes of *Macrosiagon octomaculata* (Gerstaecker) *triungulinid* and a summary of the knowledge on immature stages of the genus (Ripiphoridae). *Papeis Avulsos de Zoologia*, **60**.
- Vaudo, A.D., Patch, H.M., Mortensen, D.A., Tooker, J.F. & Grozinger, C.M. (2016) Macronutrient ratios in pollen shape bumble bee (*Bombus impatiens*) foraging strategies and floral preferences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **113**, E4035–E4042.
- Vicens, N., Bosch, J. & Blas, M. (1993) Análisis de los nidos de algunos Megachilidae nidificantes en cavidades preestablecidas (Hymenoptera, Apoidea). *Orsis*, **8**, 53–63.
- Westerkamp, C. & Classen-Bockhoff, R. (2007) Bilabiate flowers: The ultimate response to bees? *Annals of Botany*, **100**, 361–374.
- Westrich, P. (1990) *Die Wildbienen Baden-Württembergs. [The wild bees of Baden-Württemberg]*. Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer.
- Williams, N.M. & Kremen, C. (2007) Resource Distributions Among Habitats Determine Solitary Bee Offspring Production in a Mosaic Landscape. *Ecological Applications*, **17**, 910–921.
- Woodard, S.H. & Jha, S. (2017) Wild bee nutritional ecology: predicting pollinator population dynamics, movement, and services from floral resources. *Current Opinion in Insect Science*, **21**, 83–90.
- Woodcock, B.A., Bullock, J.M., Shore, R.F., Heard, M.S., Pereira, M.G., Redhead, J., *et al.* (2017) Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science*, **356**, 1393–1395.

Chapter 1

Zurbuchen, A., Cheesman, S., Klaiber, J., Mu, A. & Dorn, S. (2010) Long foraging distances impose high costs on offspring production in solitary bees. *Journal of Animal Ecology*, 674–681.

Chapter 2

*Effects of hillside aspect, landscape features,
and kleptoparasitism on the reproductive
success of the solitary bee *Osmia caerulescens**

Efectos de la orientación, las características del paisaje y el
cleptoparasitismo sobre el éxito reproductor de la abeja
solitaria *Osmia caerulescens*



Efectos de la orientación, las características del paisaje y el cleptoparasitismo sobre el éxito reproductor de la abeja solitaria *Osmia caerulescens*

Este capítulo ha sido publicado en la revista Ecological Entomology.

Tobajas, E., Rosas-Ramos, N., Asís, J. D., de Paz, V., Tormos, J., & Baños-Picón, L. (2021). Effects of hillside aspect, landscape features, and kleptoparasitism on the reproductive success of the solitary bee *Osmia caerulescens*. *Ecological Entomology*, 46(3), 541-551. DOI: 10.1111/een.13000.

RESUMEN

Osmia caerulescens es una abeja solitaria generalista que se encuentra bien adaptada a medios antrópicos alterados. Entre los enemigos naturales que atacan sus nidos, se encuentra la avispa cleptoparásita *Sapyga quinquepunctata*. En el presente trabajo analizamos si las características de la descendencia de *O. caerulescens* y *S. quinquepunctata*, a nivel poblacional e individual, muestran diferencias en función de la orientación de solana y umbría, y entre dos zonas, dentro del valle, que presentan diferente complejidad paisajística (zona simple y zona compleja). Los resultados revelaron que la abundancia y el tamaño corporal de la descendencia de *O. caerulescens* fueron mayores en la orientación de solana tanto a nivel poblacional como individual, mientras que, por otra parte, *S. quinquepunctata* se relacionó positivamente con la zona que presenta una menor proporción de usos de tierra agrícola (zona compleja). No detectamos relación de densidad-dependencia entre el número de celdas parasitadas y el número de celdas establecidas por el hospedador. Asimismo, observamos que, a pesar de que el parasitismo fue mayor en el área donde las características favorables para las dos especies convergen, el éxito reproductor de *O. caerulescens* no se vio reducido. A nivel individual, los nidos con un menor número de celdas tuvieron mayor probabilidad de ser parasitados. Estudiar la relación entre los factores ambientales y las características del paisaje a escala poblacional e individual, proporciona una mejor comprensión de cómo estas características podrían estar modulando la producción de descendencia y las interacciones ecológicas en la abeja solitaria *O. caerulescens*.

Effects of hillside aspect, landscape features, and kleptoparasitism on the reproductive success of the solitary bee *Osmia caerulescens*

This chapter has been published in the journal Ecological Entomology.

Tobajas, E., Rosas-Ramos, N., Asís, J. D., de Paz, V., Tormos, J., & Baños-Picón, L. (2021). Effects of hillside aspect, landscape features, and kleptoparasitism on the reproductive success of the solitary bee *Osmia caerulescens*. *Ecological Entomology*, 46(3), 541-551. DOI: 10.1111/een.13000

ABSTRACT

1. *Osmia caerulescens* is a generalist solitary bee well-adapted to altered anthropogenic environments, and the kleptoparasitic wasp *Sapyga quinquepunctata* has been cited among its natural enemies.
2. We analysed offspring characteristics of *O. caerulescens* and *S. quinquepunctata*, at population and individual levels, and compared these characteristics between sunny and shady aspects and between two zones within the valley that differed in landscape complexity (simple and complex zones).
3. The offspring production of *O. caerulescens* was higher in sunny aspect at population and individual levels while *S. quinquepunctata* was positively associated with the zone with a lower proportion of agricultural land (complex zone). We did not detect a relationship between number of brood cells parasitized and number of brood cells established by host. Despite the parasitism being higher in the area with favourable characteristics for both species, the reproductive success of *O. caerulescens* did not show signs of reduction. At the individual level, nests with fewer brood cells were more likely to be parasitized.
4. Studying the relationship of environmental factors and landscape features at population and individual levels provides a better understanding of how these characteristics could be driving the offspring production of the solitary bee and their ecological interactions.

Chapter 3

*Pollen use by the solitary bee
Osmia caerulescens in cherry orchard
agroecosystems in Spain*

Empleo del polen por la abeja solitaria *Osmia caerulescens* en agroecosistemas de cultivo de cerezo en España



Empleo del polen por la abeja solitaria *Osmia caerulescens* en agroecosistemas de cultivo de cerezo en España

RESUMEN

Osmia caerulescens es una abeja solitaria común en la península ibérica que se encuentra bien adaptada a hábitats antrópicos alterados. Empleando los residuos de post-emergencia de 965 celdas de cría, procedentes de 36 nidos-trampa establecidos en huertos de cerezo en el oeste de España, identificamos las principales fuentes de polen recolectadas y estudiamos la dieta de la especie. Para ello, evaluamos si existen diferencias en la dieta durante la construcción del nido y entre las diferentes fases de desarrollo alcanzadas por la descendencia, y también analizamos si la dieta de polen influye en el tamaño corporal de la descendencia. Encontramos que el polen de la familia Fabaceae fue dominante, seguido del polen de *Jasione* y *Echium*. No hallamos diferencias en la riqueza y diversidad de polen entre las celdas internas y externas del nido, ni tampoco entre las fases de desarrollo alcanzadas. Detectamos diferentes proporciones de polen de *Echium* y *Jasione* entre los individuos de distintas fases de desarrollo y observamos una relación positiva entre la diversidad de polen y el tamaño corporal de las hembras. Los resultados sugieren que, tanto la disponibilidad de los recursos florales como las diferencias morfológicas y las características químicas del polen, juegan un papel clave en la composición de la dieta y en el desarrollo de la descendencia. El análisis de polen, que proporciona conocimientos sobre la amplitud de dieta, es una herramienta esencial en el estudio de especies adaptadas a hábitats alterados.

Pollen use by the solitary bee *Osmia caerulescens* in cherry orchard agroecosystems in Spain

ABSTRACT

Osmia caerulescens is a solitary bee species commonly found in the Iberian Peninsula that seems to be well adapted to altered anthropogenic habitats. Using the post-emergence residues present in 965 brood cells from 36 trap-nests established in cherry orchards in Western Spain, we identified the pollen collected and studied the diet of the species. We evaluated whether there are differences in the diet over the nest construction and between the developmental stages reached by the offspring and we tested whether the offspring body size is influenced by pollen diet. The pollen of the Fabaceae family was the dominant one, followed by *Jasione* and *Echium*. We did not find differences in the pollen richness and diversity between inner and outer cells, nor among the developmental stages reached. Different proportions of *Echium* and *Jasione* pollen in individuals at different developmental stages and a positive relationship between pollen diversity and female body size were detected. The results suggest that the availability of flower resources, together with different morphological and chemical pollen traits, play a key role in diet composition and in the offspring development. Pollen analysis, which provides knowledge about the diet breadth, is a useful tool in the study of species adapted to altered habitats.

Chapter 4

Landscape composition and agricultural habitat types influence pollen diet of a solitary bee in cherry orchard agroecosystems

La composición del paisaje y los tipos de hábitats agrícolas influyen en la dieta de polen de una abeja solitaria en agroecosistemas de cultivo de cerezo



La composición del paisaje y los tipos de hábitats agrícolas influyen en la dieta de polen de una abeja solitaria en agroecosistemas de cultivo de cerezo

RESUMEN

La composición del paisaje afecta a las poblaciones de abejas a través de múltiples escalas espaciales. Sin embargo, el grado en que este factor puede afectar al polen recolectado por las hembras es prácticamente desconocido. En un estudio llevado a cabo en agroecosistemas de cultivo de cerezo en el oeste de España, evaluamos cómo la composición del paisaje, junto con la orientación de la ladera, influyen en la dieta de polen de la abeja poliléctica *Osmia caerulescens*, a diferentes escalas espaciales y a lo largo de un gradiente altitudinal. Además, evaluamos qué tipos de usos del suelo dirigen las diferencias en la composición de polen. Nuestro estudio reveló que, cuando la proporción de hábitats seminaturales varía a lo largo del gradiente altitudinal a escala regional, la dieta es más diversa en la zona baja, donde el uso de tierra agrícola es dominante. A escalas espaciales más pequeñas, el incremento en la cobertura de hábitats seminaturales en sectores de 500 m de radio favorece que la dieta de las abejas que nidifican en un paisaje menos complejo y más homogéneo sea más rica y diversa en polen. En sectores de 500 m, la composición de polen se encuentra principalmente dirigida por el tipo de uso de suelo agrícola que, combinado con la presencia de hábitats naturales no dominantes con una gran diversidad y cantidad de recursos florales, constituyen un mosaico parcheado. Nuestros resultados destacan la importancia de llevar a cabo estudios a múltiples escalas espaciales para comprender la biología de las abejas solitarias generalistas y su capacidad para adaptarse a los paisajes agrícolas.

Landscape composition and agricultural habitat types influence pollen diet of a solitary bee in cherry orchard agroecosystems

ABSTRACT

Landscape composition affects wild bee populations through multiple spatial scales. Nevertheless, how this factor can impact pollen collection is poorly known. In a study developed in sweet cherry orchard agroecosystems in western Spain, we assess how the landscape composition, together with the hillside aspect, influence the pollen diet of the polylectic bee *Osmia caerulescens* at different spatial scales along an altitudinal gradient. Additionally, we also evaluated what land use types are drivers of dissimilarity in the pollen composition. When the proportion of semi-natural habitats varies along the altitudinal gradient at regional scale, we observed that the diet is more diverse at low altitudes, where the agricultural land is dominant. At smaller spatial scales, the increase of the semi-natural land cover at 500 m radius sectors favours a higher pollen richness and diversity for bees nesting in less complex and more homogeneous landscapes. In 500 m radius sectors, pollen composition is mainly directed by agricultural land use types that, combined with the presence of non-dominant natural habitats with a great and diverse amount of floral resources, constitute a patchwork mosaic. Our results underline the importance of conducting studies at multiple spatial scales to understand the biology of generalist solitary bees and their ability to adapt to agricultural landscapes.

Chapter 5

Conclusions



1. Environmental conditions associated with the sunny aspect favour offspring investment of *Osmia caerulescens*, with higher population abundances as well as a higher number of brood cells per reed and an offspring of larger body size. While *O. caerulescens* is not sensitive to the differences of the landscape, nesting successfully in both zones of the valley, its kleptoparasite, *Sapyga quinquepunctata* shows a response to these changes. Indeed, the bee nests established in the zone with a greater area of natural and semi-natural habitats showed a higher probability of being parasitised. In addition, the number of brood cells parasitised by *S. quinquepunctata* does not increase with increasing host density. However, in the complex-sunny sub-zone, the favourable characteristics for both species converge in such a way that *S. quinquepunctata* would benefit from the greater proportion of natural and semi-natural habitats, while the sunny aspect would favour greater abundances of *O. caerulescens*. This implies that the kleptoparasite exerts a greater pressure on host populations, although the offspring production is not reduced. On the other hand, the results at the individual level indicate that a possible strategy of *O. caerulescens* to address brood parasitism could be the nest abandonment (Chapter 2).
2. *Osmia caerulescens* is a polylectic species capable of exploiting a variety of resources from the plant families present in the area, exhibiting a pronounced affinity for the pollen of Fabaceae. Even though the trap-nests were placed in cherry orchards, the Rosaceae pollen was found in few proportions in the nests, showing that the pollen of the main crop in the area is not collected by the species, probably due to the lack of matching between the flight period and the cherry tree blooming. The greater pollen proportion of *Echium* in failed individuals and the differences found in pollen proportion of *Jasione* between the stages reached underline the importance of the nutritional quality of pollen in the offspring development. The observed relationship between pollen diversity and the body size of females could be reflecting that female can allocate targeted pollen mixing to optimize food quality for their progeny. Therefore, *O. caerulescens* shows a flexible diet selecting mixed pollen sources of common plants associated to crops. The species exhibits distinct patterns of host plant use, suggesting that not only the availability of resources but also the flower

morphology or the pollen chemistry may have played crucial roles in its diet composition. Maybe this is explaining the great adaptability and tolerance of the species to different agricultural environments (Chapter 3).

3. The pollen diversity shows differences in relation with the changes in the landscape composition at regional scale and along the altitudinal gradient. *Osmia caerulescens* females establish a more diverse diet for their offspring in the altitude dominated by the agricultural land uses. At smaller spatial scales (500 m radius sectors), the landscape composition (proportion of semi-natural habitats) favours a greater pollen richness and diversity when the nests are settled in simpler and more homogeneous landscapes. The resources collected change in response to a wide variety of environmental gradients that can occur and can interact at different spatial scales. The agricultural land use types, that represent a patchwork mosaic, together with the presence of non-dominant natural habitats but which present a great and diverse amount of floral resources, are those that drive the pollen composition of *O. caerulescens*. The studies developed at multiple spatial scales are important to understand how generalist solitary bees, well-adapted to agricultural habitats, regulate their nutritional strategies according to the surrounding environment (Chapter 4).

Conclusiones



1. Las condiciones ambientales asociadas a la orientación de solana favorecen la inversión en la descendencia de *Osmia caerulescens*, dando lugar a una mayor abundancia poblacional, así como a un mayor número de celdas de cría por nido y a una descendencia de mayor tamaño corporal. Mientras que *O. caerulescens* no es sensible a las diferencias a escala paisajística, nidificando con éxito en ambas zonas del valle, su cleptoparásito *Sapyga quinquepunctata* sí responde a estos cambios. Los nidos establecidos en la zona con una mayor proporción de hábitats naturales y seminaturales mostraron una mayor probabilidad de ser parasitados. Además, no se produjo un incremento del número de celdas de cría parasitadas por *S. quinquepunctata* al aumentar la densidad del hospedador. Sin embargo, en la subzona compleja-solana, las condiciones para ambas especies convergen ya que *S. quinquepunctata* se beneficiaría de una mayor proporción de hábitats naturales y seminaturales, mientras que la orientación de solana favorecería una mayor abundancia de *O. caerulescens*. Esto implica que el cleptoparásito ejerce una mayor presión sobre las poblaciones del hospedador, aunque la producción de descendencia por parte de *O. caerulescens* no se ve reducida. Por otro lado, los resultados a nivel individual indican que *O. caerulescens* podría abandonar sus nidos como una posible estrategia frente al parasitismo de sus crías (Capítulo 2).
2. *Osmia caerulescens* es una especie poliléctica capaz de explotar recursos de una variedad de familias de plantas presentes en el área, exhibiendo una pronunciada afinidad por el polen de Fabaceae. Aunque los nidos-trampa se establecieron en cultivos de cerezo, el polen de Rosaceae se encontró en una proporción muy baja, mostrando que el polen del cultivo principal en el área no es recolectado por la especie, debido probablemente a que su periodo de vuelo y la floración del cerezo no coinciden. La presencia de una mayor proporción de polen de *Echium* en individuos que no alcanzaron la fase adulta y las diferencias encontradas en las proporciones de polen de *Jasione* entre las distintas fases de desarrollo destacan la importancia de la calidad nutricional del polen en el desarrollo de la descendencia. Las relaciones observadas entre la diversidad de polen y el tamaño corporal de las hembras podrían estar reflejando que las hembras pueden asignar una mezcla de polen específica para

optimizar la calidad de los alimentos para su progenie. Por lo tanto, *O. caerulea* muestra una dieta flexible, seleccionando fuentes mixtas de polen de plantas que se encuentran asociadas a los cultivos. Los distintos patrones observados sugieren que, no solo la disponibilidad de los recursos, sino también la morfología de la planta o la química del polen pueden jugar un papel crucial en la composición de la dieta. Todo lo anteriormente expuesto podría explicar la gran adaptabilidad y tolerancia que la especie muestra a diferentes entornos agrícolas (Capítulo 3).

3. La diversidad de polen presenta diferencias en relación con los cambios en la composición del paisaje a escala regional y a lo largo del gradiente altitudinal. Las hembras de *Osmia caerulea* proporcionan una dieta más diversa a su descendencia en la altitud dominada por el uso de suelo agrícola. A escalas espaciales más pequeñas (sectores de 500 m de radio), la composición del paisaje (proporción de hábitats seminaturales) favorece una mayor riqueza y diversidad de polen cuando los nidos son establecidos en un paisaje más simple y homogéneo. Los recursos recolectados cambian en respuesta a una amplia variedad de gradientes ambientales, que pueden ocurrir e interactuar a diferentes escalas espaciales. Los tipos de uso de tierra agrícola que representan un mosaico parcheado, junto con la presencia de hábitats seminaturales no dominantes pero que ofrecen recursos florales abundantes y diversos, son los que dirigen la composición de la dieta de *O. caerulea*. Los estudios llevados a cabo a múltiples escalas espaciales son importantes para comprender cómo las abejas solitarias generalistas, bien adaptadas a hábitats agrícolas, modulan sus estrategias nutricionales en función del paisaje circundante (Capítulo 4).