



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**TESIS DOCTORAL**

**EFFECTOS DE LOS POLINIZADORES Y LOS PREDADORES DE SEMILLAS SOBRE  
EL ÉXITO REPRODUCTIVO DE LAS PLANTAS EN AMBIENTES FRAGMENTADOS  
DEL BOSQUE CHAQUEÑO SERRANO**

**BIOL. MARIANA JAUSORO**

**DIRECTOR: DR. LEONARDO GALETTO**

**INSTITUTO MULTIDISCIPLINARIO DE BIOLOGÍA VEGETAL**

**COMISIÓN ASESORA**

**DR. MARCELO CABIDO (INSTITUTO MULTIDISCIPLINARIO DE BIOLOGÍA VEGETAL)**

**DR. LUIS MARONE (INSTITUTO ARGENTINO DE INVESTIGACIONES DE LAS ZONAS ÁRIDAS)**

**2014**

## ÍNDICE

Resumen.....	3
Abstract .....	4
Agradecimientos.....	5
<b>Introducción General</b> .....	6
Materiales y Métodos Generales.....	15
<b>Capítulo I</b> Efecto de la fragmentación del bosque sobre la riqueza y la frecuencia de visita de los insectos polinizadores	
Introducción.....	26
Materiales y Métodos .....	29
Resultados.....	31
Discusión.....	36
Anexo 1.1.....	41
<b>Capítulo II</b> Efecto de la fragmentación del bosque sobre la predación pre-dispersión de semillas	
Introducción.....	44
Materiales y Métodos.....	48
Resultados.....	51
Discusión.....	57
<b>Capítulo III</b> Efecto de la fragmentación del hábitat sobre el éxito reproductivo de las plantas	
Introducción.....	63
Materiales y Métodos.....	65
Resultados.....	67
Discusión.....	73
<b>Discusión General y Conclusiones</b> .....	79
<b>Bibliografía</b> .....	85

## **Resumen**

La fragmentación del hábitat es una de las mayores amenazas a la biodiversidad del planeta pero es un fenómeno pobremente entendido, en parte porque afecta a numerosas interacciones biológicas a distintas escalas espaciales. En esta tesis evaluamos los efectos de la fragmentación sobre la polinización, la predación de semillas y la reproducción de varias especies de plantas del Bosque Chaqueño Serrano, durante dos temporadas. La fragmentación fue evaluada en nueve sitios de bosque nativo ubicados en los departamentos de Colón y Punilla en la provincia de Córdoba, considerando el área, el aislamiento, la cantidad y el tipo de coberturas vegetales a distintas escalas espaciales en el paisaje. No se observó un efecto consistente y significativo de la fragmentación sobre la polinización, la predación pre-dispersión de las semillas y la reproducción de las especies consideradas. Esta falta de efecto podría deberse a características propias de las especies consideradas (especies comunes) aunque no pueden descartarse otros factores que podrían estar influyendo en la respuesta observada. Probablemente sea necesario enfocarse en especies con características particulares que las hagan más susceptibles a los disturbios y considerar posibles efectos sobre las distintas etapas del ciclo de vida de la planta para poder predecir más precisamente las consecuencias de la fragmentación sobre la diversidad de especies vegetales.

## **Abstract**

Habitat fragmentation is a major threat to biodiversity but it is a poorly understood phenomenon, partly because it affects many biological interactions at different spatial scales. In this thesis we evaluate the effects of fragmentation on pollination, seed predation and reproduction of several plant species of Chaco Serrano Forest for two seasons. Fragmentation was evaluated in nine native forest located in the departments of Colón and Punilla in the province of Córdoba, considering area, isolation and the amount and type of vegetation cover at different spatial scales in the landscape. There was no consistent, significant effect of fragmentation on pollination, pre-dispersal predation of seeds and reproduction of the species considered. This lack of effect could result from characteristics of the species considered (common species), but the contribution of other factors to the observed response cannot be excluded. Focusing on species with particular features that make them more susceptible to disturbances and considering possible effects on different stages of the life cycle of the plant are probably needed to predict more precisely the consequences of fragmentation on plant diversity.

## **Agradecimientos**

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a las siguientes personas e instituciones que de diversas maneras estuvieron involucradas en el desarrollo de mi doctorado:

A los miembros de la Comisión Asesora de la Tesis, Dr. Marcelo Cabido y Dr. Luis Marone y a mi director Dr. Leonardo Galetto por haberme acompañado durante el proceso de la tesis. Al Dr. Fernando Milesi por sus aportes en la corrección del manuscrito, los cuales contribuyeron a mejorar sustancialmente el trabajo.

Al Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal por haberme permitido desarrollar mi tesis en la institución y al personal del Instituto que colaboró en todo lo que fue necesario.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas por haberme otorgado la beca necesaria para realizar este doctorado.

Al Dr. Luciano Cagnolo, Dra. Adriana Salvo y Biol. Mariana Musicante, miembros del Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba, por haberme ayudado a identificar las especies involucradas en la polinización y predación de semillas de las especies vegetales que estudié.

A las Dras. Gabriela Cardozo y Ana Calviño por ayudarme en el procesamiento de las imágenes satelitales.

Al personal directivo y administrativo de la Carrera de Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Córdoba, por haber propiciado la realización de mi tesis doctoral.

A la Dra. Diane Srivastava por haber dedicado desinteresadamente su valioso tiempo a discutir aspectos relacionados al desarrollo conceptual de la tesis.

A mis compañeros de laboratorio por haber enriquecido esta tesis con sus comentarios y sugerencias y por crear un clima cordial de trabajo. Especialmente a Julia, que compartió momentos de arduo trabajo pero también por las hermosas e importantes risas.

A mi familia por haberme acompañado y comprendido en las distintas etapas de desarrollo de mi Tesis.

A Martin por estar presente en todo momento con sus palabras y sus gestos de confianza incondicionales, indispensables para darme la fuerza necesaria para concluir este proyecto. Por el amor que construimos y compartimos.

Por último, a mis amigos que siempre estuvieron muy presentes.

# **EFFECTOS DE LOS POLINIZADORES Y LOS PREDADORES DE SEMILLAS SOBRE EL ÉXITO REPRODUCTIVO DE LAS PLANTAS EN AMBIENTES FRAGMENTADOS DEL BOSQUE CHAQUEÑO SERRANO**

## **INTRODUCCIÓN GENERAL**

Los bosques nativos están principalmente conformados por especies arbóreas o arbustivas autóctonas que se han establecido sin la intervención del hombre; son sistemas con capacidad de autoconservación y autorregulación (Montenegro et al. 2005). Estos bosques pueden ser alterados por causas naturales (inundaciones, incendios, etc.) o antrópicas (deforestación, urbanización, agricultura, etc.), lo que a menudo produce grandes cambios en sus condiciones abióticas y bióticas (Saunders et al. 1990; Harrison & Bruna 1999; Altamirano et al. 2007). Estas alteraciones frecuentemente implican un proceso de degradación, es decir, un desorden estructural y/o funcional del sistema ecológico en el que se modifican los atributos de los individuos, las poblaciones y las comunidades naturales (Fahrig 2003; García et al. 2009).

La estructura del paisaje se define en dos grandes componentes: la composición y la configuración (Fahrig et al. 2011; Hadley & Betts 2011). La composición se refiere a la cantidad y tipo de coberturas de vegetación, mientras que la configuración hace referencia a patrones espaciales de la vegetación en el paisaje (Fahrig et al. 2011; Hadley & Betts 2011). Uno de los disturbios que provoca cambios estructurales en el paisaje es la fragmentación del hábitat, cuya consecuencia más evidente es la transformación del hábitat original en una serie de remanentes de menor tamaño, aislados entre sí y rodeados por una matriz hostil. En esta última, toda o la mayoría de la vegetación original ha sido removida y generalmente se desarrollan cultivos agrícolas (Saunders et al. 1990; Jules 1998; Fahrig 2003).

El proceso de fragmentación implica una reducción en la cantidad de hábitat (pérdida de hábitat) y, a su vez, una disminución en el tamaño (área) y un aumento en el aislamiento de los fragmentos entre sí (Fahrig 2003; Peintinger et al. 2003). De modo general, la fragmentación involucra tanto la pérdida como la ruptura del hábitat original (Fahrig 2003; Steffan-Dewenter et al. 2006; Hadley & Betts 2011). Cabe aclarar que la fragmentación “per se” hace referencia a la configuración espacial de los remanentes de hábitat natural, independientemente de la cantidad total que se haya perdido en el paisaje modificado (Fahrig 2003; García et al. 2009).

En los últimos años el proceso de fragmentación ha sido muy estudiado principalmente debido a que causa un importante impacto negativo en la biodiversidad (Kruess & Tscharntke 2000; Steffan-Dewenter & Tscharntke 2002; Fahrig 2003; Winfree et al. 2009). La principal aproximación al estudio de los efectos de la fragmentación del hábitat sobre, por ejemplo, la diversidad y la abundancia de especies o la distribución, la abundancia y la diversidad genética de poblaciones, surge a partir del marco teórico propuesto en la teoría de biogeografía de islas (MacArthur & Wilson 1967; Fahrig 2003; Laurance 2008). De un modo general dicha teoría propone que el número de especies en una isla resulta del equilibrio dinámico entre las tasas de extinción y colonización, dependiendo estas tasas del tamaño de las islas y de su proximidad al continente (MacArthur & Wilson 1967). Al extenderse este concepto teórico a los sistemas terrestres se considera a los fragmentos como equivalentes a islas oceánicas y al ambiente que rodea a los fragmentos como una matriz hostil análoga al océano (Haila 2002; Fahrig 2003).

El impacto negativo del proceso de fragmentación sobre la diversidad y la abundancia de las especies se produce por diversos mecanismos (ej. Aizen & Feinsinger 1994b; Debinski & Holt 2000; Kruess & Tscharntke 2000; Stoner & Joern 2004; Brosi 2009; Ashworth & Marti 2010). Al disminuir el tamaño de los remanentes de hábitat, la probabilidad de extinción se incrementa debido a la pérdida de heterogeneidad ambiental (Kruess & Tscharntke 2000; Bascompte & Rodriguez 2001; Harris & Johnson 2004; Fahrig et al. 2011), a la disminución de

los recursos disponibles (Harris & Johnson 2004; Valdivia et al. 2006; Herrerías-Diego et al. 2008), a la pérdida de variabilidad genética (Aizen & Feinsinger 1994a; Cascante et al. 2002; Arvanitis et al. 2007; Vranckx et al. 2012) y a la reducción en el éxito reproductivo de las poblaciones (Aizen & Feinsinger 1994a; Jacquemy et al. 2002; Aguilar et al. 2006; Valdivia et al. 2006; Aguilar et al. 2012). Estos efectos negativos sobre la diversidad y la abundancia de las especies no sólo pueden asociarse al tamaño del hábitat remanente sino también al incremento de la relación perímetro/superficie del remanente, o "efecto borde". Esta zona perimetral del fragmento (borde) es considerada un hábitat de menor calidad en la cual contrastan la vegetación nativa del fragmento y la matriz que lo rodea (Fahrig 2003; Santos & Tellería 2006). El efecto "borde" puede alterar diversos factores abióticos (flujo del viento y la radiación solar), influir en las condiciones de crecimiento de algunos organismos y alterar las interacciones entre los mismos (Fahrig 2003; Chacoff & Aizen 2006; Altamirano et al. 2007; Diekötter et al. 2007; Brosi 2009).

Otro de los efectos negativos del proceso de fragmentación sobre la diversidad y la abundancia de las especies asociadas a ese hábitat es el incremento del aislamiento entre fragmentos (Aizen & Feinsinger 1994b; Gibbs & Stanton 2001; Peitinger et al. 2003; Cagnolo et al. 2006; Crist et al. 2006; Watling & Donnelly 2006; Galetto et al. 2007; Herrera et al. 2011). Un menor aislamiento implicaría una mayor proporción de hábitat nativo en el paisaje en comparación a un paisaje con fragmentos más distanciados entre sí (Fahrig 2003). En general, el grado de aislamiento presenta una relación negativa con la posibilidad de que los organismos colonicen otros fragmentos, lo cual puede asociarse al esfuerzo de atravesar la matriz que rodea a los fragmentos (Ricketts 2001; Bhattacharya et al. 2003; Fahrig 2003).

En las últimas décadas existe un interés creciente en conocer los efectos de los disturbios en el paisaje, como la pérdida y la disrupción del hábitat, sobre las interacciones que mantienen las plantas y las consecuencias que estos disturbios tienen sobre su éxito reproductivo. Una de las interacciones más estudiadas es la que involucra a plantas y polinizadores (Aizen & Feinsinger 1994b; Steffan-

Dewenter et al. 2001, 2002; Aguilar et al. 2006; Diekötter et al. 2007; García & Chacoff 2007; Taki et al. 2007; Andrieu et al. 2009; Winfree et al. 2009; Garibaldi et al. 2011; Hadley & Betts 2011). La dinámica de las interacciones planta-polinizador se relaciona con la abundancia relativa de los recursos florales (Feinsinger et al. 1987; Brody & Mitchell 1997; Ghazoul 2004). Así, un cambio en la composición relativa y en la abundancia de las plantas causada por alteraciones del hábitat puede llevar a la reestructuración de la red de interacciones planta-polinizador (Ghazoul 2004; Aizen & Vázquez 2006; Ferreras et al. 2007; Andrieu et al. 2009). El proceso de fragmentación también puede modificar las interacciones planta-polinizador a través de cambios en la abundancia, composición y diversidad de los polinizadores sensibles a las perturbaciones (Aizen & Feinsinger 1994a y b; Murcia 1996; Steffan-Dewenter et al. 2001; Donaldson et al. 2002; Diekötter et al. 2007; Rosin et al. 2012) y ello repercutir negativamente en la producción de frutos y semillas (Aizen et al. 2002; Aguilar & Galetto 2004; Aguilar 2005; Aguilar et al. 2006; Aizen 2007).

Por otro lado, la interacción planta-predador de semillas es considerada en numerosos ecosistemas una de las mayores fuentes de mortalidad de la progenie vegetal y, por consiguiente, una de las principales relaciones antagonistas que mantienen las plantas (Nurse et al. 2003; Honex & Martinkova 2005; Hulme & Kollmann 2005; Nakagawa et al. 2005; Silvius 2005). Como consecuencia del proceso de fragmentación, la riqueza y la abundancia de los insectos predadores podrían verse alteradas, entre otras cosas, por variaciones en la fenología de las plantas (Honex & Martinkova 2005; Chang et al. 2011; Rossi et al. 2011), la disminución de la diversidad vegetal del sitio (Crist et al. 2006) y la disponibilidad del recurso (Calvo-Irabién & Islas-Luna 1999; Zschokke et al. 2000; Steffan-Dewenter et al. 2001; Cascante et al. 2002; Steffan-Dewenter & Tschardtke 2002; Farwig et al. 2009). Estas alteraciones en los predadores pueden tener un efecto directo sobre la tasa de predación de las semillas (Bigger 1999; Cunningham 2000b; Chacoff et al. 2004; Ward & Johnson 2005; Farwig et al. 2009).

Se ha postulado que el efecto de la fragmentación sobre el éxito reproductivo de las plantas dependerá del impacto relativo de este disturbio sobre las interacciones antagonistas y mutualistas (Cunningham 2000b; Steffan-Dewenter & Tschardt 2001; Farwig et al. 2009). Si ambas interacciones son afectadas negativamente y en una magnitud similar, la reducción en la producción de semillas que se produce como consecuencia del efecto sobre los polinizadores podría compensarse con una disminución en la intensidad de predación, por lo que el éxito reproductivo neto de las plantas no se vería afectado por la fragmentación (Steffan-Dewenter et al. 2001; Chacoff et al. 2004; Johnson et al. 2004; Ward & Johnson 2005). En cambio, si existe un efecto diferencial del disturbio sobre las interacciones antagonistas y mutualistas, el éxito reproductivo de las plantas aumentará o disminuirá dependiendo de la magnitud y el sentido del efecto de la fragmentación sobre dichas interacciones (García & Chacoff 2007). Es por esto que el estudio conjunto de las interacciones antagonistas y mutualistas resulta fundamental para entender el efecto de la fragmentación en las comunidades de plantas. No obstante, existen pocos estudios que hayan evaluado el efecto de estas interacciones combinadas sobre el éxito reproductivo de las plantas y los resultados que obtuvieron fueron dispares (Johnson et al. 2004; Diekötter et al. 2007; García & Chacoff 2007; Farwig et al. 2009). Esto pone de manifiesto la necesidad de obtener mayor evidencia empírica para establecer patrones generales sobre las consecuencias de la fragmentación del hábitat.

Como se mencionó anteriormente, el estudio de los efectos de la fragmentación del hábitat ha sido abordado principalmente considerando el tamaño y el aislamiento de los fragmentos como los componentes de mayor relevancia (Aizen & Feinsinger 1994a; Haila 2002; Fahrig 2003; Kattan & Murcia 2003; Valladares et al. 2006; Galetto et al. 2007). Sin embargo, se ha observado que el contexto que rodea a los remanentes de hábitat puede tener una importante influencia sobre la dinámica interna de los fragmentos y contribuir a explicar los patrones observados en ambientes fragmentados (Steffan-Dewenter et al. 2002; Steffan-Dewenter 2003; Altamirano et al. 2007; García & Chacoff 2007; Fahrig et al. 2011; Herrera et al. 2011). A su vez, determinados procesos y

patrones ocurren a escalas espaciales particulares y la escala espacial en la cual los organismos interactúan puede depender tanto del tipo de paisaje como de las características de las especies interactuantes (Steffan-Dewenter et al. 2002; Steffan-Dewenter 2003; García & Chacoff 2007; Farwig et al. 2009). En consecuencia, algunos autores han propuesto que un análisis a escalas espaciales múltiples, donde se contemple el contexto del paisaje circundante a los fragmentos, posibilitaría un mejor entendimiento del rol que cumplen los cambios en el paisaje a escalas superiores a la del fragmento, tanto en las interacciones bióticas como en los factores que modelan las dinámicas de las poblaciones y las comunidades a escala local (Steffan-Dewenter et al. 2001, 2002; Hadley & Betts 2011).

Los estudios que contemplan distintas escalas espaciales alrededor del fragmento comúnmente consideran la proporción de cobertura natural o seminatural y la diversidad de coberturas como variables potencialmente explicativas de la riqueza y abundancia de especies en los fragmentos (Steffan-Dewenter et al. 2002; Winfree et al. 2007; Brosi et al. 2008; Jauker et al. 2009). Una mayor proporción de hábitat natural en las inmediaciones de un determinado sitio supone una mayor disponibilidad de recursos similares a los presentes en el fragmento, lo que contribuye a mantener la diversidad y abundancia local, particularmente de aquellas especies especialistas de hábitat (Krauss et al. 2003). Por otro lado, la incorporación de la diversidad de coberturas en torno a los sitios permite considerar recursos localizados fuera del fragmento que pueden ser utilizados por algunas especies como complemento de aquellos presentes en el hábitat nativo remanente. Esto puede atenuar los efectos negativos derivados de la fragmentación, sobre todo para aquellas especies consideradas generalistas de hábitat (ej. Steffan-Dewenter et al. 2002; Krauss et al. 2003; Winfree et al. 2008; Fahrig et al. 2011; Hadley & Betts 2011). Un ambiente heterogéneo puede impactar positivamente en la riqueza y la abundancia de insectos, incluso en un paisaje con baja proporción de hábitat natural (Bascompte & Rodriguez 2001; Steffan-Dewenter et al. 2001, 2002;

Tscharntke et al. 2002; Krauss et al. 2003; Rundolf et al. 2008; Winfree et al. 2008; Fahrig et al. 2011).

Si bien la fragmentación de los bosques es un proceso que puede ocurrir naturalmente, la principal causa actual en Argentina ha sido la expansión e intensificación del uso antrópico de la tierra (Zak et al. 2004). Las perturbaciones más agresivas para el bosque nativo de Córdoba han sido y son el avance de la frontera urbana y el incremento de la superficie destinada a fines agrícolas (Gavier & Bucher 2004; Zak et al. 2004). Como consecuencia, los ecosistemas de bosques naturales se han ido transformando en un bosque empobrecido conformado por pequeños fragmentos cada vez más aislados entre sí, comprometiendo la posibilidad de proporcionar servicios y bienes ambientales (Montenegro et al. 2005).

La zona norte de la provincia de Córdoba se ha visto muy afectada por la fragmentación durante los últimos 30 años, con una reducción del 94 % de la cobertura del bosque natural (Zak et al. 2004). Entre 1998 y 2002 se han deforestado 122.789 ha de bosque nativo en la región correspondiente al Parque Chaqueño de la provincia de Córdoba, dejando unas 16.108 ha de tierras forestales fragmentadas. Durante ese período, la tasa anual de deforestación calculada para la provincia fue del 2,93 %, superando 13 veces el promedio mundial (estimado en 0,23 % durante el período 1990-2000; Bono et al. 2004). Los últimos datos sobre el seguimiento de los bosques nativos realizados hasta el año 2006 sitúan a Córdoba como la provincia con mayor tasa de deforestación del país (Montenegro et al. 2007). En las sierras de Córdoba, la deforestación sufrida en el pedemonte tiene importantes efectos ambientales adversos, tanto sobre los servicios como sobre los bienes ambientales (Gavier & Bucher 2004). En relación a nuestra zona de estudio, Gavier y Bucher (2004) predicen que para el año 2020 ocurrirá una reducción del 50% de la superficie que ocupaba el bosque nativo en el año 1970.

La intención de plantear y desarrollar este trabajo surgió a partir del poco conocimiento que existe acerca del efecto de la fragmentación sobre el éxito reproductivo de las plantas cuando se evalúan conjuntamente las interacciones

planta-polinizador y planta-predador, considerando, a su vez, diferentes escalas espaciales (local de fragmento y de paisaje, teniendo en cuenta el contexto circundante a los fragmentos) (Diekötter et al. 2007; García & Chacoff 2007; Farwig et al. 2009).

La hipótesis general propuesta es que la riqueza y la abundancia de los insectos polinizadores y predadores de semillas pre-dispersión disminuirán con el aumento del aislamiento y la disminución del tamaño de los fragmentos de bosque (escala local) y con la pérdida de la cobertura de bosque y la disminución de la heterogeneidad circundante a los fragmentos (escala de paisaje). Dado que se predice que las interacciones mutualista (polinización) y antagonista (predación) serán afectadas negativamente por la fragmentación, se espera que el éxito reproductivo final de la comunidad de plantas sea similar entre los sitios de bosque considerados.

En este trabajo se abordó el siguiente objetivo general:

### **Objetivo General**

Analizar los efectos del proceso de fragmentación sobre la riqueza y la abundancia de los insectos polinizadores y de los predadores de semillas pre-dispersión y sobre el éxito reproductivo de las especies vegetales seleccionadas. El proceso de fragmentación se evaluará desde dos aproximaciones complementarias, considerando indicadores tanto para la escala local (fragmento) como del paisaje circundante a los fragmentos.

El objetivo general se dividió en los siguientes objetivos específicos:

### **Objetivos específicos**

- Estimar la riqueza y la frecuencia de visitas de los insectos polinizadores asociados a las especies vegetales seleccionadas.
- Cuantificar la riqueza y la abundancia de los insectos predadores de semillas pre-dispersión para el grupo de las especies vegetales seleccionadas.

- Determinar la producción de semillas potenciales, sin la actividad de los predadores, y la producción efectiva (ej. considerando la predación natural en el campo).
- Evaluar el éxito reproductivo de las plantas en relación al proceso de fragmentación considerando las interacciones planta-polinizador y planta-predador de semilla.

Luego de esta sección correspondiente a la introducción general, y a los fines de desarrollar los objetivos planteados, la tesis se estructuró en diferentes capítulos. Los dos primeros evalúan el efecto de la fragmentación, desde un enfoque a escala de fragmento y a escala de paisaje, sobre interacciones bióticas planta-insecto. La relación planta-polinizador se aborda en el primer capítulo y planta-predador de semillas pre-dispersión en el segundo. En el tercero se analizan los efectos del proceso de fragmentación del bosque sobre el éxito reproductivo de las especies vegetales seleccionadas. Finalmente, se realiza una discusión general considerando todas las interacciones y las variables analizadas en el contexto de la fragmentación.

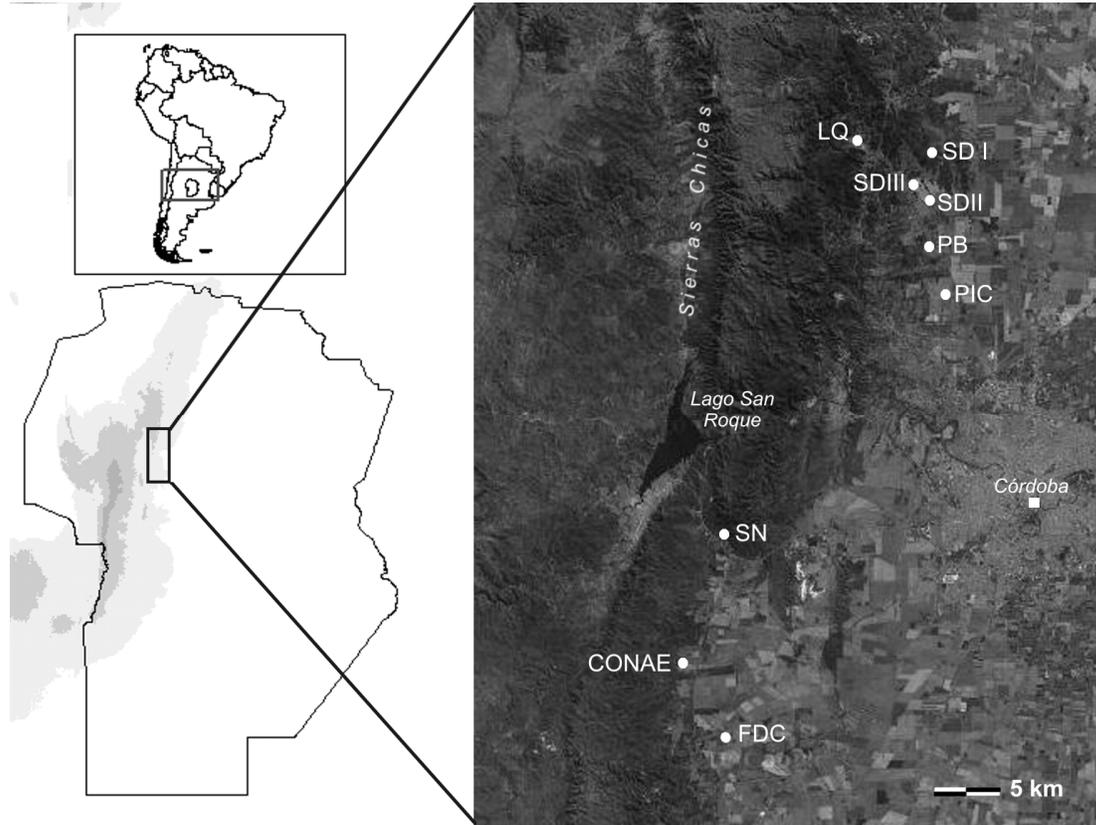
## **MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES**

### **Área de estudio**

La provincia fitogeográfica Chaqueña forma parte del bosque seco ininterrumpido más grande de Sudamérica (Moglia & Giménez 1998 y referencias allí citadas). Dentro de esta provincia se encuentra el Distrito Chaqueño Serrano (Cabrera 1976), el cual se extiende en los faldeos de las Sierras Pampeanas y Subandinas en las provincias de Salta, Jujuy, Tucumán y Catamarca, prolongándose hacia el sur hasta las Sierras de La Rioja, San Luis, San Juan y Córdoba. Los bosque del Chaco Serrano se componen de tres estratos característicos: el arbóreo de altura relativamente baja (de 8 a 12m de altura), el arbustivo (1,5 a 3 m) y el herbáceo (0 a 1,5 m) (Sayago 1969; Luti et al. 1979; Vervoorst 1982; Cabido et al. 1991).

El presente estudio se desarrolló en el pedemonte del Bosque Serrano, en la ladera oriental de las Sierras Chicas en la región fitogeográfica del Distrito Chaqueño Serrano (Cabrera 1976). Los sitios de muestreo (Figura I.1) se localizaron dentro de un rango altitudinal que varió entre los 500 y 850 m.s.n.m., siendo 750 mm el promedio anual de precipitaciones para esta zona (Luti et al. 1979; Moglia & Giménez 1998).

A partir de imágenes satelitales (Landsat Thematic Mapper, path 229, row 082; 04/04/1997 y 20/01/1999) y visitas de campo, se seleccionaron nueve sitios de muestreo separados entre sí por más de 1000 m de distancia. Tres de estos sitios fueron denominados "bosque continuo" ya que poseen superficies mayores a 1000 ha y se supone que representan condiciones de hábitat más parecidas al bosque original previo al proceso de fragmentación. Los seis sitios restantes fueron fragmentos de bosque nativo en un gradiente de área (Tabla I.1). Asimismo, se procuró que la distancia de aislamiento al fragmento más cercano también fuera variable. De los nueve sitios analizados, seis de ellos se ubicaron a lo largo de la ruta E-53 que conecta la ciudad de Córdoba con la ciudad de Río Ceballos, Dpto. Colón y los tres restantes en la localidad de Falda del Carmen, Dpto. Punilla (Figura I.1).



**Figura I.1:** Mapa del área de estudio con los correspondientes sitios de muestreo indicados con puntos blancos dentro de la imagen satelital. Los sitios de La Quebrada (LQ), Santo Domingo (SDI), Picadas (PIC), Santo Domingo II (SD II), Pajas Blancas (PB), Santo Domingo III (SD III) se ubican en el Dpto. Colón, mientras que San Nicolás (SN), Falda del Carmen (FDC) y Conae (CONAE) se localizan en el Dpto. Punilla.

En la elección de los sitios se intentó conservar cierta uniformidad en el tiempo mínimo de aislamiento ( $\geq 7$  años), la estructura de la vegetación y el uso antrópico del bosque. A su vez, se procuró que el área muestreada dentro de cada sitio (fragmentos o bosque continuo) fuera similar para evitar diferencias de variabilidad interna entre sitios de distinto tamaño y también para uniformar el esfuerzo de muestreo.

**Tabla I.1:** Nomenclatura, referencia geográfica, superficie y aislamiento al fragmento más cercano de los sitios estudiados.

Nombre de los sitios	Nombre abreviado	Región	Georeferencia	Superficie (ha)	Aislamiento (m)
San Nicolás	SN	San Nicolás	S 31° 27' 11" W 64° 25' 17"	18.000	0
La Quebrada	LQ	Río Ceballos	S 31° 09' 18" W 64° 20' 49"	3.000	0
Santo Domingo I	SDI	Río Ceballos	S 31° 10' 59" W 64° 15' 29"	2.800	0
Picadas	PIC	Río Ceballos	S 31° 17' 4,8" W 64° 14' 0,0"	29,53	496
Falda del Carmen	FDC	San Nicolás	S 31° 35' 0,1" W 64° 26' 25"	13,77	75
Santo Domingo II	SD II	Río Ceballos	S 31° 12' 54" W 64° 15' 09"	10,7	202,3
Conae	CONAE	San Nicolás	S 31° 31' 28" W 64° 27' 30"	3,58	75
Pajas Blancas	PB	Río Ceballos	S 31° 13' 43" W 64° 16' 14"	2,89	280
Santo Domingo III	SD III	Río Ceballos	S 31° 11' 47" W 64° 17' 35"	1,14	228

### Especies vegetales estudiadas

La selección de las especies vegetales focales se realizó considerando resultados previos de la comunidad vegetal del Bosque Chaqueño Serrano relativos a la diversidad de cada uno de los fragmentos, fenología y consumo de semillas pre-dispersión (Aguilar 2005; Cagnolo et al. 2006; Galetto et al. 2007; Galetto comunicación personal). Con el fin de evitar un posible sesgo filogenético se seleccionaron especies de plantas con diferentes formas de vida (arbustos, árboles, enredaderas y herbáceas) pertenecientes a distintas familias botánicas, todas ellas dependientes de factores bióticos para su polinización y por lo tanto para la producción de frutos y semillas (Tabla I.2).

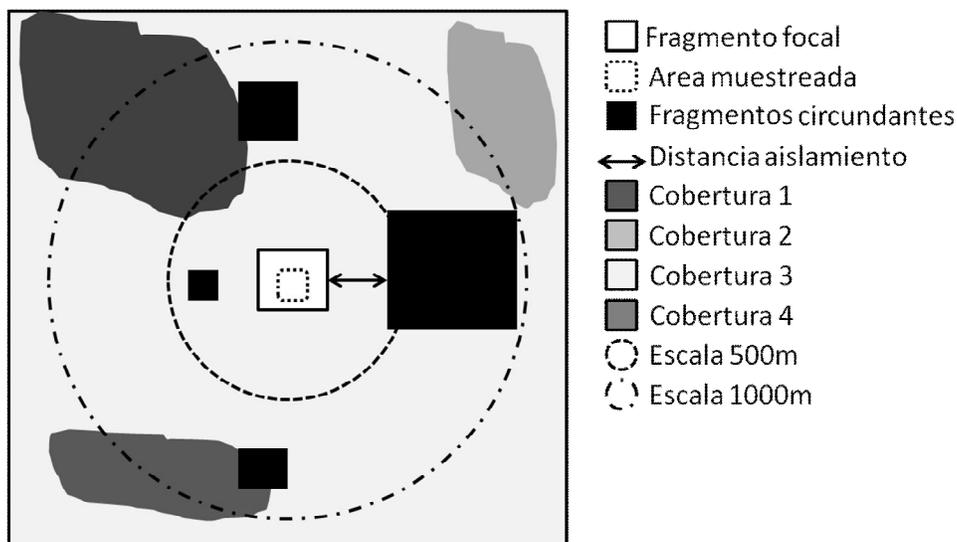
La recolección de los datos de campo se realizó entre los meses de agosto a julio durante dos temporadas (2003-2004 y 2004-2005). Dicho período abarcó toda la etapa de floración y de maduración de los frutos de las especies seleccionadas.

**Tabla 1.2:** Especies vegetales consideradas en el estudio, familia botánica a la que pertenecen y forma de vida.

Espece vegetal	Familia	Forma de vida
<i>Acacia caven</i> (Molina) Molina	Fabaceae	Árbol
<i>Aloysia gratissima</i> (Gill. et Hook.) Troncoso	Verbenaceae	Arbusto
<i>Amphilophium carolinae</i> (Lindl.) L.G. Lohmann	Bignoniaceae	Enredadera
<i>Clematis montevidensis</i> Spreng	Ranunculaceae	Enredadera
<i>Croton lachnostachyus</i> Baill.	Euphorbiaceae	Arbusto
<i>Dicliptera squarrosa</i> Nees	Acanthaceae	Herbácea
<i>Ipomoea rubiflora</i> O'Donnel	Convolvulaceae	Enredadera
<i>Mandevilla pentlandiana</i> (A. DC.) Woodson	Apocynaceae	Enredadera
<i>Sida rhombifolia</i> L.	Malvaceae	Herbácea

### **Variables de fragmentación**

Las variables utilizadas para evaluar el proceso de fragmentación se calcularon a partir de imágenes satelitales Landsat. Desde el enfoque basado en la teoría de biogeografía de islas, el efecto del proceso de fragmentación se evaluó a través del área y la distancia de aislamiento de los sitios de bosque, ambas medidas frecuentemente utilizadas en esta clase de estudios (ej. Aizen & Feinsinger 1994b; Donaldson et al. 2002; Fahrig 2003; Valladares et al. 2006). El aislamiento se calculó como la distancia en metros desde el borde del fragmento focal al fragmento vecino de bosque nativo de mayor tamaño más cercano (Figura 1.2). Si bien existen varias medidas para cuantificar el grado de aislamiento de los fragmentos, la distancia al vecino más cercano es comúnmente la más utilizada en estudios de este tipo y proporciona una medida de la discontinuidad en el paisaje circundante a los sitios de bosque (Bender et al. 2003). A los sitios de bosque continuo se les asignó un valor de aislamiento igual a 0 ya que representan al continente en el marco de la teoría de biogeografía de islas (Fahrig 2003; Aguilar 2005; Cagnolo 2006).

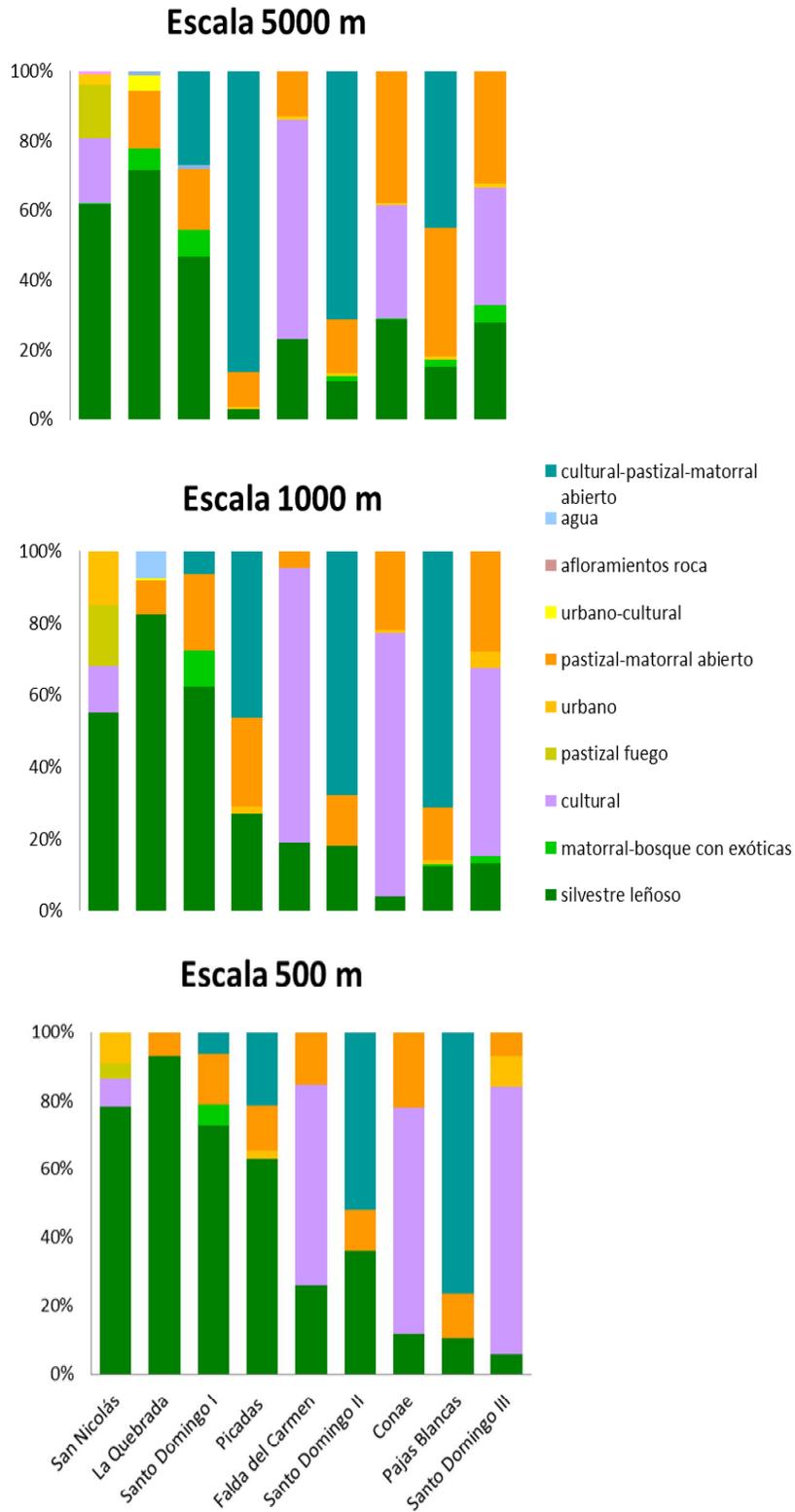


**Figura I.2.** Representación esquemática de las variables de fragmentación y de paisaje utilizadas.

Para el análisis a escala de paisaje se establecieron áreas circulares concéntricas de diámetros diferentes (500, 1000 y 5000 m), centradas en cada uno de los fragmentos de bosque o en las zonas de muestreo en los sitios de bosque continuo (datos provistos por el Dr. M. Zak) (Figura I.2). El tamaño de las áreas se seleccionó teniendo en cuenta las distancias a las que se han observado respuestas de polinizadores y predadores de semillas (por ejemplo, desplazamiento, rangos de vuelo, etc.) en estudios previos (Steffan-Dewenter et al. 2002; Brosi et al. 2009; Jauker et al. 2009). Cabe destacar que las áreas consideradas en los distintos sitios (fragmentos y continuos) no se superpusieron entre sí a ninguna escala, por lo que pueden considerarse independientes. Para cada una de las áreas circulares se calculó la cantidad de los diferentes "tipos" de cobertura vegetal que quedaban incluidas. Dichas coberturas se categorizaron como: bosque silvestre (conformada principalmente por bosque nativo), matorral y bosque con especies exóticas (compuesto principalmente por las especies *Ligustrum lucidum* W. T. Aiton (Oleaceae), *Gleditsia triacanthos* L. y *Lantana camara* L. (Verbenaceae) (ej. Gabier & Bucher 2004; Ferreras et al. 2008; Grilli & Galetto 2009; Ferreras & Galetto 2010), cultural (terrenos de uso agrícola), pastizales y zonas incendiadas y áreas urbanas (Figura I.3).

A partir de estos datos se calcularon la diversidad de coberturas y la cobertura de bosque silvestre para cada una de las áreas circulares mencionadas anteriormente (Tabla I.3). La heterogeneidad del paisaje se calculó utilizando el índice de diversidad de Shannon-Wiener ( $H' = - \sum p_i \times \ln p_i$ ), donde  $p_i$  es la proporción de cada uno de los “tipos” de cobertura. Esta variable proporciona una medida de la heterogeneidad del paisaje que es comúnmente utilizada en trabajos sobre fragmentación (ej. Thies & Tschardt 1999; Steffan-Dewenter et al. 2002; Krauss et al. 2003, 2010; Holzschuh et al. 2010).

En estudios que evalúan los efectos del paisaje sobre interacciones planta-animal suelen utilizarse distintas medidas de cobertura vegetal (ej. superficie no cultivada, cobertura seminatural, cobertura natural) que potencialmente pueden influir sobre la riqueza y abundancia de los organismos (ej. Krauss et al. 2003; Jauker et al. 2009; Winfree et al. 2011). En esta tesis se consideró la cobertura de bosque silvestre suponiendo que es el tipo de cobertura con mayor potencial para influir sobre las interacciones observadas en estos sitios de estudio, dado que sería la cobertura natural previa al proceso de fragmentación.



**Figura I.3.** Tipos de cobertura (%) de las áreas concéntricas (escalas de 500, 1000 y 5000 m de diámetro) correspondientes a los nueve sitios estudiados.

La diversidad de coberturas y la cantidad de bosque silvestre presentaron variaciones considerables entre los sitios, observándose gradientes en los valores de ambas variables para cada una de las escalas consideradas (Tabla I.3).

Las coberturas de tipo cultural (cultivos) junto a pastizales y matorrales abiertos fueron, proporcionalmente, las más representadas en áreas que incluían a los fragmentos en todas las escalas analizadas (Figura I.3). Mientras que para los sitios continuos la cobertura dominante en todas las escalas fue el bosque silvestre (Figura I.3). En general, a medida que aumentó la escala del paisaje también se incrementó la diversidad de coberturas y la cobertura correspondiente a bosque silvestre tanto a nivel relativo (%) (Figura I.3) como absoluto (ha) (Tabla I.3).

**Tabla I.3:** Diversidad de coberturas de suelo y cobertura de bosque silvestre (ha) en las diferentes escalas del paisaje (diámetros considerados). Los diámetros determinan áreas concéntricas de paisaje con superficies crecientes, centradas en el sitio de muestreo.

Sitio	Índice de diversidad			Cobertura de bosque silvestre		
	Escalas espaciales			Escalas espaciales		
	500 m	1000 m	5000 m	500 m	1000 m	5000 m
SN	0,75	1,18	1,02	15,43	43,23	1.222,70
LQ	0,25	0,62	0,91	18,30	64,58	1.403,21
SD I	0,86	1,03	1,26	14,30	48,86	920,28
PIC	0,98	1,14	0,49	12,39	21,06	57,00
FDC	0,95	0,66	0,94	5,10	14,76	450,71
SD II	0,96	0,85	0,87	7,13	14,13	214,42
CONAE	0,86	0,73	1,14	2,34	3,06	563,70
PB	0,71	0,86	1,14	2,07	9,53	297,73
SD III	0,75	1,18	1,29	1,14	10,21	547,87

### Análisis estadístico general

Los efectos de la fragmentación sobre las variables de polinización, predación de semillas y éxito reproductivo de las plantas se evaluaron mediante modelos lineales generales mixtos, los cuales permiten incorporar efectos fijos y aleatorios (Bolker et al. 2009). En una primera instancia se evaluaron los efectos a escala local ("área", "aislamiento" y la interacción entre ambos),

incorporándolos al modelo como efectos fijos, en tanto que “especie de planta” fue anidado dentro de cada sitio (fragmentos o continuos) como efecto aleatorio para contemplar la falta de independencia de las especies de plantas en un mismo sitio. Luego, manteniendo la estructura de anidamiento mencionada, se evaluaron los efectos de la “diversidad de coberturas”, cantidad de “cobertura de bosque silvestre” y la interacción entre ambos factores de manera separada para cada escala (500, 1000 y 5000m). Los análisis a escala local y de cada uno de los diámetros de paisaje circundante se realizaron separadamente como comúnmente se procede en estudios de este tipo (Steffan-Dewenter et al. 2002; García & Chacoff 2007; Taki et al. 2007). A su vez, las temporadas también se analizaron en forma separada dado que la identidad de las especies de plantas consideradas varió entre ambas temporadas, lo que no permite separar el efecto del año muestreado y la composición de plantas para cada sitio en distintos años dado el número de sitios muestreados.

Un problema frecuente en estudios a escala de paisaje es que las variables de fragmentación suelen estar correlacionadas entre sí (ej. Steffan-Dewenter et al. 2002). Para determinar la existencia de colinealidad entre los indicadores considerados en este estudio, se realizó una matriz de correlación de Pearson (Tabla I.4). Los resultados obtenidos muestran que “área” se correlacionó significativamente con “cobertura de bosque silvestre” en todas las escalas consideradas. A su vez, los datos de dicha cobertura en las diferentes escalas se correlacionaron entre sí. Por otro lado, el “aislamiento” y la “diversidad de coberturas” a 500m se correlacionaron significativamente con la “cobertura de bosque silvestre” en el diámetro de 5000m. Más allá de la existencia de estas correlaciones entre las variables cabe destacar que no se observaron relaciones significativas de las variables dentro de una de las escalas analizadas (Tabla I.4). Dado que los análisis estadísticos se realizaron separadamente tanto al considerar área y aislamiento como diversidad de coberturas y cobertura de bosque silvestre a distintas escalas, no existieron problemas de colinealidad en los análisis.

Las distintas variables de respuesta fueron estandarizadas para contemplar las diferencias intrínsecas que existen entre las especies de plantas (ej. en número de flores, frutos, semillas, etc.) y poder establecer la respuesta general del subconjunto de especies a la fragmentación. La estandarización se realizó sustrayendo de cada dato a comparar la media de los valores observados en todos los fragmentos y dividiendo el resultado por la desviación estándar de dichos valores. Este tipo de estandarización permite comparar datos disímiles al momento de estimar la magnitud del efecto de un determinado factor, siendo ampliamente usada en estudios que procuran establecer un patrón de respuesta general a partir de estudios (o especies) que difieren considerablemente en los valores que presentan las variables (Galetto et al. 2007).

La significancia de los parámetros estimados para los efectos fijos fue evaluada utilizando pruebas de t, ya que es una prueba más robusta que las pruebas de cociente de verosimilitudes (likelihood ratio test) cuando el tamaño de la muestra es pequeño (Bolker et al. 2009). El nivel de significancia utilizado fue de  $\alpha=0,05$ . En todos los casos los modelos completos fueron simplificados manualmente por eliminación hacia atrás (backward), excluyendo factores no significativos hasta obtener el modelo más parsimonioso según el criterio estándar basado en el índice de Akaike (AIC). Un modelo es usualmente considerado más parsimonioso si presenta una diferencia de 2 unidades en los valores de AIC en relación a un modelo alternativo (Logan 2010).

Luego del análisis general se realizaron análisis similares para cada una de las especies por separado. El objetivo de realizar estos análisis complementarios fue exploratorio, intentando ver si las especies de plantas presentan respuestas especie-específicas y así poder ampliar la perspectiva en la discusión. Estos datos fueron analizados de manera similar a la que se explicó anteriormente excepto por la estructura de anidamiento, ahora innecesaria.

El nivel de significancia de los modelos fue corregida siguiendo el método de Bonferroni ya que se realizaron varias pruebas utilizando el mismo grupo de datos y esto puede incrementar las chances de rechazar la hipótesis nula cuando ésta es verdadera (error tipo I). La corrección se llevó a cabo dividiendo el alfa por

el número de pruebas realizadas, teniendo en cuenta las diferentes escalas, temporadas y especies analizadas.

Los modelos mixtos se construyeron utilizando el paquete estadístico nlme (Pinheiro et al. 2013) del programa R 2.15.2 (R Development Core Team, 2013).

**Tabla I.4.** Matriz de correlaciones entre los distintos indicadores de la fragmentación. H y BS indican la diversidad de coberturas y la cobertura de bosque silvestre a distintas escalas (500, 1000 y 5000m). Por encima de la diagonal se indican los valores de  $p$  y por debajo los del coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ). En negrita se indican aquellas correlaciones que resultaron estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	Área (Log)	Aislamiento	BS500	BS1000	BS5000	H500	H1000	H5000
Área (Log)	1	0,11	<b>0,0004</b>	<b>0,0006</b>	<b>0,01</b>	0,29	0,76	0,85
Aislamiento	-0,57	1	0,4	0,15	<b>0,01</b>	0,28	0,34	0,13
BS500	0,92	-0,32	1	<b>0,0003</b>	0,06	0,27	0,83	0,32
BS1000	0,91	-0,52	0,93	1	<b>0,01</b>	0,07	0,96	0,88
BS5000	0,8	-0,81	0,65	0,83	1	<b>0,02</b>	0,79	0,39
H500	-0,4	0,4	-0,41	-0,64	-0,73	1	0,4	0,66
H1000	0,12	0,36	0,08	-0,02	-0,1	0,32	1	0,94
H5000	-0,08	-0,54	-0,37	-0,06	0,33	-0,17	0,03	1

## CAPÍTULO I

### **Efecto de la fragmentación del bosque sobre la riqueza y la frecuencia de visita de los insectos polinizadores**

#### **INTRODUCCIÓN**

La polinización mediada por animales es considerada una de las interacciones más importantes en el ciclo de vida de las plantas (Kearns et al. 1998). Los agentes polinizadores desempeñan un papel preponderante durante la primera etapa del proceso de producción de frutos y semillas, transportando y depositando polen desde las anteras hacia los estigmas de las flores (ej. Tepedino 1979; Wilcock & Neiland 2002). En las especies de plantas que se reproducen sexualmente, la producción de frutos y semillas resulta indispensable para garantizar la descendencia y el mantenimiento de las poblaciones en el tiempo (Lee 1988; Ratcke & Jules 1993). Así, los polinizadores pueden modificar la estructura y la diversidad de la comunidad de plantas (Fontaine et al. 2006; Steffan-Dewenter et al. 2006). Por consiguiente, los polinizadores contribuyen en la conservación de la biodiversidad (Winfree et al. 2008; Garibaldi et al. 2011; Hadley & Betts 2011) y en la provisión de servicios ecosistémicos (ej. producción de alimentos, medicina, secuestro de carbono) (Chacoff et al. 2010; Winfree 2010).

La interacción planta-polinizador puede ser afectada por disturbios en el paisaje como la pérdida y la disrupción del hábitat (ej. Aizen & Feinsinger 1994b; Harris & Johnson 2004; Diekötter et al. 2007; Taki et al. 2007; Brosi 2009; Winfree et al. 2009; Hadley & Betts 2011). Frente a estos cambios en el paisaje, uno de los aspectos que se modifica es la diversidad y la abundancia de plantas nativas (Cagnolo et al. 2006; Rosin et al. 2012) y, en consecuencia, la cantidad y calidad de los recursos disponibles para los polinizadores (Harris & Johnson 2004; Valdivia et al. 2006; Herrerías-Diego et al. 2008). Sitios más grandes generalmente poseen una mayor disponibilidad de alimento (néctar, polen, etc.), lugares de nidificación y de apareamiento para los polinizadores (Brosi 2009).

Esto brinda a los polinizadores la posibilidad de optimizar el comportamiento de forrajeo, minimizar el gasto energético e incrementar el tiempo de permanencia en el sitio (Pyke 1981; Waser 1983; Brody & Mitchel 1997; Steffan-Dewenter et al. 2002; Stoner & Joern 2004; Diekötter et al. 2007; García & Chacoff 2007; Lopes & Buzato 2007). El proceso de fragmentación produce además un incremento de la zona "borde" que profundiza el contraste entre la vegetación del fragmento y la de la matriz, lo que puede influir en el patrón de movilidad de los polinizadores. Si la matriz les resulta un ambiente hostil, deben invertir mayor energía para atravesarla y localizar fuentes de alimento o lugares de nidificación (Harris & Johnson 2004; Brosi 2009; Jauker et al. 2009). Por otro lado, la mayor movilidad entre sitios los expone a otros peligros como sus enemigos naturales (Tscharntke et al. 1998; Bhattacharya et al. 2003; Jauker et al. 2009) o a los pesticidas (Kearns et al. 1998; Brosi et al. 2008). A su vez, el incremento de la distancia entre fragmentos puede influir en la interacción planta-polinizador alterando la red de interacciones y disminuyendo la riqueza de especies polinizadoras y la tasa de visita a las plantas. Esto puede repercutir en la fertilidad de las plantas y, finalmente, en la demografía de las poblaciones vegetales (ej. Aizen & Feinsinger 1994a; Goverde et al. 2002; Brosi 2009; Garibaldi et al. 2011).

Numerosos factores resultantes de la fragmentación del hábitat pueden impactar de forma negativa sobre la interacción planta-polinizador. Sin embargo, los estudios que han evaluado los efectos de la fragmentación en dicha interacción mutualista han arribado a resultados altamente heterogéneos. Por ejemplo, se ha observado que la abundancia de polinizadores en relación a la fragmentación del hábitat puede presentar asociaciones tanto negativas como positivas (Steffan-Dewenter & Tscharntke 2000; Donaldson et al. 2002; Aguilar 2005; Steffan-Dewenter et al. 2006; Valdivia et al. 2006; Diekötter et al. 2007). Los estudios realizados en el Bosque Chaqueño tampoco han encontrado patrones consistentes al respecto (Aizen & Feinsinger 1994 b; Aguilar 2005; Galetto et al. 2007).

Desde un enfoque a escala de paisaje, se considera que la cantidad de cobertura natural (o seminatural) y la diversidad de coberturas circundantes son factores que pueden influir en la riqueza y en la abundancia de los polinizadores (Steffan-Dewenter et al. 2002; Tschardt et al. 2002; Rundolf et al. 2008; Winfree et al. 2008; Fahrig et al. 2011). La cobertura natural circundante, al ser similar en composición y estructura a la vegetación de los fragmentos, puede atenuar el grado de aislamiento actuando como zona de tránsito que facilite la dispersión de los polinizadores entre los fragmentos. Esto resulta particularmente importante para el mantenimiento de poblaciones de especies especialistas de hábitat (Stoner & Joern 2004; Jauker et al. 2009; Herrera 2011). Por otro lado, la heterogeneidad en el paisaje puede proveer recursos alternativos a los de los fragmentos, por ejemplo para el forrajeo y la nidificación de los polinizadores (Cane et al. 2006; Brosi et al. 2008; Fahrig et al. 2011). Este aporte de recursos complementarios puede reducir el efecto negativo de la fragmentación del hábitat sobre las especies de polinizadores, sobre todo de aquéllas clasificadas como generalistas de hábitat (Krauss et al. 2003; Winfree 2010; Winfree et al. 2011; Öckinger et al. 2012). Así, un hábitat heterogéneo puede contener una considerable riqueza y abundancia de polinizadores (Steffan-Dewenter et al. 2002; Tschardt et al. 2002; Rundolf et al. 2008; Winfree et al. 2008; Fahrig et al. 2011).

El efecto que el contexto del paisaje tiene sobre los polinizadores depende de la escala espacial, dado que los polinizadores pueden responder diferencialmente al paisaje circundante de acuerdo a su capacidad de dispersión y las características de su historia de vida (Steffan-Dewenter et al. 2002; García & Chacoff 2007; Taki et al. 2007). En particular, la evidencia muestra que los polinizadores pueden responder a la diversidad de coberturas y a la cantidad de hábitat natural a distintas escalas espaciales (Steffan-Dewenter et al. 2002; Krauss et al. 2003; Winfree et al. 2007; Brosi et al. 2008)

En este capítulo se evaluaron los efectos de la fragmentación del bosque sobre la frecuencia de visitas y la riqueza de polinizadores en especies de plantas nativas que ocurren en un área fragmentada de Bosque Chaqueño Serrano. Esta

evaluación se realizó desde un enfoque a escala de fragmento, considerando área y aislamiento, y desde una perspectiva de paisaje, en función de la diversidad de coberturas y de la cantidad de bosque natural en áreas circulares de diámetro creciente.

Desde un enfoque centrado en el fragmento, se espera que la riqueza y la frecuencia de visita de los insectos polinizadores disminuyan a medida que el área de los fragmentos decrece y la distancia de aislamiento aumenta. Desde un enfoque centrado en la escala del paisaje se espera que la riqueza y la frecuencia de visita de los polinizadores se vean afectadas negativamente por la pérdida de la cobertura de bosque y la disminución de la heterogeneidad del hábitat. A su vez, se espera que la respuesta de los polinizadores a los cambios en el paisaje se observe incluso a las escalas más grandes, ya que datos previos colectados en la zona de estudio (Aguilar 2005; Galetto et al. 2007) muestran que el ensamble de polinizadores de algunas de las plantas consideradas en esta tesis cuenta con varias especies que poseen alta capacidad de dispersión (ej. ápidos, sírfidos, bombílidos, lepidópteros).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Sitios y especies vegetales seleccionadas**

El estudio se desarrolló en nueve sitios remanentes de bosque Chaqueño Serrano, ubicados en el área que se describió detalladamente en materiales y métodos generales (Figura 1.2). Los muestreos se realizaron durante dos estaciones reproductivas, entre los meses de agosto a abril, según el período de floración particular de cada especie de planta, dentro de la franja horaria 9-18 horas, en días soleados, visitando cada sitio de muestreo al menos una vez por mes.

De las nueve especies vegetales nativas escogidas inicialmente (Tabla 1.2) para realizar el estudio, en este capítulo se seleccionaron siete (Tabla 1.1). Dentro de un mismo sitio de estudio se eligieron entre 3 y 5 individuos focales de cada

especie que no estuvieran próximos entre sí. Las variables pudieron ser medidas durante dos temporadas en dos de las especies (Tabla 1.1) debido a distintas dificultades (por ejemplo, adelanto de la época de floración, inclemencias climáticas, daño por animales, número insuficiente de individuos en el sitio para el análisis estadístico).

### **Riqueza y frecuencia de visita de polinizadores**

En cada visita a los sitios de muestreo se localizaron las plantas adultas marcadas previamente y que se encontraban en etapa reproductiva, contando el número de flores o inflorescencias que se encontraban aptas en ese momento para ser polinizadas y fertilizadas dentro de un área de aproximadamente 80 x 80 cm en cada una (Dafni 1992). En esa misma área se registró por un periodo de 5 minutos por día, por planta y por sitio, el número de flores que visitaba cada especie de polinizador. Se consideraron insectos "polinizadores" a aquellos que durante su visita contactaron los órganos reproductivos de la flor. Se observaron en promedio 30 minutos por especie vegetal por sitio. A partir de la obtención de estos datos se calculó la frecuencia de visitas (FV) para cada especie de planta como:

$$FV = \frac{NFV}{NFD \cdot t}$$

donde NFV indica el número de flores (o inflorescencias) visitadas por los polinizadores, NFD el número de flores (o inflorescencias) disponibles y  $t$  el tiempo de observación (minutos) en el que se registraron las visitas (Dafni 1992). Los valores de FV brindan la proporción de flores (o inflorescencias) visitadas por minuto en relación a la disponibilidad del recurso floral. La FV se utilizó como una medida de la abundancia de los polinizadores (Aizen 2007).

La riqueza de las especies del ensamble de polinizadores para cada especie de planta se obtuvo de las observaciones realizadas en las flores para cuantificar la FV en cada sitio. Los visitantes florales fueron recolectados y conservados para su posterior identificación en el laboratorio.

Es probable que el tiempo de observación no fuera suficiente para medir la riqueza total de polinizadores que visitan a las distintas especies de plantas en cada sitio: los gráficos de riqueza acumulada en función de los minutos de observación no alcanzan asíntotas evidentes. Por ello, se calculó la riqueza utilizando el número de especies o morfoespecies identificadas que visitaron los individuos de las distintas especies de plantas en cada uno de los sitios de estudio en relación a los minutos de observación.

La clasificación taxonómica se realizó bajo la supervisión y el asesoramiento de la Biol. Mariana Musicante del Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba, a través de claves dicotómicas y comparaciones con ejemplares de la colección entomológica (Cátedra de Entomología, F.C.F.E.y.N.), alcanzándose hasta el menor nivel taxonómico posible. Los especímenes pertenecientes al Orden Hymenóptera se clasificaron según Michener y colaboradores (1994).

### **Análisis estadístico**

Los efectos de la fragmentación (a escala de sitio y de paisaje) sobre la riqueza de especies y la frecuencia de visita de los polinizadores se evaluaron mediante modelos lineales generales mixtos, como se detalla en la sección de Materiales y Métodos generales.

## **RESULTADOS**

Los períodos de floración variaron entre las especies de plantas y temporadas (Tabla 1.1). *Acacia caven* resultó la especie que comenzó a florecer más temprano, durante un periodo de tres meses, entre agosto y octubre. En contraposición, *Aloysia gratissima* fue la especie con el período de floración más extenso, abarcando desde octubre hasta abril del año siguiente. *Amphilophium carolinae* floreció durante un período de 5 meses, durante la primera temporada reproductiva, desde el mes de noviembre hasta marzo, mientras que atrasó su etapa de floración durante la segunda temporada, comenzando en diciembre y

finalizando en abril. *Sida rhombifolia* floreció desde marzo hasta abril en la primera estación reproductiva, mientras que en la segunda adelantó y extendió el período de floración, desde el mes de enero hasta abril. En los casos de *Croton lachnostachyus*, *Dicliptera squarrosa* y *Mandevilla pentlandiana*, todas florecieron durante un período de cuatro meses, entre diciembre y marzo.

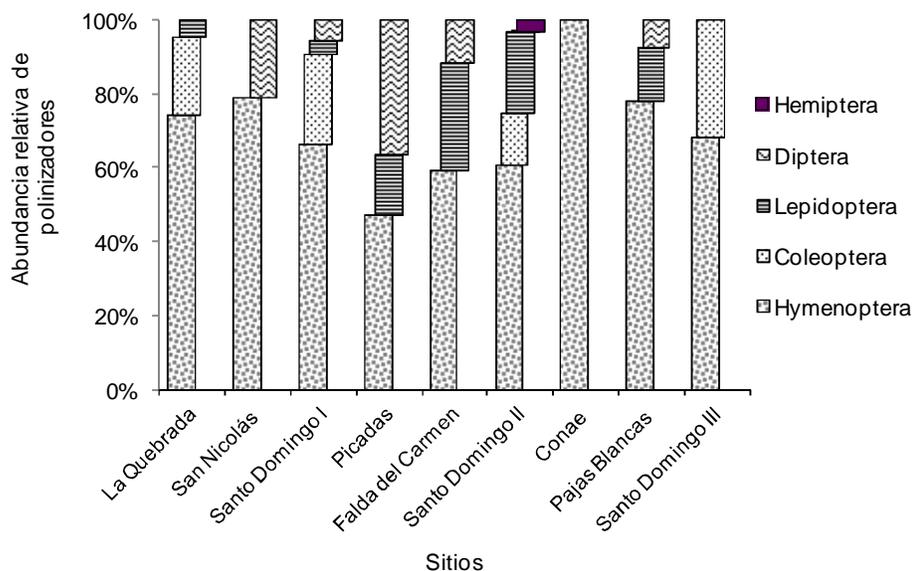
El ensamble de visitantes florales polinizadores de las especies estudiadas en los distintos sitios estuvo representado por especies pertenecientes a los órdenes Himenóptera, Coleóptera, Díptera, Lepidóptera y Hemíptera, dentro de los cuales se identificaron 47 especies y morfoespecies de insectos polinizadores (Figura 1.1 y Anexo 1.1). Himenóptera estuvo presente en los 9 sitios de estudio y fue el más abundante dentro de cada uno de ellos, constituyendo entre un 50 y 99 % del ensamble de polinizadores para este grupo de plantas. La menor abundancia relativa de Himenópteros se encontró en los tres sitios de superficie intermedia. Allí, los visitantes pertenecientes al orden Lepidóptera estuvieron más representados que en el resto de los sitios (Figura 1.1). La abundancia relativa de Lepidópteros varió entre los sitios y fluctuó entre el 3 y 30 %. El resto de los órdenes de insectos se encontraron ausentes en al menos alguno de los sitios.

**Tabla 1.1:** Fenología de floración de las especies estudiadas, correspondientes a las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2).

Especie	Temporada	Meses									
		Ag	Sept	Oct	Nov	Dic	En	Feb	Mzo	Abril	
<i>A. caven</i>	2	///	///	///	///						
<i>A. gratissima</i>	1			///	///	///	///	///	///	///	
<i>A. carolinae</i>	1				///	///	///	///	///	///	
	2				///	///	///	///	///	///	
<i>C. lachnostachyus</i>	1				///	///	///	///	///	///	
<i>D. squarrosa</i>	2				///	///	///	///	///	///	
<i>M. pentlandiana</i>	2					///	///	///	///	///	
<i>S. rhombifolia</i>	1						///	///	///	///	
	2						///	///	///	///	

Luego de los Himenópteros, los órdenes más abundantes fueron los Coleópteros y Dípteros, con un porcentaje máximo que rondó el 35%. Sin

embargo, los Dípteros tuvieron un amplio rango de variación, estando ausentes en algunos sitios o llegando a constituir hasta un tercio de las especies de polinizadores en otros. El menor porcentaje (4 %) lo presentó el orden Hemíptera, el cual estuvo representado sólo en uno de los nueve sitios (Santo Domingo II).



**Figura 1.1:** Abundancia relativa de los órdenes de insectos polinizadores registrados para el conjunto de plantas considerado, para cada uno de los sitios de muestreo (ordenados en un gradiente decreciente de área).

La riqueza de especies y la frecuencia de visitas no mostraron una relación significativa con el área y el aislamiento de los fragmentos en ninguna de las temporadas de muestreo (Tabla 1.2 y Tabla 1.3). Al considerar las variables de paisaje tampoco se observaron relaciones significativas entre las variables de polinización y la diversidad de coberturas o la cantidad de cobertura de bosque. Esta falta de relación se repitió en las superficies de distinto diámetro (500, 1000 y 5000m) como en las temporadas analizadas (Tabla 1.2 y Tabla 1.3).

**Tabla 1.2:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando la riqueza de especies de polinizadores para el conjunto de plantas considerado en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y de superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escala	Variables	Temporada 1				Temporada 2			
		Parámetro estimado	Error estándar	t	p	Parámetro estimado	Error estándar	t	p
Fragmento	Área(log)	0,1243	0,1215	1,02	0,35	0,1380	0,1016	-1,43	0,15
	Aislamiento	0,0023	0,0024	0,95	0,38	0,0024	0,0018	1,28	0,25
	Área:Aislam.	-0,0006	0,0014	-0,45	0,67	-0,0012	0,0011	-1,06	0,34
Escala 500m	BS	-0,0162	0,1036	-0,15	0,86	-0,0918	0,0845	-1,08	0,32
	H	-0,5675	2,0794	-0,27	0,79	-1,6455	1,6530	-0,99	0,36
	BS : H	0,0414	0,1326	0,31	0,76	0,1168	0,1089	1,16	0,29
Escala 1000m	BS	0,0397	0,0241	1,64	0,16	-0,013	0,0206	-0,62	0,55
	H	1,8187	1,0813	1,68	0,15	0,117	0,7979	0,14	0,88
	BS : H	-0,0453	0,0285	-1,59	0,17	0,014	0,0232	-0,62	0,55
Escala 5000m	BS	-0,0006	0,0015	-0,43	0,69	0,0003	0,0013	0,21	0,83
	H	-0,7410	0,7546	-0,98	0,37	-0,1030	0,6667	-0,15	0,88
	BS : H	0,0006	0,0015	0,43	0,68	-0,0002	0,0013	-0,18	0,86

En los análisis exploratorios realizados para cada especie de planta en particular, con el objeto de intentar analizar posibles tendencias especie-específicas que permitan discutir los resultados generales encontrados para el conjunto de plantas, se observaron los mismos resultados que para el conjunto de plantas: los polinizadores no mostraron relación con las variables usadas para caracterizar a los fragmentos de bosque y sus entornos.

**Tabla 1.3:** Resultados de los modelos lineales generalizados mixtos evaluando la frecuencia de visita de polinizadores para el conjunto de plantas considerado en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y de superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escala	Variables	Temporada 1				Temporada 2			
		Parámetro estimado	Error est.	t	p	Parámetro estimado	Error est.	t	p
Fragmento	Área(log)	0,0662	0,1209	0,55	0,60	0,1164	0,0957	1,21	0,27
	Aislamiento	0,0014	0,002	0,59	0,57	0,0014	0,0018	0,76	0,48
	Área:Aislam.	-0,0006	0,0014	-0,46	0,66	-0,0006	0,0011	-0,61	0,56
Escala 500m	BS	0,0521	0,1190	0,51	0,63	-0,0772	0,0825	-0,93	0,39
	H	0,6545	2,0426	0,32	0,76	-1,3970	1,6077	-0,87	0,42
	BS : H	-0,0559	0,1303	-0,43	0,68	0,1123	0,1051	1,06	0,33
Escala 1000m	BS	0,0392	0,0228	1,72	0,15	-0,0260	0,0190	-1,32	0,24
	H	1,5177	0,9738	1,55	0,17	-0,4266	0,8055	-0,53	0,61
	BS : H	-0,0433	0,0268	-1,61	0,16	0,0306	0,0228	1,34	0,23
Escala 5000m	BS	3,00E-05	0,0015	0,02	0,98	0,0003	0,0012	0,25	0,80
	H	-0,2249	0,7662	-0,29	0,78	-0,1819	0,6414	-0,28	0,79
	BS : H	3,00E-05	0,0015	0,02	0,98	-1,0000	0,0012	-0,13	0,89

## DISCUSIÓN

La teoría de biogeografía de islas en el marco de la fragmentación del hábitat predice que la disminución del área y el aumento en el aislamiento de los fragmentos impactan negativamente sobre la interacción planta-polinizador (MacArthur & Wilson 1967; Aizen & Feinsinger 1994a). Sin embargo, existen antecedentes heterogéneos de tales efectos sobre la frecuencia de visitas (FV) y la riqueza de los polinizadores (S) (Aguilar 2005; Galetto et al. 2007). Se ha observado que la disminución del área puede tener una influencia negativa sobre los polinizadores (Steffan-Dewenter & Tschardt 2000; Valdivia et al. 2006; Brosi 2009; Rosin et al. 2011), neutra (Donaldson et al. 2002; Brosi et al. 2008) e incluso positiva (Steffan-Dewenter & Tschardt 2000; Goverde et al. 2002). Los resultados obtenidos en este trabajo, desde una aproximación a escala de fragmento, no mostraron un efecto significativo de la reducción del área y el aumento del aislamiento de los fragmentos sobre las variables FV y S.

Trabajos previos realizados en la misma zona de estudio (Aguilar 2005; Galetto et al. 2007) muestran resultados coincidentes, en líneas generales, con los obtenidos en esta tesis. Aguilar (2005) observó que de las 14 especies de plantas consideradas, 10 de ellas no mostraron un efecto del área de los fragmentos sobre la frecuencia de visitas. Dos de las especies compartidas por este estudio y el de Aguilar (2005), *Acacia caven* y *Mandevilla pentlandiana*, coinciden en la falta de efecto significativo del tamaño del fragmento sobre la frecuencia de visitas de los polinizadores. Sin embargo, los resultados de ambos trabajos fueron contrastantes para las especies *Dicliptera squarrosa* y *Aloysia gratissima*. Mientras que en este trabajo no observamos efecto de la fragmentación sobre la frecuencia de visitas, Aguilar (2005) encontró una relación positiva entre el área del fragmento y la frecuencia de visitas para *D. squarrosa* en las dos temporadas analizadas, y una relación negativa para *A. gratissima* sólo en una de las temporadas de estudio. Cabe aclarar que la falta de efectos significativos registrados en esta tesis para las especies mencionadas ocurrieron incluso antes de realizar la corrección de Bonferroni.

En un estudio más extenso que incluyó casi 50 especies vegetales, Galetto y colaboradores (2007) observaron una alta variación en las respuestas de las plantas estudiadas a la fragmentación, registrando tanto relaciones positivas como neutras e incluso inversas de las variables de polinización con el área de los fragmentos. En dicho trabajo no se observó una relación significativa entre la frecuencia de visitas y el tamaño de los fragmentos, mientras que la existencia de una relación significativa entre la riqueza de polinizadores y el área de los fragmentos dependió de la aproximación del análisis estadístico. La relación fue positiva y levemente diferente de cero cuando los datos se analizaron mediante meta-análisis, mientras que en el análisis de regresión no se observó efecto alguno (Galetto et al. 2007).

Los efectos de la fragmentación sobre la relación planta-polinizador no siempre son los esperados desde una aproximación basada en la teoría de biogeografía de islas, tanto en la región del Bosque Chaqueño de Córdoba (Aguilar 2005; Galetto et al. 2007; esta tesis) como en otros sistemas (Donaldson et al. 2002; Goverde et al. 2002). En este sentido, se ha propuesto que los remanentes pequeños de bosque favorecerían la emigración de polinizadores y entonces sus poblaciones no podrían mantenerse en el largo plazo, por ejemplo, debido a su menor oferta de recursos (Waser 1983; Steffan-Dewenter & Tscharrntke 2000; Cagnolo et al. 2006). Sin embargo, los resultados indicarían que la emigración desde los fragmentos pequeños en la región del Bosque Chaqueño de Córdoba puede ser menor a la esperada. Se ha observado que ciertos polinizadores tienen gran capacidad de vuelo para poder desplazarse entre fragmentos aunque algunos presentan un comportamiento de fidelidad con el sitio relacionado a los lugares disponibles para nidificación (Donaldson et al. 2002; Brosi et al. 2008; Osborne et al. 2008). Una respuesta de este tipo se ha encontrado para abejorros del género *Bombus* (Himenoptera: Apidae), los cuales permanecen en el sitio en el que nidifican aun cuando se han eliminado casi por completo los recursos alimenticios del lugar (Bhattacharya et al. 2003). Por otro lado, las necesidades de los polinizadores pueden ser cubiertas por las especies de plantas en flor presentes en los fragmentos y/o las coberturas vegetales

circundantes, lo que contribuye a sostener sus poblaciones (Costin 2001). Varios estudios han encontrado que ciertos polinizadores son capaces de atravesar la matriz y movilizarse entre los fragmentos, anidar en ella e ingresar al fragmento al momento de forrajear (ej. Tscharnstke et al. 2002; Jules & Shahani 2003; Brosi et al. 2008; Farwig et al. 2009; Jauker et al. 2009). Es decir que el contexto circundante no siempre representa un verdadero obstáculo para la movilidad de los polinizadores, quienes a menudo no perciben una disrupción del hábitat y se desplazan entre fragmentos vecinos sin mayores inconvenientes (Lander et al. 2010). En este sentido, considerar a la matriz como un hábitat totalmente hostil para las especies que habitan en los fragmentos, es uno de los supuestos más criticados de los trabajos que enfocan el estudio de la fragmentación basándose en la teoría de biogeografía de islas (ej. Ricketts 2001; Potts et al. 2003; Brosi et al. 2008; Jauker et al. 2009).

De acuerdo a lo expuesto anteriormente se esperaba que la diversidad de coberturas y la cobertura de bosque silvestre contribuyeran a explicar las variaciones en riqueza y frecuencia de visitas de polinizadores observada en los fragmentos. Una mayor cantidad de bosque aportaría especies especialistas de hábitat que pudieran desplazarse entre los fragmentos (Stoner & Joern 2004; Jauker et al. 2009; Herrera 2011). Por otro lado, la heterogeneidad en el paisaje puede proveer recursos alternativos a los presentes en los fragmentos para las especies generalistas de hábitat, lo que también contribuiría a sostener las poblaciones de este tipo de especies e incluso aumentar su riqueza dentro de los remanentes de bosque (Cane et al. 2006; Brosi et al. 2008; Fahrig et al. 2011).

Contrariamente a lo esperado, no encontramos una relación significativa entre las variables de polinización y las características del paisaje en las diferentes escalas. Si bien es posible que la fragmentación no afecte la riqueza y la frecuencia de visita de los polinizadores, tal como indican nuestros resultados y estudios realizados en otros sistemas (ej. Brosi et al. 2008), también es plausible que tales efectos existan y no fue posible detectarlos en este estudio.

Una limitación del presente trabajo para analizar los efectos de la fragmentación en el nivel de organización de especie fue que la estimación de la

riqueza de polinizadores no llegó a ser completa para cada sitio (ver Materiales y Métodos). Por otro lado, quizá se utilizó un criterio demasiado restrictivo al definir al bosque silvestre como la única cobertura natural que contribuiría a explicar los patrones de la riqueza y la frecuencia de visita de los polinizadores. Existen otras coberturas (ver Figura 1.3), incluso más abundantes proporcionalmente que la de bosque, que también podrían mitigar los efectos de la pérdida de área de los fragmentos y no fueron contempladas en el análisis (ej. distintos tipos de matorrales). A su vez, el hecho de que no se haya registrado una relación con la diversidad de coberturas podría deberse a que los polinizadores estén aprovechando sólo tipos de coberturas específicas. Más allá de estas limitaciones, la falta de efectos de la fragmentación sobre la riqueza y frecuencia de visita de los polinizadores observada fue consistente, en líneas generales, con los estudios previos realizados en la misma zona de estudio (Aguilar 2005; Galetto et al. 2007). Además, en la producción de frutos y semillas (estrechamente ligada a la polinización) tampoco se observaron diferencias en relación a la fragmentación del hábitat (Capítulo III). Esto permitiría sostener que las limitaciones de este estudio en cuanto a la estimación de la riqueza de especies de polinizadores, no estarían enmascarando efectos de la fragmentación sobre la interacción planta-polinizador.

En resumen, los resultados obtenidos no muestran un efecto de la fragmentación sobre la riqueza de especies y la frecuencia de visita de los polinizadores. Numerosos autores han manifestado la dificultad de encontrar patrones generales de los efectos de la fragmentación sobre la interacción planta-polinizador (ej. Aizen & Feinsinger 1994a; Steffan-Dewenter et al. 2001; Aguilar 2005; Galetto et al. 2007; Nielsen et al. 2012). En muchos casos las respuestas dependen de las especies involucradas y de sus características particulares (Krauss et al. 2003; Aguilar et al. 2006; Galetto et al. 2007). Por ejemplo, en un estudio realizado con 16 tribus de polinizadores, encontraron que su abundancia y diversidad no fueron afectadas por la fragmentación del hábitat a nivel del fragmento, ni del paisaje circundante a diferentes escalas, exceptuando a la tribu de meliponas (Brosi et al. 2008).

La capacidad de dispersión (Debinski & Holt 2000; Brosi et al. 2008), la especialización alimentaria (Krauss et al. 2003; Biesmeijer et al. 2006), la preferencia por sitios de anidamiento (Waser 1983; Donaldson et al. 2002), son algunos de los factores frecuentemente implicados en las respuestas diferenciales a la fragmentación que manifiestan los polinizadores. Aun no se conoce con el suficiente detalle la biología de las especies de polinizadores estudiadas aquí por lo que no se pudieron establecer grupos a priori para evaluar la existencia de respuestas diferenciales a la fragmentación. En este sentido, sería importante realizar estudios sobre la historia natural de estos polinizadores para poder analizar con mayor profundidad los efectos de la fragmentación sobre la interacción que mantienen con las plantas.

**Anexo 1.1:** Riqueza y abundancia relativa de polinizadores, para cada especie de planta en los diferentes sitios de estudio y en ambas temporadas reproductivas 2003-2004 y 2004-2005.

Especie de planta	Identidad del polinizador	Sitios de muestreo								
		La Quebrada	San Nicolás	Santo Domingo I	Picadas	Falda del Carmen	Santo Domingo II	Conae	Pajas Blancas	Santo Domingo III
<i>Acacia caven</i>	HYMENOPTERA									
	Apidae									
		<i>Apis mellifera</i>	49.73	100.00		17.83				
	Halictidae									
		<i>Halictidae sp. 1</i>				14.57				
		<i>Halictus sp.</i>				75.80				
	DIPTERA									
		<i>Diptera sp.3</i>	10.16							
	Syrpydae									
		<i>Syrpydae sp.</i>	40.11			85.43				
	<i>sp. 2 s/i</i>					6.37				
	<i>sp. 1 s/i</i>						100.00			
<i>Amphilophium carolinae</i>	HYMENOPTERA									
	Apidae									
		<i>Apis mellifera</i>				68.34				
		<i>Apis sp. 1</i>	21.97							
		<i>Apis sp. 2</i>		100.00						
		<i>Bombus bellicosus</i>					5.04			
		<i>Bombus opifex</i>	16.76							
		<i>Centris tricolor</i>	20.23			5.88	64.75			
		<i>Exomalopsis sp.</i>				67.65				
	Halictidae									
		<i>Augocloropsis sp.</i>	34.68							
		<i>Halictus sp.</i>				5.88				
		<i>Dialictus sp.</i>					30.22			
	Vespidae									
	<i>Brachygastra lechiguana</i>				20.59					
	<i>Hymenoptera sp. 1</i>					31.66				
	<i>sp. 4 s/i</i>	6.36								
<i>Aloysia gratissima</i>	COLEOPTERA									
	Cerambycidae									
		<i>Cerambycidae sp.2</i>			33.71					
	DIPTERA									
	Syrpydae									
		<i>Syrpydae sp. 1</i>				39.18				
	Tabanidae									
		<i>Tabanidae sp.</i>					8.24			
		<i>Diptero sp.2</i>					19.15			
		<i>Diptero sp.4</i>							3.43	
	HYMENOPTERA									
Anthophoridae										
	<i>Anthophora sp.</i>							30.39		
Apidae										
	<i>Apis mellifera</i>			65.62	39.18	72.61	100.00	72.87	43.63	

Especie de planta	Identidad del polinizador	Sitios de muestreo								
		La Quebrada	San Nicolás	Santo Domingo I	Picadas	Falda del Carmen	Santo Domingo II	Conae	Pajas Blancas	Santo Domingo III
	Halictidae									
	<i>Augochloropsis</i> sp.		100.00							
	Vespidae									
	<i>Brachygastra lechiguana</i>							27.13	0.00	
	<i>Hymenoptera</i> sp. 2								22.55	
	LEPIDOPTERA									
	<i>Lepidoptera</i> sp. 7				21.65					
	<i>Lepidoptera</i> sp. 1			0.67						
<i>Croton lachnostachyus</i>	COLEOPTERA									
	Curculionidae									
	<i>Curculionidae</i> sp.									100.00
	Cerambycidae									
	<i>Cerambycidae</i> sp. 1							55.76		
	<i>Cerambycidae</i> sp. 3	21.45								
	DIPTERA									
	<i>Diptero</i> sp.1								1.91	
	Tabanidae									
	<i>Tabanidae</i> sp.			63.64						
	HEMIPTERA									
	<i>Hemipterae</i> sp.							13.38		
	HYMENOPTERA									
	Halictidae									
	<i>Augochlora nausica</i>							2.23		
	<i>Dialictus</i> sp.1							1.49		
	<i>Dialictus</i> sp.2		100.00							
	<i>Halictus</i> sp.				55.06					
	Apidae									
	<i>Apis mellifera</i>	74.97						27.14		
	Vespidae									
	<i>Brachygastra lechiguana</i>									
	<i>Hymenopterae</i> sp.1				41.57			100.00		98.09
	LEPIDOPTERA									
	<i>Lepidoptera</i> sp.5	3.58			3.37					
<i>Dicliptera squarrosa</i>	DIPTERA									
	Syrpydae									
	<i>Syrpydae</i> sp.								20.73	
	HYMENOPTERA									
	Halictidae									
	<i>Augochloropsis</i> sp.									100.00
	<i>Halictus</i> sp.								28.66	
	LEPIDOPTERA									
	<i>Lepidopterae</i> sp. 4					100.00			50.61	
<i>Mandevilla pentlandiana</i>	HYMENOPTERA									
	Apidae									
	<i>Apis mellifera</i>							100.00		77.50
	<i>Bombus morio</i>		100.00							22.50

Especie de planta	Identidad del polinizador	Sitios de muestreo								
		La Quebrada	San Nicolás	Santo Domingo I	Picadas	Falda del Carmen	Santo Domingo II	Conae	Pajas Blancas	Santo Domingo III
<i>Sida rhombifolia</i>	DIPTERA									
	<i>Diptero sp. 2</i>						0.43			
	HYMENOPTERA									
	Anthophoridae									
	<i>Anthophoridae sp. 1</i>			28.57						
	<i>Anthophoridae sp. 2</i>					71.43				
	<i>Exomalopsis sp.</i>				35.29					
	<i>Melissoptila sp.</i>									2.11
	Apidae									
	<i>Apis mellifera</i>			12.61						
	<i>Apis sp. 1</i>						1.29			
	Halictidae									
	<i>Dialictus sp. 1</i>				5.88					
	<i>Halictidae sp. 2</i>			41.18						
<i>Halictus sp.</i>									97.89	
LEPIDOPTERA										
<i>Lepidoptera sp. 2</i>			8.40							
<i>Lepidoptera sp. 3</i>			9.24							
<i>Lepidoptera sp. 4</i>	100.00				58.82					
<i>Lepidoptera sp. 6</i>						98.28				
<i>Lepidoptera sp. 7</i>						28.57				

## CAPÍTULO II

### **Efecto de la fragmentación del bosque sobre la predación pre-dispersión de semillas**

#### **INTRODUCCIÓN**

Entre las interacciones antagonistas que involucran plantas y animales, la predación de semillas es considerada una de las mayores fuentes de mortalidad de la siguiente generación de plantas (Nurse et al. 2003; Honek & Martinkova 2005; Hulme & Kollmann 2005; Nakagawa et al. 2005). Las semillas pueden ser dañadas antes de que intervenga el agente dispersor (predación pre-dispersión) y/o luego de la dispersión (predación post-dispersión). El daño en las semillas puede ser producido por un amplio espectro de animales como mamíferos, aves e insectos. (Bustamante & Simonetti 2000; Nakagawa et al. 2005; Hanson et al. 2006; Orrock et al. 2006). Estos últimos constituyen un grupo muy importante de predadores (Louda et al. 1990; Silvius 2005), llegando a ocasionar pérdidas superiores al 70% de las semillas producidas (Camargo-Ricalde et al. 2004; Johnson et al. 2004; Nakagawa et al. 2005).

Para los insectos predadores, las semillas representan un recurso fundamental dentro de su ciclo de vida dado que constituyen el soporte indispensable para la oviposición y el alimento necesario para el desarrollo y supervivencia de las larvas (Fenner et al. 2002; Nurse et al. 2003; Cariveau et al. 2004; Garcia-Robledo et al. 2005; Wepler & Stöcklin 2006). Las plantas con mayor cantidad de flores, semillas y/o frutos resultarían más conspicuas para los predadores (por medio de signos visuales y/u olfativos), concentrando en ellas mayores tasas de oviposición (Fenner et al. 2002; Garcia-Robledo et al. 2005; De Crop et al. 2012). Varios autores han encontrado asociaciones positivas de la intensidad de ataque de los predadores con la cantidad de flores producidas (Brody & Mitchel 1997; Ohashi & Yahara 2000; Leimu et al. 2002; Cariveau et al. 2004; García-Robledo et al. 2005; Arvanitis et al. 2007; De Crop et al. 2012), la

disponibilidad de semillas o la disponibilidad de óvulos (potenciales semillas) (Janzen 1970; Ohashi & Yahara 2000; Nurse et al. 2003).

La predación de semillas puede decrecer por cambios en la riqueza y abundancia de las especies de predadores al disminuir la diversidad y la abundancia de especies de plantas, producto de la fragmentación del hábitat (Honek & Martinkova 2005; Cagnolo et al. 2006; Crist et al. 2006; Herrerías-Diego et al. 2008). Esta reducción de las poblaciones de plantas hospedadoras puede afectar el comportamiento y la movilidad de los predadores de semillas, favoreciendo la emigración hacia otros sitios y obteniéndose como resultado una disminución de la cantidad de semillas predadas (Sheehan & Shelton 1989; Bergman & Landin 2001).

Por otro lado, la intensidad en la predación de semillas también puede verse indirectamente alterada a través de modificaciones en la interacción planta-polinizador (ej. Aizen & Feinsinger 1994a; Cunningham 2000b; Aguilar et al. 2006). De este modo, si la producción de semillas disminuye en los fragmentos pequeños como consecuencia de una menor actividad y eficiencia de los polinizadores, estas modificaciones del recurso afectarían directamente la riqueza y abundancia de los predadores (Calvo Iribién & Islas-Luna 1999; Zschokke et al. 2000; Steffan-Dewenter & Tscharrntke 2002; Watling & Donnelly 2006). A su vez, las interacciones que involucran niveles tróficos superiores, en este caso los enemigos naturales de los predadores de semillas, pueden influir en la intensidad de predación a través de la mortalidad que dichos enemigos naturales causan a sus hospedadores (predadores de semillas) (ej. Traveset 1991; Crist et al. 2006; Diekötter et al. 2007). De acuerdo a la teoría del rango trófico (Holt et al. 1999), los estratos superiores de las cadenas alimentarias serían más vulnerables a los efectos de la fragmentación. Esto se daría por una acumulación de efectos de la fragmentación sobre las poblaciones de organismos que se relacionan directamente con la producción de recursos, sumados a los efectos de la fragmentación sobre las poblaciones de enemigos naturales. Los organismos de niveles tróficos superiores poseen poblaciones más pequeñas, por lo que estarían sometidos a mayor riesgo de extinción local debida a factores ambientales, genéticos y demográficos (Holt et al. 1999). De esta manera, si la riqueza y la abundancia de enemigos naturales son

afectados negativamente por la fragmentación del hábitat, entonces los predadores de semilla tendrían menor presión de sus enemigos naturales en los fragmentos que en los continuos (Kruess & Tscharntke 2000). A partir de la evidencia disponible y del razonamiento propuesto, se espera encontrar una intensidad de predación mayor en los ambientes menos fragmentados siempre que la disponibilidad de semillas (el recurso) sea comparable entre sitios. Esto último se puede suponer ya que los resultados obtenidos en el capítulo anterior no muestran un efecto consistente del área y el aislamiento de los fragmentos en la riqueza y la frecuencia de visitas de los polinizadores en el conjunto de plantas estudiadas. Como consecuencia de esto, la producción de frutos y semillas no varió con la fragmentación (ver detalles en el capítulo 3).

Las alteraciones en la predación de semillas resultan interesantes de considerar dado que impactan sobre variables específicas de la biología reproductiva de las plantas y, por consiguiente, afectan de manera directa el "fitness" de los individuos y repercuten en la dinámica demográfica de esas poblaciones (ej. Sperens 1997; Cummings et al. 1999; Nurse et al. 2003; Camargo-Ricalde et al. 2004; Hulme & Kollmann 2005; Herrerías-Diego et al. 2008).

A pesar de la importancia de la interacción entre plantas y predadores de semillas, existen relativamente pocos trabajos que evalúen los efectos de la fragmentación a escala local (considerando área y aislamiento) sobre la predación de semillas (Steffan-Dewenter et al. 2001; Avaritis et al. 2007; García & Chacoff 2007; Burgos et al. 2008). A su vez, los resultados de estos estudios no son consistentes. Algunos trabajos aportan evidencias sobre la disminución en la predación de semillas con el aumento de la fragmentación (Bigger 1999; Cunningham 2000b; Steffan-Dewenter et al. 2001; Cascante et al. 2002; Chacoff et al. 2004; Herrerías-Diego et al. 2008), otros, por el contrario, encontraron un incremento de la predación con la fragmentación (Donoso et al. 2002; Arvanitis et al. 2007), mientras que en otros casos se reporta la ausencia de efectos consistentes (Johnson et al. 2004; Raghu et al. 2005; Ward & Johnson 2005; Diekötter et al. 2007; Burgos et al. 2008; Aguilar et al. 2012).

Los estudios de los efectos de la fragmentación sobre la predación de semillas a escala de paisaje resultan aún más escasos (Steffan-Dewenter et al. 2001; García & Chacoff 2007; Farwig et al. 2009). Sin embargo, se ha observado que algunos predadores de semillas responden a la complejidad del hábitat, incluso a escalas superiores a la que responden los polinizadores (Steffan-Dewenter et al. 2001). La evidencia disponible indica que la predación de semillas se incrementa con la cantidad de cobertura seminatural en el paisaje (Steffan-Dewenter et al. 2001; García & Chacoff 2007).

En este capítulo nos planteamos evaluar los efectos de la fragmentación del hábitat sobre la predación pre-dispersión de las semillas, tanto a escala local (considerando los factores área y distancia de aislamiento de los fragmentos) como a escala de paisaje (proporción y tipo de coberturas de suelo, considerando diámetros diferentes que representan distintas superficies de hábitat). Específicamente se evaluaron los cambios en la intensidad de la predación pre-dispersión en un grupo de plantas en distintos sitios que representan un gradiente de fragmentación. Si bien inicialmente se propuso también evaluar los efectos de la fragmentación sobre la riqueza de predadores de semillas, el número de especies de estos insectos fue bajo (ver Resultados) por lo que se consideraron solamente los efectos sobre la abundancia de estos predadores. Se evaluaron, además, los efectos de la fragmentación sobre los enemigos naturales de los predadores de semillas dado que el impacto que causan puede contribuir a explicar los patrones de predación de semillas.

Desde una perspectiva centrada en el fragmento, se espera que la predación pre-dispersión de semillas disminuya con el decrecimiento del área de los fragmentos y con el incremento de la distancia de aislamiento. A escala de paisaje se espera una influencia positiva de la cobertura de bosque sobre todo a las escalas menores, mientras que la contribución de la diversidad de coberturas no tendría un efecto sustancial sobre la intensidad de predación de semillas. Estas predicciones se basan en que, en general, los predadores de semillas son insectos endófagos relativamente pequeños (baja dispersión) y generalmente especialistas de las plantas que consumen (Chacoff et al. 2004). Es decir que la contribución a la

intensidad de predación observada en el fragmento provendría de parches de bosque cercanos y no de la matriz donde las especies hospedadoras de estos insectos están generalmente ausentes. Esto también se aplica a los enemigos naturales de los predadores de semillas ya que también son endófagos, de tamaño reducido y, generalmente, muestran un alto grado de especificidad en cuanto a sus hospedadores.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Especies estudiadas**

En los sitios seleccionados, tanto continuos como fragmentos, se colectaron frutos de 9 especies vegetales durante la primera temporada reproductiva comprendida entre los meses de noviembre a julio (Tabla 2.1). En algunas de las especies la predación de semillas resultó escasa o nula, luego de observar una gran cantidad de frutos y semillas en proporción a la producción natural de cada especie (Tabla 2.1), por lo que finalmente debieron descartarse para el análisis de los efectos de la fragmentación. Dichas especies fueron: *Aloysia gratissima*, *Clematis montevidensis*, *Ipomoea rubiflora*, *Mandevilla pentlandiana* y *Croton lachnostachyus*. En la segunda temporada también se recogieron semillas de estas especies, corroborándose la ausencia de predación. De esta manera se descartó que la falta de predación encontrada el primer año se debiera a un efecto temporal. Consecuentemente, las plantas para las que finalmente se obtuvieron datos relativos a la predación de semillas fueron: *Amphilophium carolinae*, *Acacia caven*, *Dicliptera squarrosa* y *Sida rhombifolia* (Tabla 2.1).

En cada uno de los sitios de muestreo se seleccionaron al azar entre 3 y 5 individuos de cada especie de planta. Estos individuos fueron revisados en cada visita al campo y, siguiendo la fenología de fructificación de cada especie de planta, los frutos maduros se fueron cosechando progresivamente, antes de que ocurra la dispersión de las semillas. De cada individuo se recolectó un mínimo de 5 frutos o infrutescencias (según la especie) expuestos naturalmente a los predadores. Para lograr una muestra representativa del individuo, la recolección de los frutos se

realizó en diferentes ramas, tallos o entrenudos, considerando las particularidades de cada una de las plantas en cuanto a su hábito de crecimiento.

### **Predadores de semillas y sus enemigos naturales**

Los frutos recolectados en el campo fueron almacenados en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente en bolsas de papel, en el laboratorio. Los frutos se conservaron por un período de 2 a 9 meses a los fines de permitir el desarrollo los posibles insectos inmaduros que allí se encontraran.

Las muestras fueron revisadas periódicamente y los insectos adultos emergentes fueron recolectados y conservados. Los estadios larvales en desarrollo que se encontraron dentro del fruto o de la semilla fueron colocados en un terrario para que el insecto completara su desarrollo, dado que la identificación de los estadios larvales es sumamente dificultosa. Los insectos obtenidos fueron identificados a la mayor resolución taxonómica posible (especie, género o morfoespecie) con la colaboración de especialistas del Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba.

En *Dicliptera squarrosa* y *Sida rhombifolia*, por diversas razones, resultó sumamente dificultoso criar los predadores de semillas y consecuentemente los enemigos naturales que atacan esas especies. Por el contrario en *Amphilophium carolinae* y en *Acacia caven* se lograron obtener exitosamente los predadores de semillas, pero sólo en *A. caven* se obtuvieron los enemigos naturales (parasitoides), por lo que el análisis de parasitismo debió restringirse a esta última especie.

### **Predación de semillas**

Todas las semillas de cada fruto de las distintas especies de plantas fueron observadas individualmente bajo la lupa para determinar el número de semillas predadas, abortadas y sanas, considerándose predadas aquéllas que presentaron signos de daño mecánico por insectos (orificios de salida de los insectos adultos o partes de la semilla faltante). A partir de estos datos se calculó la proporción de semillas predadas ( $n^\circ$  semillas dañadas/ $n^\circ$  de semillas disponibles) por fruto. Del total de semillas observadas por fruto, las semillas "disponibles" fueron aquéllas que

se encontraron dañadas, más las semillas sanas. Para este cálculo se descartaron las semillas abortadas, suponiendo que no eran semillas factibles de ser consumidas por los predadores.

La proporción de frutos predados por individuo se obtuvo como: el número de frutos con semillas predadas/ total de frutos observado por planta. La incorporación de este término se realizó con el objetivo de considerar el impacto de la predación de semillas sobre el individuo.

Finalmente, la intensidad de predación para cada individuo se calculó como:

***Intensidad de predación por individuo*** = proporción promedio de semillas predadas por fruto x proporción de frutos predados por individuo

Como se mencionara anteriormente, solamente en *A. caven* se obtuvieron predadores de semillas y parasitoides suficientes para poner a prueba la hipótesis propuesta sobre los enemigos naturales, de modo que los resultados para esta especie fueron tratados como un estudio de caso.

Dado que en *Acacia caven* se encontró más de un insecto emergiendo o dañando las semillas, y que cada uno de ellos dejaba una marca característica, fue posible calcular la proporción de semillas dañadas, discriminando según el tipo de insecto responsable del daño (ej. Chang et al. 2011). En algunos casos se pudo observar el momento mismo de la emergencia de los insectos, lo que permitió asignarle inequívocamente a cada "tipo de orificio de salida" (con forma y tamaño característico) la especie correspondiente de insecto emergente. Esto nos permitió tener una idea más detallada del impacto diferencial que cada uno de estos insectos causa en la producción de semillas de *A. caven*. Dado que dichos insectos pertenecen a grupos taxonómicos diferentes, la fragmentación del hábitat podría estar causando un efecto diferencial sobre ellos, lo cual podría reflejarse en la intensidad de predación de las semillas que cada uno de ellos produce. En resumen, para *A. caven* se calculó la intensidad de predación total y, además, la intensidad de predación causada por lepidópteros y por brúquidos separadamente. En el cálculo

de la intensidad de predación por brúquidos se incluyeron también semillas de las que emergieron sus parasitoides, dado que éstos últimos se alimentan de los estados inmaduros de brúquidos.

### **Análisis estadístico**

Los efectos de la fragmentación sobre la intensidad de predación se evaluaron con modelos lineales generales mixtos (ver detalles en Materiales y Métodos generales). Además, se realizó un análisis específico adicional para analizar la respuesta de los enemigos naturales a la fragmentación en *A. caven* por las particularidades en las interacciones descritas más arriba. En este caso particular se calculó la tasa de parasitismo en cada individuo de *A. caven* en los distintos fragmentos como: número de parasitoides/número de brúquidos totales (semillas con signos de emergencia de brúquidos y parasitoides). Este cálculo de la tasa de parasitismo es comúnmente utilizado para analizar este tipo de interacción (Mills & Kenis 1991).

## **RESULTADOS**

Con el objetivo de evaluar la predación de semillas en cada una de las especies de plantas consideradas en este estudio, se colectaron y revisaron individualmente 59.700 semillas provenientes de 5.500 frutos aproximadamente. Resultó llamativa la ausencia de predadores pre-dispersión de semillas en cinco de las especies estudiadas (Tabla 2.1).

En *Amphilophium carolinae* se contabilizaron en total 11.200 semillas, con un porcentaje promedio de 30 y 42 % de semillas predadas por fruto en cada una de las temporadas (Tabla 2.1). Al abrir los frutos se encontró al insecto responsable del daño en su estadio larval y luego de criar estos estados inmaduros en un terrario hasta completar su desarrollo, los adultos fueron finalmente identificados como mariposas pertenecientes a la familia Pyralidae (Lepidoptera), resultando este el único insecto predador en esta especie de planta.

En las especies *D. squarrosa* y *S. rhombifolia* los predadores emergieron antes de la maduración y la recolección de los frutos, por lo que no fue posible su identificación taxonómica. Sin embargo, estas especies presentaron siempre un mismo tipo de orificio de salida, por lo que se asumió que el daño en las semillas de cada una de ellas fue causado por una sola especie de insecto. *D. squarrosa* presentó un 9% promedio de semillas predadas en la primera temporada y un 60% en la segunda. La especie *S. rhombifolia* presentó porcentajes similares de predación en las dos temporadas, 17 y 23 % respectivamente (Tabla 2.1).

**Tabla 2.1:** Número de frutos y semillas colectados y revisados, período de recolección y temporadas de muestreo 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2) para cada una de las especies de plantas consideradas en la evaluación de la predación de semillas. \* Indica las especies en las que no se observó predación.

Especie	Temporada	Período de recolección	Frutos observados	Semillas totales observadas	Proporción de semillas predadas (% promedio)
<i>Acacia caven</i>	2	Enero-Febrero	183	4.769	53
<i>Aloysia gratissima</i> *	1	Noviembre-Febrero	3.372	6.746	0
<i>Amphilophium carolinae</i>	1	Febrero-Mayo	59	4.450	30
	2	Enero-Marzo	101	6.750	42
<i>Clematis montevidensis</i> *	1	Diciembre-Enero	30	2.004	0
<i>Croton lachnostachyus</i> *	1	Enero-Abril	162	550	0
<i>Dicliptera squarrosa</i> *	1	Febrero-Abril	187	428	9
	2	Febrero-Abril	577	1.154	60
<i>Ipomoea rubiflora</i> *	1	Marzo-Abril	147	505	0
<i>Mandevilla pentlandiana</i> *	1	Abril-Julio	315	20.315	0
<i>Sida rhombifolia</i>	1	Marzo-Junio	157	1.450	17
	2	Marzo-Junio	172	1.632	23

La intensidad de predación no varió significativamente en función del área y el aislamiento de los fragmentos en ninguna de las temporadas para el conjunto de especies de plantas analizadas. La diversidad de coberturas y la cobertura de bosque silvestre en las diferentes escalas de paisaje (500, 1000 y 5000 m) tampoco permitieron explicar la variabilidad observada en la predación de semillas (Tabla 2.2). Al simplificar los modelos los resultados no variaron significativamente, no observándose diferencias en el AIC, por lo que se informan los modelos completos (Tabla 2.2).

En los análisis de carácter exploratorio realizados en cada especie por separado se observó que la intensidad de predación no varió en función de las variables consideradas, tanto a escala de fragmento como de paisaje, en ninguna de las especies.

### Estudio de caso: *Acacia caven*

De las especies de plantas que presentaron evidencias de predación de semillas *A. caven* fue la especie en la que los insectos demoraron más tiempo en desarrollarse dentro de la semilla, registrándose emergencia de insectos hasta 9 meses posteriores a la cosecha de los frutos. Del total de las semillas analizadas para esta especie (4769), el 53%, en promedio, presentó algún signo de predación (Tabla 2.1).

**Tabla 2.2:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando la intensidad de predación de semillas en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y de paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escala	Variables	Temporada 1				Temporada 2			
		Parámetro estimado	Error est.	t	p	Parámetro estimado	Error est.	t	p
Fragmento	Área(log)	-0,2354	0,2315	-1,02	0,34	-0,0768	0,1069	-0,72	0,50
	Aislamiento	-0,0054	0,0049	-1,08	0,34	-0,0027	0,0019	-1,37	0,22
	Área:Aislam.	0,0022	0,0031	0,70	0,52	0,0018	0,0012	1,56	0,17
Escala 500m	BS	0,0641	0,2227	0,29	0,79	0,1434	0,0865	1,66	0,16
	H	1,2169	4,5327	0,27	0,80	3,1368	1,7122	1,83	0,13
	BS : H	-0,1215	0,2846	-0,43	0,69	-0,1694	0,1124	-1,51	0,19
Escala 1000m	BS	-0,0522	0,0589	-0,88	0,43	-0,0038	0,0226	-0,17	0,87
	H	-2,6778	3,0713	-0,87	0,43	-0,0152	0,9304	-0,02	0,98
	BS : H	0,0618	0,0753	0,82	0,46	0,0039	0,0263	0,15	0,88
Escala 5000m	BS	-0,0004	0,001	-0,41	0,70	0,0002	0,0006	0,33	0,75
	H	0,0895	0,5428	0,16	0,87	-0,1214	0,2979	-0,41	0,70
	BS : H	0,0006	0,0011	0,53	0,62	-0,0002	0,0006	-0,29	0,77

En *A. caven* se identificaron 4 tipos diferentes de insectos que produjeron daño en las semillas. Las marcas de predación más comúnmente encontradas en las semillas pertenecieron a brúquidos de la subfamilia Bruchinae, familia Chrysomelidae. Un segundo tipo de orificio de emergencia se correspondió con insectos del orden Hymenoptera, los cuales resultaron ser parasitoides de las larvas de brúquidos. Uno de ellos se identificó como *Hurismenus* sp., familia Eulophidae y el otro perteneciente a la familia Pteromalidae, pero para este espécimen no se logró identificar el género (ambos especímenes fueron determinados por la Dra. Adriana Salvo). Un tercer tipo correspondió a un insecto que no se logró identificar (s/i), pero dado su pequeño tamaño y el orificio de salida de la semilla que presentaba, fue considerado también parasitoide de brúquidos e incluido en los análisis como tal. Cabe aclarar que si bien los parasitoides no son predadores de semillas, su presencia indica la existencia previa de una larva de brúquido la cual debió alimentarse de una semilla. El cuarto tipo de daño en las semillas correspondió a un lepidóptero de la familia Pyralidae. Las larvas de este insecto usualmente dañaban varias semillas dentro del mismo fruto.

La cantidad de semillas predadas por fruto, resultó altamente variable, encontrándose algunos totalmente sanos y otros con el 100% de sus semillas dañadas. Del total de semillas disponibles analizadas, el mayor daño por predación pre-dispersión fue el causado por los brúquidos con un promedio del 43,7%. Del total de semillas predadas por brúquidos, el 42,6 % tuvieron signos de presencia de parasitoides. Con respecto a los Lepidópteros, se contabilizó un daño del 9,5% del total de semillas disponibles.

Las dos especies de predadores de semillas identificados en *A. caven* mostraron tendencias diferentes en su respuesta a la fragmentación (Tabla 2.3). Mientras que los brúquidos no fueron afectados, la intensidad de predación causada por los lepidópteros tendió a aumentar con el área y el aislamiento de los fragmentos, observándose también una respuesta positiva de esta variable al incremento de la cobertura de bosque silvestre en una escala de 500m. A su vez, se registraron relaciones negativas entre la intensidad de predación por los lepidópteros y las variables de paisaje (diversidad de coberturas y la cobertura de

bosque silvestre) a una escala de 5000m, las cuales presentaron una interacción positiva entre ambas (Tabla 2.3). No se observaron efectos sobre la intensidad de predación causada por los lepidópteros de las variables de paisaje a una escala de 1000m.

**Tabla 2.3:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando la predación de semillas en *Acacia caven* en función del área y el aislamiento y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para la temporada 2005. H y BS indican diversidad de coberturas y superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (\*) (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Predador	Escalas	Variabes	Parámetro estimado	Error estándar	t	p
Brúquido	Fragmento*	Área(log)	-0,0846	0,0933	-0,91	0,41
		Aislamiento	-0,0007	0,0016	0,45	0,67
		Área:Aislam.	0,0002	0,0008	0,30	0,77
	Escala* 500m	BS	0,0273	0,0395	0,69	0,52
		H	0,8505	0,8231	1,03	0,35
		BS : H	-0,0513	0,0535	-0,96	0,38
	Escala* 1000m	BS	-0,0032	0,0097	-0,33	0,75
		H	-0,0571	0,4279	-0,13	0,89
		BS : H	-0,0002	0,0114	-0,02	0,98
	Escala* 5000m	BS	0,0007	0,0006	1,07	0,33
		H	0,4233	0,3062	1,38	0,22
		BS : H	-0,0008	0,0006	-1,28	0,25
Lepidóptero	Fragmento	Área(log)	0,0939	0,0265	3,54	0,01 <sup>a</sup>
		Aislamiento	0,0006	0,0002	2,62	0,04 <sup>a</sup>
	Escala 500m	BS 500	0,0118	0,0049	2,40	0,04 <sup>a</sup>
	Escala* 1000m	BS 1000	-0,0030	0,0060	-0,5	0,63
		H 1000	0,0958	0,2673	0,36	0,73
		BS : H	0,0072	0,0071	1,01	0,36
	Escala 5000m	BS 5000	-0,001	0,0004	-2,73	0,04 <sup>a</sup>
		H 5000	-0,6439	0,1862	-3,45	0,02 <sup>a</sup>
		BS : H	0,0012	0,0004	2,98	0,03 <sup>a</sup>

(a) Valores de p no significativos luego de realizada la corrección de Bonferroni.

El modelo que incluyó variables de paisaje a 500m tuvo un menor ajuste (AIC= -17.07) que los que incorporaron área y aislamiento (AIC= -20.81) y variables de paisaje a una escala de 5000m (AIC= -19.12), los cuales no difirieron entre sí en sus valores de AIC de acuerdo al criterio estándar utilizado (ver Materiales y Métodos Generales). No obstante, estas diferencias no resultaron significativas luego de ajustar los valores de significación mediante la prueba de Bonferroni.

El parasitismo sobre brúquidos en *A. caven* tendió a disminuir a medida que se redujo el área de los fragmentos y la cobertura de bosque silvestre en la escala de los 500m, siendo similar el ajuste de ambos modelos (Área: AIC= -32.46, BS500: AIC=-31.21). Sin embargo, no se puede descartar que estos efectos se deban a un error de tipo I dadas las múltiples pruebas de hipótesis realizadas ya que los efectos dejaron de ser significativos luego de realizada la corrección de Bonferroni (Tabla 2.4).

**Tabla 2.4.** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando el parasitismo sobre los brúquidos en *Acacia caven* en función del área y el aislamiento y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para la temporada 2005. H y BS indican diversidad de coberturas y superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (\*) (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escalas	VARIABLES	Parámetro estimado	Error estándar	t	p
Fragmento	Área(log)	0,0433	0,0163	2,65	0,03 <sup>a</sup>
Escala 500m	BS	0,0096	0,0041	2,37	0,04 <sup>a</sup>
Escala 1000m*	BS	-0,007	0,0053	-1,32	0,24
	H	-0,325	0,2247	-1,45	0,21
	BS : H	0,0113	0,0061	1,86	0,12
Escala 5000m*	BS	-0,0003	0,0003	1,17	0,29
	H	-0,3016	0,1601	-1,88	0,12
	BS : H	0,0004	0,0003	1,17	0,29

<sup>(a)</sup> Valores de p no significativos luego de realizada la corrección de Bonferroni

## DISCUSIÓN

Desde un enfoque basado en la teoría de biogeografía de islas, en este trabajo se esperaba que la predación de semillas fuera afectada negativamente por la disminución en el área de los fragmentos y el aumento de su aislamiento. Sin embargo, los resultados obtenidos muestran que el impacto de los predadores de semillas sobre las plantas estudiadas no varió en función del área y el aislamiento de los fragmentos, coincidiendo con trabajos previos realizados en otros sistemas (Johnson et al. 2004; Raghu et al. 2005; Ward & Johnson 2005; Diekötter et al. 2007; Burgos et al. 2008). La expectativa inicial sobre la predación de semillas estuvo fundada, entre otras causas, en la disminución de la riqueza de los predadores como consecuencia de la menor diversidad y abundancia de las especies de plantas y, por lo tanto, del recurso alimenticio de los insectos predadores (Honek & Martinkova 2005; Cagnolo et al. 2006; Crist et al. 2006; Herrerías-Diego et al. 2008). Si bien en nuestra área de estudio otros autores encontraron que la riqueza de plantas disminuye en los fragmentos más pequeños (Cagnolo et al. 2006), esto no impactaría sobre la riqueza de especies de insectos predadores predispersivos ya que las semillas de las especies de plantas estudiadas en esta tesis estuvieron predadas sólo por una o dos especies de insectos, tanto en sitios de bosque continuo como en fragmentos. De hecho, 5 de las 9 especies consideradas inicialmente (*A. gratissima*, *C. montevidensis*, *I. rubiflora*, *M. pentlandiana* y *C. lachnostachyus*) no presentaron predadores de semillas a pesar del elevado número de frutos y semillas analizadas. Esto indicaría que su éxito reproductivo pre-emergente en el paisaje fragmentado depende más de la interacción planta-polinizador que de la relación antagonista con los predadores de semilla.

Existen otros mecanismos, a nivel poblacional, que podrían derivar en una menor predación de semillas en fragmentos pequeños y aislados. En respuesta a la reducción de la población de su planta hospedadora, los predadores de semillas podrían experimentar cambios en su comportamiento y aumentar la tasa de emigración de fragmentos pequeños, lo que obviamente impactaría negativamente sobre la tasa de predación de las semillas (Sheehan & Shelton 1989; Bergman & Landin 2001). Por otro lado, poblaciones más pequeñas de predadores de semillas

podrían tener menor variabilidad genética lo que aumentaría su vulnerabilidad a cambios ambientales estocásticos (Elzinga et al. 2005). Los resultados obtenidos en el análisis del estudio de caso con *A. caven* no avalan la ocurrencia de dichos mecanismos en los brúquidos, ya que las semillas fueron igualmente predadas en sitios de bosque continuo y en los fragmentos. En el caso de los lepidópteros se observó una relación positiva y significativa con el área (aunque también con el aislamiento) y con la cobertura de bosque a 500m, lo que podría atribuirse a los mecanismos poblacionales mencionados. No obstante también se registraron efectos del paisaje a una escala de 5000m. Si bien no se pudo descartar que estos resultados significativos estén dados por azar ya que dejaron de serlo luego de utilizar la corrección de Bonferroni, esta información preliminar resulta interesante para el planteo de futuros trabajos, por ejemplo, sobre el rol de los enemigos naturales (ver más adelante) y la competencia interespecífica en la regulación de la abundancia de brúquidos y sus consecuencias sobre la intensidad de predación en *A. caven* en paisajes fragmentados.

La interacción planta-polinizador también puede influir sobre los niveles de predación de semillas de las plantas (Cunningham 2000b; Costin et al. 2001). En este sentido, se ha observado que la intensidad de predación de las semillas se encuentra ligada a la producción de frutos y semillas, que dependen a su vez de la acción de los polinizadores (Jennersten & Nilson 1993; Aizen & Feinsinger 1994a; Cunningham 2000b). Así, se esperaba que bajos niveles de polinización producto del proceso de fragmentación se tradujeran en una menor producción de frutos y semillas afectando negativamente la abundancia de los predadores (Diekötter et al. 2007). Los resultados obtenidos en el capítulo anterior no muestran un efecto consistente del área y el aislamiento de los fragmentos en la riqueza y la frecuencia de visitas de los polinizadores en el conjunto de plantas estudiadas. Como consecuencia de esto, la producción de frutos y de semillas no varió con la fragmentación (ver detalles en el capítulo III), siendo, posiblemente, la causa de que la predación de semillas tampoco mostró relación con el área y el aislamiento de los fragmentos.

Las interacciones que involucran niveles tróficos superiores también pueden afectar el daño que producen los predadores de semillas (Traveset 1991; Crist et al. 2006; Diekötter et al. 2007). En este sentido la teoría del rango trófico propone que los niveles tróficos superiores serían más susceptibles a los efectos de la fragmentación (Holt et al. 1999). Entonces se esperaría que el control descendente (*top down*) disminuyera en los fragmentos más pequeños y aislados, dando como resultado una mayor predación de semillas en dichos fragmentos. Esto ha sido observado por algunos autores (Kruess & Tscharrntke 2000; Anton et al. 2007) aunque el número de estudios que han evaluado los efectos de la fragmentación sobre los predadores de semillas y sus enemigos naturales es escaso.

En este estudio se observó que los brúquidos predadores de semillas en *A. caven* fueron atacados por parasitoides. En las especies de Fabáceas, los brúquidos han sido ampliamente citados como predadores de semillas (ej. Southgate 1979; Aizen 1991; Traveset 1991; Chacoff et al. 2004; Raghu et al. 2005; Van Klinken 2005; Rossi et al. 2011). A su vez, los parasitoides han sido reportados como los principales enemigos naturales de los predadores de semillas y, por consiguiente, importantes controladores de sus poblaciones (revisado por Southgate 1979). En este sentido, entre un 20 y un 40% de la mortalidad de los brúquidos observada en *A. caven* fue causada por estos enemigos naturales. Estudios previos realizados en la misma área de muestreo evaluando el parasitismo en la comunidad de minadores de hoja (Valladares et al. 2006), los cuales son atacados por enemigos naturales de las mismas familias de himenópteros encontradas en nuestro trabajo, muestran que el parasitismo disminuye en parches más pequeños y aislados. Si bien los resultados obtenidos en *A. caven* muestran efectos similares del área de los fragmentos y de la cobertura de bosque a 500m, no se puede descartar que estas tendencias estén dadas por azar ya que una vez realizada la corrección de Bonferroni dichos efectos dejaron de ser significativos.

Cabe destacar que desde el punto de vista del "fitness" de la planta, los parasitoides no estarían realizando una contribución importante, ya que las semillas consumidas por brúquidos (parasitados o no) no fueron capaces de germinar. Sin embargo, estos enemigos naturales cumplirían un rol significativo en

reducir el número de adultos de brúquidos que ovipondrían en los frutos de la siguiente temporada.

Las interacciones planta-predador de semillas también pueden verse afectadas por el proceso de fragmentación del paisaje a escalas mayores que la abordada hasta el momento. Dicho efecto, a su vez, impactará diferencialmente dependiendo de las características de los animales interactuantes (por ejemplo: capacidad de desplazamiento) o de la configuración espacial del hábitat circundante (Steffan-Dewenter et al. 2001; García & Chacoff 2007; Farwig et al. 2009; Herrera 2011). A pesar de la gran importancia que los predadores de semilla tienen sobre la dinámica poblacional de las plantas (Crawley 2001), prácticamente no existen estudios que hayan abordado específicamente la interacción planta-insecto predador de semilla pre-dispersión en un ambiente fragmentado a diferentes escalas en el paisaje (Steffan-Dewenter et al. 2001; García & Chacoff 2007). El trabajo realizado por Steffan-Dewenter y sus colaboradores (2001) es el único estudio que abordó esta interacción en varias escalas en el paisaje. Estos autores estudiaron los efectos de la complejidad del paisaje (evaluada en función de tipos de cobertura vegetal) sobre la visita de los polinizadores y la producción y predación de semillas en una especie de asterácea. Los resultados que obtuvieron muestran que los polinizadores respondieron a la complejidad del paisaje a pequeñas escalas (hasta 1000m de radio) mientras que los predadores de semillas fueron afectados por la estructura del paisaje a las mismas escalas que los polinizadores e incluso a escalas mayores de 2500m de radio (Steffan-Dewenter et al. 2001).

En este trabajo no se esperaba que la diversidad de coberturas afectara la predación de semillas, dado que la mayoría de los insectos predadores de semillas pre-dispersión son de tamaño pequeño, tienen un comportamiento sedentario y son bastante especialistas en su dieta. Es decir, no se esperaba que consumieran recursos distintos en la matriz o que se trasladen grandes distancias en busca de alimento (Crawley 2001; Rossi et al. 2011; pero ver Steffan-Dewenter et al. 2001). Si bien esto fue apoyado por los resultados obtenidos para el conjunto de las especies, la predicción referida a que la cobertura de bosque silvestre tendría un efecto sobre la predación de semillas no fue verificada probablemente debido a la escasa

capacidad de dispersión que tendrían los predadores de semilla por su pequeño tamaño corporal. Como se predecía, en el caso los lepidópteros que consumen semillas de *A. caven* se observó una relación positiva entre la intensidad de predación y la cobertura de bosque a la menor escala de paisaje considerada (500m). Sin embargo, también se observó una relación negativa entre la predación y la cobertura de bosque y la heterogeneidad de coberturas a 5000m. Más allá de que estas asociaciones dejaron de ser significativas luego de realizar la prueba de Bonferroni, no resulta claro el mecanismo biológico por el cual estos pequeños insectos podrían ser afectados negativamente por las variables de paisaje mencionadas a escalas relativamente grandes.

En resumen, los resultados obtenidos muestran que no hubo un efecto consistente de la fragmentación sobre la predación de semillas de las especies estudiadas. Esto coincide parcialmente con el estudio realizado por Chacoff y sus colaboradores (2004), también llevado a cabo en el Bosque Chaqueño Serrano, donde se encontraron efectos diferentes de la fragmentación sobre las semillas predadas en distintas especies de plantas. En *Cercidium praecox*, Chacoff y sus colaboradores (2004) proponen que la disminución de la predación en los fragmentos podría deberse a disminuciones en las poblaciones de sus insectos predadores. Sin embargo, en *Acacia aroma* no encontraron evidencias estadísticamente significativas de la predación en relación al tamaño de los fragmentos (Chacoff et al. 2004).

Nuestros resultados generales indican que en algunas de las especies de plantas estudiadas, la predación de semillas no influyó sobre el éxito reproductivo pre-emergente (no se observó predación), mientras en que aquellas especies cuyas semillas son consumidas por predadores, el impacto de esta interacción antagonista no varió con la fragmentación del hábitat. Las causas de esta falta de efecto podrían ser variadas y complejas. El análisis de caso de los distintos predadores de semillas que atacan a *A. caven* y sus enemigos naturales ilustra dicha complejidad si se tienen en cuenta algunos factores que subyacen a los patrones de predación observados. En este sentido podría especularse que la falta de efecto de la fragmentación sobre la intensidad de predación en *A. caven* se debería a que los

efectos negativos de este disturbio sufridos por los brúquidos son compensados por una liberación de competidores y enemigos naturales. Sin embargo, las tendencias incipientes encontradas deberían corroborarse con estudios específicos.

## CAPÍTULO III

### **Efecto de la fragmentación del hábitat sobre el éxito reproductivo de las plantas**

#### **INTRODUCCIÓN**

En las plantas con flores, el éxito reproductivo femenino refleja la inversión materna (en términos de flores, frutos, óvulos y semillas) en la reproducción. Las variaciones en factores abióticos (ej. disponibilidad de luz y de nutrientes) y los cambios en las interacciones que las plantas mantienen con otros organismos (ej. polinizadores y los predadores de semillas pre-dispersión) pueden afectar considerablemente su éxito reproductivo (ej. Cunningham 2000b; Cascante et al. 2002; Aizen 2007; Aguilar et al. 2009). Estas alteraciones frecuentemente impactan en la supervivencia de las poblaciones vegetales (Aizen & Feinsinger 1994a; Fahrig & Grez 1996; Cunningham 2000b; Kolb 2005; Kolb & Lindhorst 2006) y pueden, en consecuencia, modificar la composición, distribución y abundancia de las especies, alterando numerosos procesos ecológicos tanto a nivel poblacional como de la comunidad (ej. Rathcke & Jules 1993; Andrén 1994; Fischer & Matthies 1998; Harrison & Bruna 1999; Jules & Rathcke 1999).

Como se ha mencionado en los capítulos anteriores, la fragmentación del bosque puede modificar las interacciones mutualistas y antagonistas entre plantas e insectos. El papel que desempeñan los polinizadores removiendo, trasladando y depositando el polen compatible sobre los estigmas resulta crucial para la reproducción en la mayoría de las plantas con flores (Tepedino 1979; Kearns 1998; Young & Clarke 2000; Wilcock & Neiland 2002; Morales & Galetto 2003). Existen evidencias de que los cambios en la abundancia, composición y diversidad de polinizadores que ocurren como consecuencia de la fragmentación pueden repercutir en la producción de los frutos y las semillas (Cunningham 2000a y b; Aizen 2002, 2007; Aguilar & Galetto 2004; Aguilar 2005; Aguilar et al. 2006, pero ver resultados del Capítulo I). A su vez, la predación de semillas puede también ser afectada por la fragmentación debido a cambios en la abundancia, composición y diversidad de los

predadores de semillas (ej. Crist et al. 2006; Herrerías-Diego et al. 2008; pero ver resultados del Capítulo II). Las alteraciones en la predación de semillas impactan directamente sobre variables específicas de la biología reproductiva de las plantas y, por consiguiente, pueden afectar el "fitness" de los individuos y, finalmente, la dinámica demográfica de esas poblaciones (ej. Sperens 1997; Cummings et al. 1999; Nurse et al. 2003; Camargo-Ricalde et al. 2004; Hulme & Kollmann 2005; Herrerías-Diego et al. 2008).

Si bien se ha propuesto que el éxito reproductivo de las plantas disminuiría con el proceso de fragmentación del hábitat por los mecanismos mencionados anteriormente, la evidencia empírica al respecto es heterogénea, con resultados que muestran efectos negativos (ej. Cunningham 2000a; Aizen 2002; Aguilar & Galetto 2004; Aguilar et al. 2006), neutros (ej. Costin et al. 2001; Cascante et al. 2002; Fuchs et al. 2003; Burgos et al. 2008) e incluso positivos (ej. Aizen & Feisinger 1994a; Gonzáles-Varo et al. 2009) de la fragmentación sobre distintas variables del éxito reproductivo. A su vez, se ha observado que estos efectos varían, dependiendo de la especie de planta considerada, incluso en una misma área de estudio (ej. Aizen & Feisinger 1994a; Aizen 2002; Aguilar 2005; Kolb & Lindhorst 2006; Galetto et al. 2007).

El éxito reproductivo de las especies de plantas que crecen en un ambiente fragmentado dependerá, entre otros factores, de la magnitud y el sentido con el que son afectadas las especies involucradas en las interacciones mutualistas y antagonistas (Chacoff et al. 2004; Aizen & Vázquez 2006). En este sentido, algunos autores han propuesto que podría producirse un balance entre los efectos de la fragmentación sobre ambas interacciones (Cunningham 2000b; Steffan-Dewenter & Tscharrntke 2001; Farwig et al. 2009). Así, en los ambientes más fragmentados la producción de semillas podría disminuir, por ejemplo, debido a los efectos negativos sufridos por los polinizadores (Jennersten & Nilsson 1993; Cascante et al. 2002; Diekötter et al. 2007; Farwig et al. 2009; Gonzáles-Varo et al. 2009). Si la tasa de predación de semillas también disminuye por efecto de la fragmentación al tiempo que la polinización muestra una tendencia negativa, el efecto negativo general sobre la reproducción de las plantas podría compensarse. Es decir, se observaría una

proporción similar de semillas no predadas entre ambientes fragmentados y no fragmentados (Steffan-Dewenter et al. 2001; Chacoff et al. 2004; Johnson et al. 2004; Ward & Johnson 2005). También es probable que las especies que participan de las interacciones mutualistas y antagonistas sean diferencialmente influidas por la fragmentación y el efecto sobre el éxito reproductivo de las plantas dependa del signo y la intensidad con que dichas interacciones son afectadas (García & Chacoff 2007).

En este capítulo se evalúa el éxito reproductivo de las plantas en relación a la fragmentación del hábitat a diferentes escalas en el paisaje. Como se mencionara en los párrafos anteriores, el efecto de la fragmentación sobre el éxito reproductivo de las plantas depende en gran medida de cómo este disturbio afecte a la polinización y a la predación de semillas, aunque también puede ser afectado por otros factores bióticos (ej. competencia) y abióticos (ej. disponibilidad de nutrientes y de luz). La hipótesis inicial de esta tesis planteaba que el éxito reproductivo no se vería afectado por la fragmentación ya que los efectos negativos causados por disminuciones en la polinización se compensarían por una reducción en la predación de semillas. Sin embargo, los resultados presentados en los capítulos previos indican que la fragmentación no afectó significativamente a ninguna de estas interacciones. Aún así, la predicción no cambia: esperamos que el éxito reproductivo no varíe ya que tampoco lo hacen sus principales determinantes (polinización y predación predispersión).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Especies estudiadas**

El éxito reproductivo fue evaluado en seis especies de plantas presentes en sitios continuos y fragmentos de distinto tamaño: *Aloysia gratissima*, *Mandevilla pentlandiana*, *Amphilophium carolinae*, *Acacia caven*, *Dicliptera squarrosa* y *Sida rhombifolia*. Las restantes especies, *Clematis montevidensis*, *Ipomoea rubiflora* y *Croton lachnostachyus*, debieron ser descartadas por no contarse con un número suficiente de datos para realizar los análisis. Como se mencionara en el Capítulo I,

no todas las especies pudieron ser muestreadas en dos temporadas consecutivas debido a distintos imponderables (por ejemplo, adelanto de la época de floración, inclemencias climáticas, daño de las plantas focales por animales o número insuficiente de individuos en un determinado sitio para poder tener una muestra confiable para el análisis estadístico, etc.). En la primera temporada (2003-2004) se tomaron datos de las variables reproductivas en *M. pentlandiana*, *A. carolinae* y *S. rhombifolia*, mientras en la segunda temporada (2004-2005) en *A. gratissima*, *A. caven*, *D. squarrosa*, *A. carolinae* y *S. rhombifolia*. Para cada especie de planta se seleccionaron entre 3 y 5 individuos focales, tanto en sitios continuos como en fragmentos. Los individuos seleccionados se visitaron periódicamente entre los meses de agosto y abril, abarcando toda la etapa de floración de cada especie.

### **Variables reproductivas**

Para calcular el éxito reproductivo se marcaron, al comienzo de la floración, pimpollos maduros, flores o inflorescencias (según la especie) expuestas naturalmente a los polinizadores. Esto se realizó en un sector determinado de la planta o en todo el individuo dependiendo de las particularidades de las especies en cuanto a su hábito de crecimiento y tamaño. En *A. caven* y *S. rhombifolia* se seleccionaron tres ramas y se marcaron todas las flores o inflorescencias presentes en una sección de aproximadamente 25 cm de largo. En *D. squarrosa* se eligieron 3 ramas por mata y se marcaron las flores presentes en 3-5 nudos. En el caso de *A. carolinae* se marcaron 3-6 flores por individuo, mientras que en *M. pentlandiana* y *A. gratissima* 2-4 inflorescencias por planta. En estas dos últimas especies, cada flor producida deja una cicatriz característica sobre el eje de la inflorescencia, lo que permitió contar el número total de flores producidas, a pesar de que éstas ya se hubiesen desprendido de la planta. A su vez, en cada especie de planta se recolectó una muestra de 10 flores, las cuales fueron conservadas en una solución de alcohol al 70% y posteriormente observadas bajo la lupa para determinar el número de óvulos por flor.

Los individuos seleccionados fueron visitados periódicamente hasta el final de la temporada para recolectar los frutos maduros producidos antes de su dispersión. A partir de estos datos se calculó la producción de frutos como: número de frutos maduros obtenidos/ número de flores marcadas.

Para determinar la producción de semillas en cada especie de planta se colectaron los frutos previamente marcados y frutos adicionales dentro del mismo individuo hasta obtener entre 5 y 10 frutos o infrutescencias por individuo. Esta recolección se realizó en diferentes ramas, tallos o entrenudos, considerando las particularidades de las especies en cuanto a su hábito de crecimiento, para lograr una muestra representativa del individuo. Los frutos recolectados se abrieron en el laboratorio y, bajo la lupa, se contó el número total de semillas producidas y el número de semillas abortadas en cada fruto. La producción de semillas para cada individuo se calculó como: nro. promedio de semillas producidas por fruto/ nro. promedio de óvulos por flor.

Finalmente, a partir de las variables mencionadas se calculó el éxito reproductivo pre-emergente como:  $(\text{nro. de frutos maduros} / \text{nro. de flores marcadas}) \times (\text{nro. promedio de semillas producidas por fruto} / \text{nro. promedio de óvulos por flor})$ . Las variables reproductivas mencionadas anteriormente se calcularon para cada uno de los individuos de las distintas especies, en cada sitio y temporada de muestreo.

### **Análisis estadístico**

Los efectos de la fragmentación sobre las distintas variables reproductivas se evaluaron con modelos lineales generales mixtos (ver detalles en Materiales y Métodos generales).

## **RESULTADOS**

El número de flores producido por los individuos de las especies estudiadas no presentó, variaciones estadísticamente significativas en función del área y aislamiento de los sitios muestreados en ninguna de las temporadas analizadas

(Tabla 3.1). Esto mismo se observó para el número de frutos (Tabla 3.2), lo que era de esperarse dada la falta de influencia de estas variables de fragmentación sobre los polinizadores (ver Capítulo I).

**Tabla 3.1:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando el número de flores producidas en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y de superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escala	Variables	Temporada 1				Temporada 2			
		Parámetro estimado	Error estándar	t	p	Parámetro estimado	Error estándar	t	p
Fragmento	Área(log)	-0,0741	0,2264	-0,33	0,76	-0,2390	0,2401	-0,99	0,36
	Aislamiento	-0,0006	0,0041	-0,14	0,89	-0,0029	0,0043	-0,69	0,52
	Área:Aislam.	8,0E-05	0,0021	0,04	0,96	0,0010	0,0022	0,47	0,66
Escala 500m	BS	0,0482	0,1023	0,47	0,66	0,1118	0,0985	1,13	0,31
	H	1,2857	2,1110	0,61	0,57	1,8572	2,0319	0,91	0,40
	BS : H	-0,0799	0,1341	-0,59	0,57	-0,1833	0,1295	-1,41	0,22
Escala 1000m	BS	-0,0083	0,0239	-0,35	0,74	0,0273	0,0229	1,19	0,28
	H	-0,3361	1,0984	-0,31	0,77	0,4047	1,0196	0,39	0,71
	BS : H	0,007	0,0296	0,24	0,82	-0,0371	0,0277	-1,34	0,24
Escala 5000m	BS	0,0006	0,0016	0,38	0,72	0,003	0,0015	2,04	0,10
	H	0,5191	0,7943	0,65	0,54	1,0204	0,7638	1,33	0,24
	BS : H	-0,0007	0,0017	-0,42	0,69	-0,0032	0,0016	-1,98	0,10

La producción de frutos calculada en relación al número de flores disponibles (proporción de frutos producidos) tampoco mostró una relación significativa con el área y el aislamiento de los fragmentos en ninguna de las temporadas consideradas (Tabla 3.3). Esa falta de relación fue también observada para la producción de semillas, calculada en función del número de óvulos disponibles, en ambas temporadas de muestreo (Tabla 3.4)

**Tabla 3.2:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando el número total de frutos producidos en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y de superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escala	Variables	Temporada 1				Temporada 2			
		Parámetro estimado	Error estándar	t	p	Parámetro estimado	Error estándar	t	p
Fragmento	Área(log)	0,2124	0,2793	0,76	0,48	-0,1828	0,1997	-0,91	0,40
	Aislamiento	0,0085	0,0052	1,63	0,16	-0,0015	0,0036	-0,42	0,69
	Área:Aislam.	-0,0047	0,0027	-1,71	0,15	-0,0002	0,0018	-0,10	0,92
Escala 500m	BS	-0,0819	0,1309	-0,62	0,55	0,0203	0,1029	0,19	0,85
	H	-1,2100	2,6821	-0,45	0,67	0,5333	2,0924	0,25	0,81
	BS : H	0,0297	0,1678	0,18	0,87	-0,0699	0,1349	-0,52	0,62
Escala 1000m	BS	0,0195	0,0284	0,68	0,52	-0,0074	0,0259	-0,29	0,78
	H	1,1056	1,2670	0,87	0,42	-0,0428	1,1041	-0,04	0,97
	BS : H	-0,0410	0,0348	-1,17	0,29	0,0014	0,0307	0,04	0,96
Escala 5000m	BS	0,0037	0,0018	2,09	0,09	0,0019	0,0015	1,25	0,26
	H	1,7809	0,8919	1,99	0,1	1,3054	0,7704	1,69	0,15
	BS : H	-0,0045	0,0019	-2,31	0,07	-0,002	0,0016	-1,25	0,26

En la mayoría de las especies estudiadas no se observó la existencia de semillas abortadas en los frutos, con excepción de *Dicliptera squarrosa* y *Acacia caven*. En la primera de las especies la proporción de semillas abortadas fue en promedio de 0,33 (rango: 0,04-0,79), mientras que en la segunda fue de 0,11 (rango: 0-0,44). Las variaciones en la proporción de semillas abortadas entre las especies no se relacionaron significativamente con el área y el aislamiento de los fragmentos (Tabla 3.5).

**Tabla 3.3:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando la proporción de frutos producidos en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y de superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escala	Variables	Temporada 1				Temporada 2			
		Parámetro estimado	Error estándar	t	p	Parámetro estimado	Error estándar	t	p
Fragmento	Área(log)	-0,0624	0,3128	-0,19	0,85	-0,0406	0,1887	-0,21	0,83
	Aislamiento	0,0002	0,0056	0,03	0,97	-0,0011	0,0034	-0,32	0,76
	Área:Aislam.	-0,0001	0,0029	-0,03	0,98	0,0002	0,0018	0,11	0,92
Escala 500m	BS	0,0003	0,1448	2,00E-03	0,99	-0,0415	0,0911	-0,45	0,67
	H	0,6452	2,9459	0,22	0,83	-0,8761	1,7655	-0,49	0,64
	BS : H	-0,0364	0,1907	-0,19	0,85	0,0582	0,1175	0,49	0,64
Escala 1000m	BS	-0,0542	0,0308	-1,76	0,14	-0,0185	0,0238	-0,78	0,47
	H	-2,1322	1,3312	-1,60	0,17	-0,5029	0,9553	-0,53	0,62
	BS : H	0,0523	0,0353	1,48	0,19	0,0226	0,0275	0,82	0,45
Escala 5000m	BS	0,0004	0,0023	0,17	0,87	-0,0003	0,0014	-0,19	0,85
	H	0,4065	1,0982	0,37	0,73	0,1214	0,6648	0,18	0,86
	BS : H	-0,0005	0,0024	-0,23	0,82	0,0003	0,0015	0,24	0,82

Como era de esperarse de acuerdo a los resultados mencionados anteriormente, el aislamiento y el área de los fragmentos no tuvieron una influencia significativa sobre el éxito reproductivo pre-emergente de las especies estudiadas en ninguna de las temporadas consideradas (Tabla 3.6)

Al evaluar el efecto de la cobertura de bosque silvestre y la diversidad de coberturas en las distintas escalas, no se observó una influencia significativa sobre el número de flores (Tabla 3.1) o de frutos (Tabla 3.2), ni sobre la proporción de frutos (Tabla 3.3) o semillas producidas (Tabla 3.4), la tasa de semillas abortadas (Tabla 3.5) y el éxito reproductivo pre-emergente (Tabla 3.6).

**Tabla 3.4:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando la proporción de semillas producidas por fruto en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y de superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escala	Variables	Temporada 1				Temporada 2			
		Parámetro estimado	Error estándar	t	p	Parámetro estimado	Error estándar	t	p
Fragmento	Área(log)	0,0138	0,2447	0,06	0,96	-0,2137	0,1814	-1,18	0,29
	Aislamiento	0,0015	0,0043	0,34	0,75	-0,0033	0,0034	-0,99	0,37
	Área:Aislam.	-0,0020	0,0022	-0,91	0,40	0,002	0,0018	1,16	0,29
Escala 500m	BS	-0,1004	0,1082	-0,93	0,39	0,0781	0,0945	0,83	0,45
	H	-2,8967	2,2348	-1,29	0,25	1,659	1,9056	0,87	0,42
	BS : H	0,0927	0,1432	0,65	0,54	-0,1121	0,1224	-0,92	0,40
Escala 1000m	BS	-0,0084	0,0293	-0,28	0,78	0,0124	0,0210	0,59	0,58
	H	-1,1789	1,3016	-0,91	0,41	-0,0622	0,9226	-0,07	0,95
	BS : H	0,0127	0,0344	0,37	0,73	-0,0163	0,0247	-0,66	0,54
Escala 5000m	BS	0,0014	0,0017	0,86	0,43	-0,0009	0,0014	-0,66	0,54
	H	1,4936	0,8280	1,80	0,13	-0,3042	0,7085	-0,43	0,68
	BS : H	-0,0013	0,0018	-0,73	0,50	0,0008	0,0015	0,55	0,60

**Tabla 3.5:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando la tasa de semillas abortadas en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para la segunda temporada, 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y de superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escalas	Variables	Parámetro estimado	Temporada 2		
			Error estándar	t	p
Fragmento	Área(log)	-0,3420	0,2408	-1,42	0,21
	Aislamiento	-0,0074	0,0040	-1,85	0,12
	Área:Aislam.	0,0038	0,0021	1,83	0,13
Escala 500m	BS	0,1272	0,0966	1,32	0,24
	H	2,8922	1,9610	1,47	0,20
	BS : H	-0,1402	0,1297	-1,08	0,33
Escala 1000m	BS	-0,0241	0,0249	-0,96	0,38
	H	-1,0010	0,9937	-1,01	0,36
	BS : H	0,0332	0,0303	1,09	0,32
Escala 5000m	BS	-0,0006	0,0017	-0,37	0,72
	H	-0,4763	0,8459	-0,56	0,59
	BS : H	0,0007	0,0018	0,42	0,69

**Tabla 3.6:** Resultados de los modelos lineales generales mixtos evaluando el éxito reproductivo pre-emergente en función de las variables a escala de fragmento (área y aislamiento) y del paisaje a distintas escalas (500, 1000 y 5000m) para las temporadas 2003-2004 (1) y 2004-2005 (2). H y BS indican diversidad de coberturas y de superficie cubierta con bosque silvestre. Se presentan los valores de p previos a la corrección de Bonferroni y los modelos completos dado que no presentaron diferencias de AIC suficientes que justificara su simplificación (ver detalles en Materiales y Métodos Generales).

Escala	Variables	Temporada 1				Temporada 2			
		Parámetro estimado	Error estándar	t	p	Parámetro estimado	Error estándar	t	p
Fragmento	Área(log)	-0,2097	0,2778	-0,75	0,48	-0,2498	0,1779	-1,40	0,21
	Aislamiento	-0,0018	0,0049	-0,37	0,72	-0,0047	0,0033	-1,44	0,21
	Área:Aislam.	0,0001	0,0026	0,04	0,96	0,0025	0,0017	1,49	0,19
Escala 500m	BS	0,0153	0,1254	0,12	0,91	0,1009	0,0831	1,21	0,27
	H	0,1269	2,5821	0,05	0,96	2,0011	1,6558	1,20	0,28
	BS : H	-0,0750	0,1647	-0,45	0,66	-0,1318	0,107	-1,23	0,27
Escala 1000m	BS	-0,0254	0,0282	-0,90	0,41	0,0074	0,0206	0,03	0,97
	H	-1,8709	1,2553	-1,49	0,19	-0,4870	0,9025	-0,53	0,61
	BS : H	0,0242	0,0331	0,73	0,49	-0,0007	0,0244	-0,03	0,97
Escala 5000m	BS	0,0018	0,0019	0,95	0,38	4,00E-05	0,0013	0,03	0,98
	H	0,3849	0,9706	1,43	0,21	-0,1429	0,6388	-0,22	0,83
	BS : H	-0,0019	0,0021	-0,94	0,38	-6,00E-05	0,0013	-0,04	0,96

## DISCUSIÓN

En numerosos estudios se ha planteado que la alteración de las interacciones mutualistas y antagonistas ocasionadas por la fragmentación del hábitat puede impactar sobre el éxito reproductivo de las plantas, sin embargo la evidencia empírica al respecto es heterogénea (Cunningham 2000b; Costin et al. 2001; Aizen et al. 2002; Cascante et al. 2002; Fuchs et al. 2003; Aguilar & Galetto 2004; Gonzales-Varo et al. 2009). En este trabajo se esperaba que la polinización y la predación de semillas fueran afectadas negativamente por la fragmentación y que las variaciones en el éxito reproductivo pre-emergente de las especies estudiadas estuvieran determinadas por la magnitud y el sentido del efecto del disturbio sobre dichas interacciones. Específicamente se postuló que la disminución en la

polinización sería compensada por una menor predación de semillas dando como resultado un éxito reproductivo similar entre los sitios estudiados. Si bien el éxito reproductivo pre-emergente de las especies de plantas consideradas en esta tesis no varió en función de la fragmentación a escala de fragmento y paisaje, esto no se debería a la compensación postulada inicialmente sino a que los insectos participantes de las interacciones antagonistas y mutualistas no fueron afectados por la fragmentación (ver Capítulos I y II), tal como se ha observado en otros estudios (ej. Aguilar et al. 2012).

La fragmentación del bosque puede afectar distintos parámetros reproductivos de las plantas y en sentidos diferentes (ej. Cunningham 2000b; Galetto et al. 2007). Por ejemplo, la producción de flores puede aumentar a medida que disminuye el área y se incrementa el aislamiento de los fragmentos (Quesada et al. 2004; Herrerías-Diego et al. 2006; Aguilar et al. 2012, pero ver Valdivia et al. 2006). Factores abióticos (ej. aumento en la disponibilidad de luz y de nutrientes) y bióticos (ej. disminución en la competencia de conoespecíficos u otras especies) han sido mencionados como las causas determinantes de este patrón (Aizen & Feinsinger 1994a; Cunningham 2000b; Herrerías-Diego et al. 2006). Los resultados obtenidos en este estudio no mostraron variaciones en la producción de flores en relación al área o aislamiento de los fragmentos.

Como consecuencia de la fragmentación del bosque es plausible esperar una reducción en la producción de frutos de las especies de plantas polinizadas por animales, principalmente mediada por efectos sobre los polinizadores (Aguilar et al. 2009). Una disminución en la riqueza y la frecuencia de visita de los insectos polinizadores se esperaría que se traduzca en una disminución en la cantidad y calidad de polen que llega a las flores, afectando en consecuencia la producción de frutos (Cunningham 2000a; Garibaldi et al. 2013). No obstante, al igual que para la producción de flores, no se corroboraron nuestras predicciones. En otros trabajos se ha observado que la producción de frutos depende de otros factores más allá de la polinización, tales como factores abióticos y la competencia entre plantas (Aizen & Feinsinger 1994a; Cunningham 2000b; Herrerías-Diego et al. 2006), aspectos que sería interesante explorar en futuros estudios en la región.

Los resultados obtenidos en esta tesis en cuanto a la proporción de frutos y semillas producidos por planta no mostraron relaciones significativas con las variables de fragmentación a ninguna de las escalas analizadas (fragmento y paisaje). Esto era, en cierta medida, esperable considerando los resultados del primer capítulo en donde tampoco se observó un efecto significativo de la fragmentación sobre los polinizadores (frecuencia de visitas y riqueza de polinizadores). A su vez, existen antecedentes en nuestro sistema de estudio en donde no se observaron efectos consistentes de la fragmentación sobre la producción de frutos (Aguilar & Galetto 2004; Aguilar 2005; Galetto et al. 2007). En el estudio realizado por Aguilar (2005) se incluyeron 14 especies de plantas de las cuales sólo 5 de ellas mostraron efectos negativos de la fragmentación sobre la producción de frutos. Estas relaciones se mantuvieron entre temporadas en sólo 3 especies, mientras que en las dos restantes los efectos observados en una temporada se diluyeron en la segunda. En dos de las especies compartidas entre nuestro estudio y el de Aguilar (2005), *A. caven* y *M. pentlandiana*, se observó el mismo resultado en cuanto a la falta de efecto de la fragmentación sobre la producción de frutos, lo que resulta esperable ya que en ambos estudios la frecuencia de visitas en estas plantas tampoco fue afectada por la fragmentación. En el caso de *D. squarrosa*, otra de las especies compartida entre esta tesis y Aguilar (2005), la coincidencia de los resultados fue parcial. Mientras que nuestros resultados no muestran un efecto significativo de la fragmentación sobre la producción de frutos de esta especie (incluso antes de realizar la corrección de Bonferroni), Aguilar (2005) observó efectos negativos y nulos en el primer y segundo año de estudio respectivamente. Cabe aclarar que los resultados obtenidos por Aguilar (2005) para esta última especie no muestran una correspondencia consistente entre la frecuencia de visitas de los polinizadores y la producción de frutos en las distintas temporadas analizadas, lo que sugiere que otros factores además de la polinización estarían actuando sobre la producción de frutos.

La producción de semillas en las plantas polinizadas por animales depende tanto de aspectos relacionados a los polinizadores como de aspectos propios de las plantas y de las condiciones abióticas en donde se desarrollan, los cuáles pueden

verse alterados por diversos disturbios (Aizen & Feisinger 1994a; Aizen et al. 2002; Aguilar & Galetto 2004; Lienert & Fischer 2004; Burgos et al. 2008). La fragmentación del bosque puede afectar la producción de semillas al provocar cambios, por ejemplo, en la tasa en que se abortan las semillas, en la intensidad a que éstas son predadas y en la calidad y cantidad de polen que llega a los estigmas (Aizen & Feisinger 1994a; Aguilar & Galetto 2004; Herrerías-Diego et al. 2008). La proporción de semillas abortadas puede aumentar en sitios aislados y pequeños debido a cambios en la estructura genética, en el ensamble de polinizadores y en las condiciones microclimáticas (Saunders et al. 1990; Aizen & Feisinger 1994a; Chacoff et al. 2004). Los resultados obtenidos en este estudio para *A. caven* y *D. squarrosa* (únicas especies con semillas abortadas) no mostraron efecto de la fragmentación del hábitat sobre la proporción de semillas abortadas incluso antes de corregir por el número de test realizados. Estos resultados coinciden con un trabajo llevado a cabo en los mismos sitios de estudio, en el cual tampoco se encontró relación de la variable mencionada con el área de los fragmentos para *A. caven* (Ashworth & Marti 2010). A su vez, estudios realizados en otras especies de Fabáceas que ocurren en el Bosque Chaqueño Serrano muestran resultados contrastantes en cuanto a los efectos de la fragmentación sobre la proporción de semillas abortadas: *Acacia aroma* abortó más semillas en fragmentos pequeños mientras que *Cercidium praecox* no mostró ninguna respuesta a la disminución del área (Chacoff et al. 2004).

Dado que la fragmentación no afectó a la polinización, a la predación de semillas y a la proporción de semillas abortadas, la producción de semillas, como era esperable de acuerdo a estos resultados, tampoco varió en relación a este disturbio. La falta de relación entre la producción de semillas y la fragmentación observada en esta tesis para *A. caven*, *D. squarrosa* y *M. pentlandiana* coincide con los resultados obtenidos por otros autores para estas especies de plantas en la misma zona de estudio (Aguilar 2005; Ashworth & Marti 2010). En *A. caven* Ashworth y Marti (2010) reportaron que las variaciones en la producción de semillas estuvieron dadas principalmente por diferencias entre individuos (efectos maternos), los cuales explicaron un 62% de la variabilidad observada. Estas variaciones entre individuos

dentro de un mismo sitio, independientemente de su tamaño, se registraron también en las restantes especies estudiadas, los cuales explicaron entre el 30 y el 90% de la variabilidad observada dependiendo de la variable considerada (Ashworth & Marti 2010). En esta tesis no se consideraron los efectos maternos en los análisis, por lo que no podría descartarse que dichos efectos enmascaren la posibilidad, si existiera, de detectar efectos de la fragmentación sobre las variables reproductivas analizadas.

Se ha postulado que las plantas pueden responder de manera diferente a la fragmentación de acuerdo al grado de dependencia reproductiva de los polinizadores. Las especies cuyos óvulos pueden ser fecundados por polen (autógamo o geitonógamo) proveniente del mismo individuo (especies autocompatibles), serían menos vulnerables a la fragmentación que aquellas cuyos óvulos son fecundados únicamente por polen xenógamo (autoincompatibles) (Aguilar 2005). Esta idea fue apoyada por evidencia empírica en una síntesis cuantitativa de los efectos de la fragmentación sobre la reproducción de las plantas que incluyó 93 especies vegetales, donde se observó que en general las plantas autoincompatibles son sensibles a este disturbio, mientras que las autocompatibles no son afectadas (Aguilar et al. 2006). Este estudio incluyó además un meta-análisis con una submuestra de 30 especies pertenecientes al Chaco Serrano, donde estas diferencias en susceptibilidad a la fragmentación entre especies autocompatibles y autoincompatibles fueron corroboradas (Aguilar et al. 2006). Los resultados obtenidos en esta tesis en cuanto al éxito reproductivo coinciden parcialmente con lo observado en estos meta-análisis ya que si bien las especies autocompatibles (*S. rhombifolia*, *M. pentlandiana* y *A. gratissima*) no resultaron afectadas por la fragmentación del hábitat, tampoco lo fueron las especies autoincompatibles (*A. caven*, *D. squarrosa* y *A. carolinae*). Esto indicaría que otros factores u otras características de las especies pueden estar afectando la respuesta de las mismas a la fragmentación.

En resumen, las variables reproductivas del conjunto de plantas estudiadas no fueron afectadas por la fragmentación a escala de fragmento ni de paisaje. Esto fue consistente con los resultados obtenidos en los capítulos previos ya que no se

observaron efectos de la fragmentación sobre las interacciones mutualistas y antagonistas que sugirieran un impacto potencial sobre la reproducción del conjunto de las plantas estudiadas. Los resultados de esta tesis fueron consistentes con los de otros trabajos realizados con algunas de las especies de plantas de esta tesis, en la misma zona geográfica pero en otras temporadas (Aguilar 2005; Galetto et al. 2007; Ashworth & Marti 2010), lo que permitiría avalar la falta de efectos de la fragmentación sobre las variables estudiadas.

## DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

La fragmentación del hábitat es uno de los tópicos que más atención ha recibido en las últimas décadas debido a los efectos que puede tener sobre la diversidad de especies y los servicios ecosistémicos que estas proveen (ej. Fahrig 2003; Cagnolo et al. 2006; Winfree et al. 2009; Chacoff et al. 2010; Krauss et al. 2010; Winfree 2010). La evidencia empírica sobre los efectos de este disturbio sobre distintas interacciones biológicas es heterogénea (Steffan-Dewenter & Tschardtke 2002; Tschardtke & Brandl 2004; Diekötter et al. 2007; García & Chacoff 2007; Farwig et al. 2009). Teniendo en cuenta esto, varios autores han señalado que para lograr una mejor comprensión de las consecuencias de la fragmentación del hábitat sería necesario abordar los estudios no sólo desde un enfoque local, fragmento, sino que también desde un enfoque a escala de paisaje, considerando tipos y cantidad de coberturas a distintas escalas, dado que las interacciones biológicas pueden responder a escalas espaciales diferentes (ej. Steffan-Dewenter et al. 2001; Tschardtke & Brandl 2004; García & Chacoff 2007; Holzschuh et al. 2010; Fahrig et al. 2011). A su vez, también se ha destacado la necesidad de considerar simultáneamente varias interacciones biológicas que pueden estar involucradas en el mantenimiento de las poblaciones de los organismos en ambientes fragmentados (Cunningham 2000b; Steffan-Dewenter et al. 2001; Steffan-Dewenter & Tschardtke 2002; Steffan-Dewenter 2003; García & Chacoff 2007).

Si bien en esta tesis se evaluaron los efectos de la fragmentación sobre dos importantes interacciones que mantienen las plantas (planta-polinizador y planta-predador de semilla predispersión) considerando diferentes escalas (de fragmento y de paisaje), no se observaron efectos consistentes de este disturbio sobre el conjunto de las especies de plantas estudiadas. Cabe destacar que al controlar el nivel de significancia para evitar rechazar la hipótesis cuando esta es verdadera (error tipo I) mediante la corrección de Bonferroni, las posibilidades de registrar efectos significativos se reducen considerablemente. Sin embargo, la falta de efectos de la fragmentación sobre las variables estudiadas en esta tesis para el conjunto de plantas, fue en todos los casos observada incluso antes de realizar dicha corrección.

En los análisis a nivel de especie tampoco se observaron respuestas consistentes a la fragmentación, siendo estas respuestas similares a las encontradas en otros trabajos realizados en la misma área de estudio para las especies de plantas compartidas (Aguilar 2005; Galetto et al. 2007; Ashworth & Marti 2010). Esto indica que los patrones observados son consistentes, más allá de las posibles limitaciones metodológicas que pudiera tener el presente estudio (ver Materiales y Métodos).

Varios estudios han reportado una falta de efecto de la fragmentación sobre la polinización en diferentes sistemas, tanto al considerar solamente el área y el aislamiento de los fragmentos como también al tener en cuenta las características del paisaje circundante (ej. Brosi et al. 2008; Farwig et al. 2009). Si bien los resultados de esta tesis coinciden con estos estudios, no se puede descartar que en nuestro sistema existan efectos de la fragmentación sobre la riqueza y la frecuencia de visita de los polinizadores y no haya sido posible detectarlos en este trabajo por efectos del muestreo o por ser años atípicos. Para evaluar esta última hipótesis a posteriori de los resultados sería necesario realizar nuevos estudios que amplíen el número de sitios estudiados y de temporadas reproductivas. Por otro lado, también podría darse que, por ejemplo, algunas coberturas no incluidas en los análisis (ej. distintos tipos de matorrales) estuvieran contribuyendo a determinar los patrones de riqueza y la frecuencia de visita de los polinizadores en los fragmentos. En este sentido, quizás se adoptó un criterio conservador al considerar al bosque silvestre como la única cobertura natural que contribuiría a explicar dichos patrones. Finalmente, tampoco se puede descartar que los polinizadores respondan a escalas de paisaje diferentes a las analizadas en este estudio. Si bien las escalas de paisaje seleccionadas en esta tesis (500, 1000 y 5000 m) son las que comúnmente influyen sobre los polinizadores, existen evidencias de que éstos pueden responder a escalas específicas diferentes: 50-100 m de radio (García & Chacoff 2007), 250 m (Krauss et al. 2003; Steffan-Dewenter 2003), 200 y 400 m (Brosi et al. 2008), 750 m (Taki et al. 2007).

Dentro del espectro de interacciones antagonistas que involucran plantas y animales, la predación de semillas es considerada una de las mayores fuentes de

mortalidad de progenie vegetal (Nurse et al. 2003; Honek & Martinkova 2005; Hulme & Kollmann 2005; Nakagawa et al. 2005). Sin embargo, en varias de las especies consideradas en este estudio no se observaron predadores de semillas por lo que su éxito reproductivo pre-emergente dependería en gran medida de la polinización. No obstante, en aquellas especies en donde se registraron predadores de semillas, los niveles de daño fueron considerables (rango: 17-100 %). Esto adquiere relevancia si se tiene en cuenta que numerosos trabajos evalúan el éxito reproductivo pre-emergente sin considerar el efecto causado por los predadores de semilla pre-dispersión (ej. Aguilar 2005; Herrerías-Diego et al. 2008). Más allá del impacto que tuvo la predación de semillas sobre el éxito reproductivo pre-emergente de las especies que presentaron predadores, éste no varió en función de la fragmentación a nivel de fragmento o de paisaje.

En el estudio de caso realizado en *A. caven*, no se registró un efecto de la fragmentación sobre la intensidad de predación, aunque se observó que sus predadores de semillas presentaron tendencias diferentes en su respuesta al disturbio. A su vez, también se registró una tendencia negativa del parasitismo ante aumentos en los niveles de fragmentación. Si bien estos efectos dejaron de ser significativos al realizar la corrección de Bonferroni, sería interesante realizar estudios complementarios para confirmar si la falta de efecto de la fragmentación sobre la intensidad de predación en *A. caven* podría deberse que los efectos negativos de este disturbio sufridos por los brúquidos son compensados por una liberación de competidores y enemigos naturales.

Dado que el éxito reproductivo pre-emergente de las plantas depende en gran medida de las interacciones mutualistas (planta-polinizador) y antagonistas (planta-predador de semillas), la falta de efecto de la fragmentación sobre las variables reproductivas de las especies de plantas estudiadas en esta tesis concuerda con los resultados obtenidos para dichas interacciones. Contrariamente a lo planteado inicialmente, la similitud en el éxito reproductivo de las plantas observada en los distintos sitios no fue consecuencia de una compensación de los efectos de la fragmentación sobre las interacciones mutualistas y antagonistas sino

que estuvo determinada por la falta de efecto de este disturbio sobre los insectos participantes de dichas interacciones.

La fragmentación puede afectar las distintas etapas del ciclo de vida de la planta, incidiendo en la probabilidad de que un óvulo sea fertilizado, una semilla sea abortada o predada antes o después de su dispersión, de que dicha semilla germine y finalmente la plántula sobreviva y se establezca (ej. Cascante et al. 2002; Chacoff et al. 2004; Ashworth & Marti 2010; Aguilar et al. 2012). En esta tesis no se observaron efectos de la fragmentación sobre las etapas previas a la dispersión de las semillas aunque no se puede descartar que los efectos de este disturbio ocurran en etapas posteriores. Trabajos realizados en la misma área de estudio que esta tesis muestran que la germinación disminuyó al reducirse el área de los fragmentos en dos de las cinco especies estudiadas (Ashworth & Marti 2010).

Más allá de que los efectos de la fragmentación puedan darse en etapas posteriores a las estudiadas en esta tesis, también existe la posibilidad de que las especies consideradas en nuestro trabajo posean características que las hacen menos susceptibles al disturbio. Si bien el sistema de compatibilidad (autocompatible o autoincompatible) es una de las características de las plantas que genera respuestas diferentes a la fragmentación (Aguilar et al. 2006), nuestros resultados indican que las especies pertenecientes a ambos grupos presentaron patrones similares.

Al seleccionar las especies de plantas a estudiar en esta tesis se procuró que fueran representativas de la flora del Bosque Chaqueño Serrano y que ocurrieran en numerosos sitios en función del diseño experimental. Tal vez el hecho de que estas sean especies comunes (que ocurren en numerosos sitios) podría influir en la falta de respuesta observada. Existen evidencias de que en poblaciones pequeñas y aisladas hay mayores probabilidades de que ocurra erosión genética debido a la pérdida al azar de alelos por deriva génica. A su vez, la endogamia resultante del entrecruzamiento entre individuos emparentados disminuye la heterocigocis, dando lugar a que se expresen alelos deletéreos que afectan negativamente al éxito reproductivo de la planta. Esta pérdida de diversidad genética comúnmente afecta la posibilidad de que las plantas puedan responder a variaciones ambientales

estocásticas (Arvanitis et al. 2007; Aguilar et al. 2008 y trabajo allí citados). Dado que las especies comunes se caracterizan por estar ampliamente distribuidas en el espacio, las probabilidades de que exista un "efecto de rescate" que disminuya el impacto de la fragmentación sobre la variabilidad genética son mayores que en especies que ocurren en pocos sitios. El hecho de que las poblaciones de especies comunes, en términos de ocurrencia y abundancia, puedan persistir en un ambiente fragmentado podría posibilitar que las interacciones que poseen con otros organismos puedan mantenerse relativamente inalteradas.

En un trabajo realizado en el mismo paisaje fragmentado que el estudiado en esta tesis se observó que la riqueza de especies de plantas se redujo con la disminución del área de los fragmentos (Cagnolo et al. 2006). Sin embargo, el efecto de la fragmentación varió dependiendo de las características ecológicas de las especies. La riqueza de especies raras (presentes en 3 o menos sitios) fue la más afectada, no observándose efecto alguno sobre la riqueza de especies que ocurrían en diez o más sitios (especies comunes). Esto podría deberse a que estas últimas especies de hecho no son afectadas por la fragmentación o que los efectos son débiles y, por consiguiente más difíciles de detectar. Como se mencionó anteriormente, este disturbio puede afectar las distintas etapas del ciclo de vida de la planta. Probablemente en las especies comunes estas etapas no sean afectadas o, si existen efectos, éstos sean menos intensos o afecten de manera inconsistente en el tiempo a una o pocas de las etapas mencionadas. Los resultados obtenidos en este y otros estudios para *Acacia caven* ejemplifican el primer caso, donde, de manera consistente en distintas temporadas, no se observaron efectos de la fragmentación sobre la frecuencia de visitas, la riqueza de polinizadores, la producción de flores y frutos, la producción, el aborto y la predación de semillas, el éxito reproductivo femenino y masculino y la germinación (Aguilar 2005; Ashworth & Marti 2010; esta tesis). Un ejemplo de la segunda situación sería el caso de *Dicliptera squarrosa*, en la cual los resultados de esta tesis no muestran efectos significativos de la fragmentación sobre las variables de polinización, de predación de semillas y de reproducción, mientras que Aguilar (2005) registró efectos negativos sobre algunos

parámetros reproductivos (producción de frutos y éxito reproductivo) en sólo una de las temporadas estudiadas.

En resumen, los resultados obtenidos en esta tesis no muestran un efecto de la fragmentación sobre la polinización, la predación de semillas y, finalmente, el éxito reproductivo de las especies de plantas. Esta falta de efecto podría deberse a características propias de las especies consideradas (especies comunes) aunque no pueden descartarse otros factores que podrían estar influyendo en la respuesta observada: variaciones en la "calidad" de los fragmentos, respuestas a escalas diferentes, efectos evidentes en otras etapas del ciclo de la planta o efectos de otras interacciones. Probablemente estudios enfocados sobre especies con características ecológicas y de historia de vida (especies raras, autoincompatibles, con polinización especialista) que las hagan más susceptibles a los disturbios y que consideren posibles efectos sobre las distintas etapas del ciclo de vida de la planta sean necesarios para poder predecir más precisamente las consecuencias de la fragmentación sobre la diversidad de especies vegetales.

## Bibliografía

- Aguilar R. (2005). Efectos de la fragmentación del hábitat sobre el éxito reproductivo de especies nativas del Bosque Chaqueño Serrano de Córdoba. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Aguilar R. & Galetto L. (2004). Effects of forest fragmentation on male and female reproductive success in *Cestrum parqui* (Solanaceae). *Oecologia*, 138, 513-20.
- Aguilar R., Ashworth L., Galetto L. & Aizen M.A. (2006). Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters*, 9, 968-980.
- Aguilar R., Ashworth L., Cagnolo L., Jausoro M., Quesada M. & Galetto L. (2009). Dinámica de interacciones mutualistas y antagonistas en ambientes fragmentados. En: Medel R., Aizen M.A. & Zamora R. (Eds.), *Ecología y evolución de interacciones animal-planta: conceptos y aplicaciones*. Editorial Universitaria. pp. 199-230.
- Aguilar R., Ashworth L., Calviño A. & Quesada M. (2012). What is left after sex in fragmented habitats? Assessing the quantity and quality of progeny in the endemic tree *Prosopis caldenia* (Fabaceae). *Biological Conservation*, 152, 81-89.
- Aizen M.A. (1991). Predación de semillas de *Acacia aroma* por el brúchido *Pseudopachymerina grata* en función de la posición de las semillas y el número de semillas por vaina. *Ecología Austral*, 1, 17-23.
- Aizen M.A. (2007). Enfoques en el estudio de la reproducción sexual de las plantas en ambientes alterados: limitaciones y perspectivas. *Ecología Austral*, 17, 7-19.
- Aizen M.A. & Feinsinger P. (1994a). Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a Chaco dry forest, Argentina. *Ecology*, 75, 330-351.
- Aizen M.A. & Feinsinger P. (1994b). Habitat fragmentation, native insect pollinators and feral honey bees in Argentine "Chaco Serrano". *Ecological Application*, 4, 378-392.
- Aizen M.A. & Vázquez D.P. (2006). Flower performance in human-altered habitats. En: Harder L.D & Barrett S.C.H. (Eds.), *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press. pp. 159-179.
- Aizen M.A., Ashworth L. & Galetto L. (2002). Reproductive success in fragmented habitats: do compatibility systems and pollination specialization matter?. *Journal of Vegetation Science*, 13, 885-892.
- Altamirano A., Echeverría C. & Lara A. (2007). Efecto de la fragmentación forestal sobre la estructura vegetacional de las poblaciones amenazadas de *Legrandia concinna* (Myrtaceae) del centro-sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 80, 27-42.
- Andrén H. (1994). Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: a review. *Oikos*, 71, 355-366.
- Andrieu E., Dornier A., Rouifed S., Schatz B. & Cheptou P.O. (2009). The town Crepis and the country Crepis: How does fragmentation affect a plant-pollinator interaction? *Acta Oecologica*, 35, 1-7.

- Anton C., Zeisseti I., Musche M., Durka W., Boomsma J.J. & Settele J. (2007). Population structure of a large blue butterfly and its specialist parasitoid in a fragmented landscape. *Molecular Ecology*, 16, 3828-3838.
- Arvanitis L., Wiklund C. & Ehrlén J. (2007). Butterfly seed predation: effects of landscape characteristics, plant ploidy level and population structure. *Oecologia*, 152, 275-85.
- Ashworth L. & Marti L. (2010). Forest fragmentation and seed germination of native species from the Chaco Serrano forest. *Biotropica*, 43, 1-8.
- Bascompte J. & Rodriguez M.A. (2001). Habitat patchiness and plant species richness. *Ecology Letters*, 4, 417-420.
- Bender D.J., Tischendorf L. & Fahrig L. (2003). Using patch isolation metrics to predict animal movement in binary landscapes. *Landscape Ecology*, 18, 17-39.
- Bergman K. & Landin J. (2001). Distribution of occupied and vacant sites and migration of *Lopinga achine* (Nymphalidae: Satyrinae) in a fragmented landscape. *Biological Conservation*, 102, 183-190.
- Bhattacharya M., Primack R.B. & Gerwein J. (2003). Are roads and railroads barriers to bumblebee movement in a temperate suburban conservation area? *Biological Conservation*, 109, 37-45.
- Biesmeijer J.C., Roberts S.P.M., Reemer M., Ohlemüller R., Edwards M., Peeters T., Schaffers A.P., Potts S.G., Kleukers R., Thomas C.D., Settele J. & Kunin W.E. (2006). Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313, 351-354.
- Bigger D.S. (1999). Consequences of patch size and isolation for a rare plant: pollen limitation and seed predation. *Natural Areas Journal*, 19, 239-244.
- Bolker B.M., Brooks M.E., Clark C.J., Geange S.W., Poulsen J.R., Stevens M.H.H. & White J.-S.S. (2009). Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 24, 127-135.
- Bono J., Parmuchi M.G., Strada M., Manghi E. & Gasparri I. (2004). Mapa forestal de la Provincia de Córdoba. Actualización año 2002. Dirección de bosques. Secretaría de ambiente y desarrollo sustentable. Ministerio de salud y ambiente.
- Brody A.K. & Mitchell R.J. (1997). Effects of experimental manipulation of inflorescence size on pollination and pre-dispersal seed predation in the hummingbird-pollinated plant *Ipomopsis aggregata*. *Oecología*, 110, 86-93.
- Brosi B.J. (2009). The effects of forest fragmentation on euglossine bee communities (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). *Biological Conservation*, 142, 414-423.
- Brosi B.J., Daily G.C., Shih T.M., Oviedo F. & Durán G. (2008). The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. *Journal of Applied Ecology*, 45, 773-783.
- Brosi B.J., Daily G.C., Chamberlain C.P. & Mills M. (2009). Detecting changes in habitat-scale bee foraging in a tropical fragmented landscape using stable isotopes. *Forest Ecology and Management*, 258, 1846-1855.

- Burgos A., Grez A. & Bustamante R.O. (2008). Seed production, pre-dispersal seed predation and germination of *Nothofagus glauca* (Nothofagaceae) in a temperate fragmented forest in Chile. *Forest Ecology and Management*, 255, 1226-1233.
- Bustamante R.O. & Simonetti J.A. (2000). Seed predation and seedling recruitment in plants: the effect of the distance between parents. *Plant Ecology*, 147, 173-183.
- Cabido M., Carranza M.L., Acosta A. & Páez S. (1991). Contribución al conocimiento fitosociológico del Bosque Chaqueño Serrano en la provincia de Córdoba, Argentina. *Phytocoenología*, 19, 547-566.
- Cabrera A.L. (1976) *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. ACME, Buenos Aires.
- Cagnolo L. (2006). *Tramas tróficas de insectos y fragmentación del bosque serrano en el centro de Argentina*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Cagnolo L., Cabido M. & Valladares G. (2006). Plant species richness in the Chaco Serrano woodland from central Argentina: Ecological traits and habitat fragmentation effects. *Biological Conservation*, 132, 510-519.
- Calvo-Irabién L.M. & Islas-Luna A. (1999). Predispersal predation of an understory rainforest herb *Aphelandra aurantiaca* (Acanthaceae) in gaps and mature forest. *American Journal of Botany*, 86, 1108-1113.
- Camargo-Ricalde S.L., Dhillon S.S. & García-García V. (2004). Phenology, and seed production and germination of seven endemic *Mimosa* species (Fabaceae-Mimosoideae) of the Tehuacan-Cuicatlan Valley, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 58, 423-437.
- Cane J.H., Minckley R.L., Kervin L.J., Roulston T.H. & Williams N.M. (2006). Complex responses within a desert bee guild (Hymenoptera: Apiformes) to urban habitat fragmentation. *Ecological Applications*, 16, 632-644.
- Cariveau D., Irwin R.E., Brody A.K., Garcia-Mayeya L.S. & Von der Ohe A. (2004). Direct and indirect effects of pollinators and seed predators to selection on plant and floral traits. *Oikos*, 104, 15-26.
- Cascante A., Quesada M., Lobo J.J. & Fuchs E.A. (2002). Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. *Conservation Biology*, 16, 137-147.
- Chacoff N.P. & Aizen M. (2006). Edge effects on flower-visiting insects in grapefruit plantations bordering premontane subtropical forest. *Journal of Applied Ecology*, 43, 18-27.
- Chacoff N.P., Morales J.M. & Vaquera M.D.P. (2004) Efectos de la fragmentación sobre la absorción y depredación de semillas en el Chaco Serrano. *Biotropica*, 36, 109-117
- Chacoff N.P., Morales C.L., Garibaldi L.A., Ashworth L. & Aizen M.A. (2010). Pollinator dependence of Argentinian agriculture: current status and temporal analysis. *Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*, 3, 106-116.

- Chang S.M., Gonzales E., Pardini E. & Hamrick J.L. (2011). Encounters of old foes on a new battle ground for an invasive tree, *Albizia julibrissin* Durazz (Fabaceae). *Biological Invasions*, 13, 1043-1053.
- Costin B.J., Morgan J.W. & Young A.G. (2001). Reproductive success does not decline in fragmented populations of *Leucochrysum albicans* subsp. *albicans* var. *tricolor* (Asteraceae). *Biological Conservation*, 98, 273-284.
- Crawley M.J. (2001). Seed predators and plant population dynamics. En: Fenner M (Ed.), *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. 2<sup>nd</sup> edition. CABI Publishing. pp. 165-182.
- Crist T.O., Pradhan-Devare S.V. & Summerville K.S. (2006). Spatial variation in insect community and species responses to habitat loss and plant community composition. *Oecologia*, 147, 510-21.
- Cummings C.L., Alexander H.M. & Snow A.A. (1999). Increased pre-dispersal seed predation in sunflower crop-wild hybrids. *Oecologia*, 121, 330-338.
- Cunningham S. (2000a). Depressed pollination in habitat fragments causes low fruit set. *Proceedings of the Royal Society of London*, 267, 1149-1152
- Cunningham S. (2000b). Effects of habitat fragmentation on the reproductive ecology of four plant species in Mallee Woodland. *Conservation Biology*, 14, 758-768.
- Dafni A. (1992). *Pollination Ecology. A practical approach*. Oxford University Press.
- Debinski D.M. & Holt R.D. (2000). A survey and overview of habitat fragmentation experiments. *Conservation Biology*, 14, 342–355.
- De Crop E., Brys R. & Hoffmann M. (2012). The impact of habitat fragmentation on the interaction between *Centaureum erythraea* (Gentianaceae) and its specialized seed predator *Stenoptilia zophodactylus* (Pterophoridae, Lepidoptera). *Ecological Research*, 27, 967-974.
- Diekötter T., Haynes K.J., Mazeffa D. & Crist T.O. (2007). Direct and indirect effects of habitat area and matrix composition on species interactions among flower-visiting insects. *Oikos*, 116, 1588-1598.
- Donaldson J., Nänni I., Zachariades C. & Kemper J. (2002). Effects of habitat fragmentation on pollinator diversity and plant reproductive success in renosterveld shrublands of South Africa. *Conservation Biology*, 16, 1267-1276.
- Elzinga J.A., Turin H., van Damme J.M.M. & Biere A. (2005). Plant population size and isolation affect herbivory of *Silene latifolia* by the specialist herbivore *Hadena bicruris* and parasitism of the herbivore by parasitoids. *Oecologia*. 144, 416–426.
- Fahrig L. (2003). Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 34, 487-515.
- Fahrig L. & Grez A. A. (1996). Population spatial structure human-caused landscape changes and species survival. *Revista Chilena de Historia Natural*, 69, 5-13.
- Farwig N., Bailey D., Bochud E., Herrmann J., Kindler E., Reusser N., Schüepp C. & Schmidt-Entling M.H. (2009). Isolation from forest reduces pollination, seed

- predation and insect scavenging in Swiss farmland. *Landscape Ecology*, 24, 919-927.
- Fahrig L., Baudry J., Brotons L., Burel F.G., Crist T.O., Fuller R.J., Sirami C., Siriwardena G.M. & Martin J-L. (2011). Functional landscape heterogeneity and animal biodiversity in agricultural landscapes. *Ecology Letters*, 14, 101-112.
- Feinsinger P., Beach J.H., Linhart Y.B., Busby W.K. & Murray K.G. (1987). Disturbance, pollinator predictability, and pollination success among Costa Rican cloud forest plants. *Ecology*, 68, 1294-1305.
- Fenner M., Cresswell J.E., Hurley R.A. & Baldwin T. (2002). Relationship between capitulum size and pre-dispersal seed predation by insect larvae in common Asteraceae. *Oecologia* 130, 72–77.
- Ferreras A. & Galetto L. (2010). From seed production to seedling establishment: Important steps in an invasive process. *Acta Oecologica*, 36, 211-218.
- Ferreras A., Astegiano J., Musicante M., Galetto L. & Torres C. (2007). ¿Cómo varían los atributos de las redes planta-polinizador con el área de los fragmentos de Bosque Chaqueño? Reunión Binacional de Ecología. Chile.
- Ferreras A., Torres C., & Galetto L. (2008). Fruit dispersal of an invasive species (*Ligustrum lucidum*) in a fragmented landscape. *Journal of Arid Environments*, 72, 1573 - 1580.
- Fischer M. & Matthies D. (1998). Effects of population size on performance in the rare plant *Gentianella germanica*. *Journal of Ecology*, 86, 195–204.
- Fontaine C., Dajoz I., Meriguet J. & Loreau M. (2006). Functional diversity of plant – pollinator interaction webs enhances the persistence of plant communities. *Plos Biology*, 4, 129-135.
- Fuchs E. & Lobo J. (2003). Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. *Conservation Biology*, 17, 149-157.
- Galetto L., Aguilar R., Musicante M., Astegiano J., Ferreras A., Jausoro M., Torres C., Ashworth L. & Eynard C. (2007). Fragmentación del hábitat, riqueza de polinizadores, polinización y reproducción de plantas nativas en el Bosque Chaqueño de Córdoba, Argentina. *Ecología Austral*, 17, 67-80.
- Garibaldi L.A., Steffan-Dewenter I, Winfree R, Aizen M.A., Bommarco R., Cunningham S.A., Kremen C. et al. (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey-bee abundance. *Science*, 339,1608-1611.
- García D. & Chacoff N.P. (2007). Scale-dependent effects of habitat fragmentation on hawthorn pollination, frugivory, and seed predation. *Conservation Biology*, 21, 400-411.
- García D., Chacoff N.P., Herrera J.M. & Amico G.C. (2009). La escala espacial de las interacciones planta-animal. En: Medel R., Aizen M.A. & Zamora, R. (Eds.). *Ecología y evolución de interacciones planta-animal: conceptos y aplicaciones*. Editorial Universitaria. pp. 133-156.

- García-Robledo C., Kattan G., Murcia C. & Quintero-Marin P. (2005). Equal and opposite effects of floral offer and spatial distribution on fruit production and predispersal seed predation in *Xanthosoma daguense* (Araceae). *Biotropica*, 37, 373-380.
- Garibaldi L.A., Kremen C. & Cunningham S.A. (2011). Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology Letters*, 14, 1062-1072.
- Gavier G.I. & Bucher E.H. (2004). Deforestación en las Sierras Chicas de Córdoba (Argentina) en el período 1970-1997. *Revista de la Academia Nacional de Ciencias*, 110, 1-27.
- Ghazoul J. (2004). Alien abduction: disruption of native plant-pollinator interactions by invasive species. *Biotropica*, 36, 156-164.
- Gibbs J.P. & Stanton E.J. (2001). Habitat fragmentation and arthropod community change: carrion beetles, phoretic mites, and flies. *Ecological Applications*, 11, 79-85.
- Gomez J.M & Perfectti F. (2009). Diversidad de polinizadores, generalización ecológica y conservación de plantas. En: Medel R., Aizen M.A. & Zamora R. (Eds.), *Ecología y evolución de interacciones animal-planta: conceptos y aplicaciones*. Editorial Universitaria. pp. 61-76.
- González-Varo J.P., Arroyo J. & Aparicio A. (2009). Effects of fragmentation on pollinator assemblage, pollen limitation and seed production of Mediterranean myrtle (*Myrtus communis*). *Biological Conservation*, 142, 1058-1065.
- Goverde M., Schweizer K., Baur B. & Erhardt A. (2002). Small-scale habitat fragmentation effects on pollinator behaviour: experimental evidence from the bumblebee *Bombus veteranus* on calcareous grasslands. *Netherlands Journal of Zoology*, 104, 293-299.
- Grilli G. & Galetto L. (2009). Remoción de frutos de una especie invasora (*Lantana camara* L.) en el bosque Chaqueño de Córdoba Argentina. *Ecología Austral*, 19, 149-156.
- Hadley A.S. & Betts M.G. (2011). The effects of landscape fragmentation on pollination dynamics: absence of evidence not evidence of absence. *Biological Reviews*, 87, 526-544.
- Haila Y. (2002). A conceptual genealogy of fragmentation research: from island biogeography to landscape ecology. *Ecological Applications*, 12, 321-334.
- Hanson T., Brunsfeld S. & Finegan B. (2006). Variation in seedling density and seed predation indicators for the emergent tree *Dipteryx panamensis* in continuous and fragmented rain forest. *Biotropica*, 38, 770-774.
- Harris L.F. & Johnson S.D. (2004). The consequences of habitat fragmentation for plant – pollinator mutualisms. *International Journal of Tropical Insect Science*, 24, 29-43.
- Harrison S. & Bruna E. (1999). Habitat fragmentation and large-scale conservation: what do we know for sure? *Ecography*, 22, 225-232.

- Herrera J.M. (2011). El papel de la matriz en el mantenimiento de la biodiversidad en hábitats fragmentados. De la teoría ecológica al desarrollo de estrategias de conservación. *Ecosistemas*, 20, 21-34.
- Herrera J.M., García D. & Morales J.M. (2011). Matrix effects on plant-frugivore and plant-predator interactions in forest fragments. *Landscape Ecology*, 26, 125-135.
- Herrerías-Diego Y., Quesada M., Stoner K. & Lobo J. A. (2006). Effects of forest fragmentation on phenological patterns and reproductive success of the tropical dry forest tree *Ceiba aesculifolia*. *Conservation Biology*, 20, 1111-1120.
- Herrerías-Diego Y., Quesada M., Stoner K., Lobo J., Hernandez Flores Y. & Sanchezmontoya G. (2008). Effect of forest fragmentation on fruit and seed predation of the tropical dry forest tree *Ceiba aesculifolia*. *Biological Conservation*, 141, 241-248.
- Holt R.D., Lawton J.H., Polis G.A. & Martinez N.D. (1999). Trophic rank and the species-area relationship. *Ecology*, 80, 1495-1504.
- 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*, 491-500.
- Honek A. & Martinkova, Z. (2005). Pre-dispersal predation of *Taraxacum officinale* (dandelion) seed. *Journal of Ecology*, 93, 335-344.
- Hulme P.E. & Kollmann J. (2005). Seed predators guilds, spatial variation in post-dispersal seed predation and potential effects on plant demography: a temperate perspective. En: Forget P.-M., Lambert J.E., Hulme P.E. & Vander Wall S.B. (Eds.), *Seed fate: predation, dispersal and seedling establishment*. CABI Publishing. pp. 9-30.
- Jacquemyn H., Brys R. & Hermy M. (2002). Patch occupancy, population size and reproductive success of a forest herb (*Primula elatior*) in a fragmented landscape. *Trends in Ecology & Evolution*, 130, 617-625.
- Janzen D.H. (1970). Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *American Naturalist*, 104, 501-528.
- Jauker F., Diekötter T., Schwarzbach F. & Wolters V. (2009). Pollinator dispersal in an agricultural matrix: opposing responses of wild bees and hoverflies to landscape structure and distance from main habitat. *Landscape Ecology*, 24, 547-555.
- Jennersten O.L.A. & Nilsson S.G. (1993). Insect flower visitation frequency and seed production in relation to patch size of *Viscaria vulgaris* (Caryophyllaceae). *Oikos*, 68, 283-292.
- Johnson S.D., Neal P.R., Peter C.I. & Edwards T.J. (2004). Fruiting failure and limited recruitment in remnant populations of the hawkmoth-pollinated tree *Oxyanthus pyriformis* subsp . *pyriformis* (Rubiaceae). *Biological Conservation*, 120, 31-39.
- Jules E. (1998). Habitat fragmentation and demographic change for a common plant: *Trillium* in old-growth forest. *Ecology*, 79, 1645-1656.

- Jules E. & Rathcke B.J. (1999). Mechanisms of reduced *Trillium* recruitment along edges of old-growth forest fragments. *Conservation Biology*, 13, 784-793.
- Jules E. & Shahani P. (2003). A broader ecological context to habitat fragmentation: why matrix habitat is more important than we thought. *Journal of Vegetation Science*, 14, 459-464.
- Kattan G.H. & Murcia C. (2003). A review and synthesis of conceptual frameworks for the study of forest fragmentation. En: Bradshaw G.A., Marquet P.A. & Ronnenberg K. L. (Eds.), *How landscapes change. Ecological studies*. Springer-Verlag. pp. 183-200.
- Kearns C.A., Inouye D.W. & Waser N.M. (1998). Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Ecology*, 29, 83-112.
- Kolb A. (2005). Reduced reproductive success and offspring survival in fragmented populations of the forest herb *Phyteuma spicatum*. *Journal of Ecology*, 93, 1226-1237.
- Kolb A. & Lindhorst S. (2006). Forest fragmentation and plant reproductive success: a case study in four perennial herbs. *Plant Ecology*, 185, 209-220.
- Krauss J., Steffan-Dewenter I. & Tscharrntke T. (2003). How does landscape context contribute to effects of habitat fragmentation on diversity and population density of butterflies? *Journal of Biogeography*, 30, 889-900.
- Krauss J., Bommarco R., Guardiola M., Heikkinen R.K., Helm A., Kuussaari M., Lindborg R., Öckinger E., Pärtel M., Pino J., Pöyry J., Raatikainen K.M., Sang A., Stefanescu C., Teder T., Zobel M. & Steffan-Dewenter I. (2010). Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. *Ecology letters*, 13, 597-605.
- Kruess A. & Tscharrntke T. (2000). Species richness and parasitism in a fragmented landscape: experiments and field studies with insects on *Vicia sepium*. *Oecologia*, 122, 129-137.
- Lander T., Boshier D.H. & Harris S. (2010). Fragmented but not isolated: Contribution of single trees, small patches and long-distance pollen flow to genetic connectivity for *Gomortega keule*, an endangered Chilean tree. *Biological Conservation*, 143, 2583-2590.
- Laurance W. (2008). Theory meets reality: How habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. *Biological Conservation*, 141, 1731-1744.
- Lee T.D. (1988). Patterns of fruit and seed production. En: Lovett Doust J. & Lovett Doust L. (Eds), *Plant reproductive ecology: Patterns and strategies* Oxford University Press. pp. 179-202.
- Leimu R., Syrjänen K., Ehrlén J. & Lehtilä K. (2002). Predispersal seed predation in *Primula veris*: among population variation in damage intensity and selection on flower number. *Oecologia* 133, 510–516.

- Lienert J. & Fischer M. (2004). Experimental inbreeding reduces seed production and germination independent of fragmentation of populations of *Swertia perennis*. *Basic and Applied Ecology*, 52, 43-52.
- Logan M. (2010). *Biostatistical design and analysis using R; a practical guide*. Wiley-Blackwell.
- Lopes L.E. & Buzato S. (2007). Variation in pollinator assemblages in a fragmented landscape and its effects on reproductive stages of a self-incompatible treelet, *Psychotria suterella* (Rubiaceae). *Biotropica*, 154, 305-314.
- Louda S.M., Potvin M.A & Collinge S.K. (1990). Predispersal seed predation, postdispersal seed predation and competition in the recruitment of seedlings of a Native Thistle in Sandhills Prairie. *American Midland Naturalist*, 124, 105-113.
- Luti R., Bertrán M., Galera M., Müller N., Berzal M., Nores M., Herrera M. & Barrera J.C. (1979). Vegetación, En: Vázquez J., Miatello R. & Roqué M. (Eds.), *Geografía Física de la Provincia de Córdoba*. Editorial Boltdt. pp. 297-268.
- MacArthur R.H. & Wilson E.O. (1967). *The theory of island biogeography*. En: MacArthur R.H. (Ed.), *Monographs in population biology*. Princeton University Press.
- Michener C.D., McGinley, R.J. Danforth B.N. & Sheffield R. (1994). *The bee genera of North and Central America (Hymenoptera: Apoidea)*. Smithsonian Institution Press.
- Mills, N. J., and Kenis, M. (1991). A study of the parasitoid complex of the European fir budworm, *Choristoneura murinana* (Lepidoptera: Tortricidae), and its relevance for biological control of related hosts. *Bulletin of Entomological Research* 81: 429-436.
- Mogliá G. & Giménez A.M. (1998). Rasgos anatómicos característicos del hidrosistema de las principales especies arbóreas de la región Chaqueña Argentina. *Investigación Agraria Sistemas y Recursos Forestales*, 7, 54-71.
- Montenegro C., Bono J., Parmuchi M. G. & Strada M. (2005). La deforestación y degradación de los bosques nativos. *IDIA XXI Forestales*. Ediciones INTA, 8, 262-265.
- Montenegro C., Strada M., Parmuchi M.G., Bono J., Stamati M.,; Manghi E.,; Brouver M., Bertolami F. & Wabo E. (2007). *Monitoreo de bosque nativo. Período 1998-2002. Período 2002-2006* Dirección de Bosques. Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable. Buenos Aires.
- Morales C.L. & Galetto L. (2003). Influence of compatibility system and life form on plant reproductive success. *Plant Biology*, 5, 567-573.
- Murcia C (1996). Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. En: Schelhas J. & Greenberg R. (Eds), *Forest patches in tropical landscapes*. Island Press. pp. 19-36.
- Nakagawa M., Takeuchi Y., Kenta T. & Nakashizuka T. (2005). Predispersal seed predation by insects vs. vertebrates in six dipterocarp species in Sarawak, Malaysia. *Biotropica*, 37, 389-396.
- Nielsen A., Dauber J., Kunin W.E., Lamborn E., Jauker B., Moora M., Potts S.G., Reitan T., Roberts S., Söber V., Settele J., Steffan-Dewenter I., Stout J.C., Tscheulin T.,

- Vaitis M., Vivarelli D., Biesmeijer J.C. & Petanidou T. (2012). Pollinator community responses to the spatial population structure of wild plants: A pan-European approach. *Basic and Applied Ecology*, 13, 489–499.
- Nurse R.E., Booth B.D. & Swanton C.J. (2003). Predispersal seed predation of *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium album* growing in soyabean fields. *Weed Research*, 43, 260-268.
- Öckinger E., Bergman K.O., Franzén M., Kadlec T., Krauss J., Kuussaari M., Pöyry J. (2012). The landscape matrix modifies the effect of habitat fragmentation in grassland butterflies. *Landscape Ecology*, 27, 121-131.
- Ohashi K. & Yahara T. (2000). Effects of flower production and predispersal seed predation on reproduction in *Cirsium purpuratum*. *Canadian Journal of Botany*, 78, 230-236.
- Orrock J.L., Levey D.J., Danielson B.J. & Damschen E.I. (2006). Seed predation, not seed dispersal, explains the landscape-level abundance of an early-successional plant. *Journal of Ecology*, 94, 838-845.
- Osborne J.L., Martin P.A., Shortall, R.C., Todd, D.A., Goulson D., Knight E.M., Hale J.R. & Sanderson A.R. (2008). Quantifying and comparing bumblebee nest densities in gardens and countryside habitats. *Journal of Applied Ecology*, 45, 784–792.
- Peitinger M., Bergamini A. & Schmid B. (2003). Species-area relationships and nestedness of four taxonomic groups in fragmented wetlands. *Basic Applied Ecology*, 4, 385-394.
- Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D. & R Development Core Team (2013). nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-111. <http://cran.r-project.org/web/packages/nlme/index.html>
- Potts S.G., Vulliamy B., Dafni A., Ne G., Toole C.O., Roberts S. & Willmer P. (2003). Response of plant-pollinator communities to fire: changes in diversity, abundance and floral reward structure. *Oikos*, 101, 103-112.
- Pyke G.H. (1981). Optimal foraging in nectar-feeding animals and coevolution with their plants. En: Kamil A.C. & Sargent T.D. (Eds.), *Foraging behavior: Ecological, ethological and psychological approaches*. Garland STPM Press. pp. 19-38
- Quesada M., Stoner K.E., Lobo J.A., Herrerías-Diego Y., Palacios-Guevara C., Munguía-Rosas M. A., Salazar K.A. & Rosas-Guerrero V. (2004). Effects of forest fragmentation on pollinator activity and consequences for plant reproductive success and mating patterns in bat-pollinated bombacaceous trees. *Biotropica*, 36, 131-138.
- R Development Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria.
- Raghu S., Wiltshire C. & Dhileepan K. (2005). Intensity of pre-dispersal seed predation in the invasive legume *Leucaena leucocephala* limited by the duration of pod retention. *Austral Ecology*, 30, 310-318.

- Rathcke B.J. & Jules E.S. (1993). Habitat fragmentation and plant pollinator interactions. *Current Science*, 65, 273-277.
- Ricketts T.H. (2001). The matrix matters: effective isolation in fragmented landscapes. *The American Naturalist*, 158, 87-99.
- Rosin Z.M., Myczko Ł., Skórka P., Lenda M., Moroń D., Sparks T.H. & Tryjanowski P. (2012). Butterfly responses to environmental factors in fragmented calcareous grasslands. *Journal of Insect Conservation*, 16, 321-329.
- Rossi M.N., da Silva Rodrigues L.M., Ishino M.N. & Kestring D. (2011). Oviposition pattern and within-season spatial and temporal variation of pre-dispersal seed predation in a population of *Mimosa bimucronata* trees. *Arthropod-Plant Interactions*, 5, 209-217.
- Rundlöf M., Nilsson H. & Smith H.G. (2008). Interacting effects of farming practice and landscape context on bumble bees. *Biological Conservation*, 141, 417-426.
- Santos T. & Tellería J.L. (2006). Pérdida y fragmentación del hábitat: efecto sobre la conservación de las especies. *Ecosistemas*, 15, 3-12.
- Saunders D.A., Hobbs R.J. & Margules C.R. (1990). Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation Biology*, 5, 18-32.
- Sayago M. (1969). Estudio fitogeográfico del Norte de la provincia de Córdoba. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias*, 46, 123-427
- Sheehan W. & Shelton A.M. (1989). Parasitoid response to concentration of herbivore food plants: finding and leaving plants. *Ecology*, 70, 993-998.
- Silvius K.M. (2005). Frugivore-mediated interactions among bruchid beetles and palm fruits at Barro Colorado Island, Panama: implications for seed fate. En: Forget P.M., Lambert J.E., Hulme P.E. & Vander Wall S.B. (Eds.), *Seed fate: predation, dispersal and seedling establishment*. CABI Publishing, Oxfordshire. pp. 45-54.
- Southgate B.J. (1979). Biology of the Bruchidae. *Annual Review of Entomology*, 24, 449-473.
- Sperens U. (1997). Fruit production in *Sorbus aucuparia* L. (Rosaceae) and pre-dispersal seed predation by the apple fruit moth (*Argyresthia conjugella* Zell.). *Journal of Theoretical Biology*, 110, 368-373.
- Steffan-Dewenter I. (2003). Importance of habitat area and landscape context for species richness of bees and wasps in fragmented orchard meadows. *Conservation Biology*, 17, 1036-1044.
- Steffan-Dewenter I. & Tscharntke T. (2000). Resource overlap and possible competition between honey bees and wild bees in central Europe. *Oecologia*, 122, 288-296.
- Steffan-Dewenter I. & Tscharntke T. (2001). Succession of bee communities on fallows. *Ecography*, 24, 83-93.
- Steffan-Dewenter I. & Tscharntke T. (2002). Insect communities and biotic interactions on fragmented calcareous grasslands—a mini review. *Biological Conservation*, 104, 275–284.

- Steffan-Dewenter I., Münzenberg U. & Tscharrntke T. (2001). Pollination, seed set and seed predation on a landscape scale, *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 268, 1685-1690.
- Steffan-Dewenter I., Münzenberg U., Bürger C., Thies C. & Tscharrntke T. (2002). Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology*, 83, 1421-1432.
- Steffan-Dewenter I., Klein A.M., Gaebeler V., Alfert T. & Tscharrntke T. (2006). Bee diversity and plant-pollination interactions in fragmented landscape. En: Waser N. & Ollerton J. (Eds.), *Plant-pollinator interactions from specialization to generalization*. University of Chicago Press. pp. 387-407.
- Stoner K.J.L. & Joern A. (2004). Landscape vs. local habitat scale influences to insect communities from tallgrass prairie remnants. *Ecological Applications*, 14, 1306-1320.
- Taki H., Kevan P.G. & Ascher J.S. (2007). Landscape effects of forest loss in a pollination system. *Landscape Ecology*, 22, 1575-1587.
- Tepedino V.J. (1979). The importance of bees and other insect pollinators in maintaining floral species composition. *Great Basin Naturalist*, 3, 139-150.
- Thies C. & Tscharrntke T. (1999). Landscape structure and biological control in agroecosystems. *Science*, 285, 893-895.
- Traveset A. (1991). Pre-dispersal seed predation in Central American *Acacia farnesiana*: factors affecting the abundance of co-occurring bruchid beetles. *Oecologia*, 87, 570-576.
- Tscharrntke T. & Brandl R. (2004). Plant-insect interactions in fragmented landscapes. *Annual Review of Entomology*, 49, 405-430.
- Tscharrntke T., Gathmann A. & Steffan-Dewenter I. (1998). Bioindication using trap-nesting bees and wasps and their natural enemies: community structure and interactions. *Journal of Applied Ecology*, 35, 708-719.
- Tscharrntke T., Steffan-Dewenter I., Kruess A. & Thies C. (2002). Contribution of small habitat fragments to conservation of insect communities of grassland-cropland landscapes. *Ecological Applications*, 12, 354-363.
- Valdivia C.E., Simonetti J.A. & Henríquez C.A. (2006). Depressed pollination of *Lapageria rosea* Ruiz et Pav. (Philesiaceae) in the fragmented temperate rainforest of southern South America. *Biodiversity and Conservation*, 15, 1845-1856.
- Valladares G., Salvo A. & Cagnolo, L. (2006). Habitat fragmentation effects on trophic processes of insect-plant food webs. *Conservation Biology*, 20, 212-217.
- Van Klinken R.D. (2005). Total annual seed loss on a perennial legume through predation by insects: the importance of within-season seed and seed feeder dynamics. *Austral Ecology*, 30, 414-425.
- Vervoorst F. (1982). Noroeste. Conservación de la vegetación natural en la República Argentina. XVIII Jornadas de Botánica, Tucumán.

- Vranckx G., Jacquemyn H., Muys B. & Honnay O. (2012). Meta-analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conservation Biology*, 26, 228-237.
- Ward M. & Johnson S.D. (2005). Pollen limitation and demographic structure in small fragmented populations of *Brunsvigia radulosa* (Amaryllidaceae). *Oikos*, 108, 253-262.
- Waser N.M. (1983). Adaptive nature of floral traits: ideas and evidences. *Pollination Biology* (ed. L. Real). Academic Press. pp. 242-285.
- Watling J.I. & Donnelly M.A. (2006). Fragments as islands: a synthesis of faunal responses to habitat patchiness. *Conservation Biology*, 20, 1016-1025.
- Weppler T. & Stöcklin J. (2006). Does pre-dispersal seed predation limit reproduction and population growth in the alpine clonal plant *Geum reptans*?. *Plant Ecology*, 187, 277-287.
- Wilcock C. & Neiland R. (2002). Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science*, 7, 270-277.
- Winfree R. (2010). The conservation and restoration of wild bees. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1195, 169-197.
- Winfree R., Griswold T. & Kremen C. (2007). Effect of human disturbance on bee communities in a forested ecosystem. *Conservation Biology*, 21, 213-223.
- Winfree R., Williams N.M., Gaines H., Ascher J. & Kremen C. (2008). Wild pollinators provide majority of crop visitation across land use gradients in New Jersey and Pennsylvania, USA. *Journal of Applied Ecology* 45, 793-802.
- Winfree R., Aguilar R., Vazquez D.P., LeBhun G. & Aizen M.A. (2009). A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology*, 90, 2068-2076.
- Winfree R., Bartomeus I. & Cariveau D.P. (2011). Native pollinators in anthropogenic habitats. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42, 1-22.
- Young A.G. & Clarke G.M. (2000). *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press.
- Zak M.R., Cabido M. & Hodgson J.G. (2004). Do subtropical seasonal forests in the Gran Chaco, Argentina, have a future? *Biological Conservation*, 120, 589-598.
- Zschokke S., Dolt C., Rusterholz H.D., Oggier P., Braschler B., Thommen G.H., Lüdin E., Erhardt A. & Baur B. (2000). Short-term responses of plants and invertebrates to experimental small-scale grassland fragmentation. *Oecologia*, 125, 559-572.