

Efecto de la contaminación lumínica sobre el éxito reproductivo de la especie esfingófila *Caesalpinia gilliesii*

Tesina para optar el título de Bióloga
Alumna: Bariles, Julieta Belén

Directora: Dra. Soteras, Florencia Firma:

Codirector: Dr. Cocucci, Andrea Arístides Firma:

Marzo 2019

Efecto de la contaminación lumínica sobre el éxito reproductivo de la especie esfingófila *Caesalpinia gilliesii*

Tribunal examinador

Salvo, Adriana Firma:

Stiefkens, Laura Firma:

Tecco, Paula A. Firma:

Calificación:

Fecha:

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Córdoba, por formarme profesionalmente.

Al Laboratorio de Ecología Evolutiva y Biología Floral por abrirme las puertas y darme la posibilidad de finalizar mis estudios aquí.

A Florencia Soteras, mi directora, por enseñarme y acompañarme en este proceso de aprendizaje, por guiarme y apoyarme en todo momento.

A Andrea Cocucci, mi codirector, por haberme incentivado a realizar mi tesina aquí, por su dedicación y enseñanza en este último tiempo.

Al Tribunal Examinador, por su disponibilidad, por sus sugerencias y correcciones que significaron una instancia más de aprendizaje.

A quienes me acompañaron a los muestreos, por su tiempo y ayuda.

A toda mi familia, por contenerme y apoyarme siempre, por darme la libertad de estudiar lo que me gusta y motivarme en todo momento.

A todos mis amigos, de la vida y de la facultad, por su apoyo y por enseñarme a disfrutar de este proceso. Por las juntadas y viajes, por las charlas, por las risas.

A la danza, por darme un espacio de liberación y motivación.

Índice

Resumen.....	4
1. Introducción.....	5
2. Materiales y métodos.....	8
2.1. Sistema de estudio y sitios de muestreo.....	8
2.2. Medición de la efectividad de la polinización y del éxito reproductivo.....	10
2.3. Caracterización del gremio de esfíngidos y registro de visitas.....	11
2.4 Análisis estadísticos.....	11
3. Resultados.....	12
3.1. Sitios de muestreo: contaminación lumínica.....	12
3.2. Efectividad de la polinización y éxito reproductivo.....	13
3.3. Caracterización del gremio de esfíngidos y registro de visitas.....	15
3.4. Modelos de ecuaciones estructurales.....	18
4. Discusión.....	20
4.1. Efectividad de la polinización y éxito reproductivo de <i>C. gilliesii</i>	20
4.2. Gremio de esfíngidos.....	22
4.3. Relaciones directas e indirectas entre la contaminación lumínica y el éxito reproductivo de <i>C. gilliesii</i>	24
5. Conclusiones.....	24
6. Referencias bibliográficas.....	26
Material Suplementario.....	31

Resumen

El proceso de urbanización produce una alteración en los niveles de luz ambiental durante la noche como consecuencia de la instalación de luces artificiales. La diversidad de las especies de plantas y polinizadores que interactúan en los ecosistemas puede verse afectada por alteraciones del ambiente, influyendo sobre los procesos y servicios ecosistémicos que provee, tales como el de la polinización. *Caesalpinia gilliesii* es una leguminosa nativa de Argentina con arquitectura floral penicilada que depende exclusivamente de la polinización mediada por esfingidos de probóscides largas para reproducirse. Considerando los efectos negativos de la contaminación lumínica sobre la actividad polinizadora de los esfingidos, se planteó la hipótesis de que la intensidad de la luz artificial afecta negativa e indirectamente el éxito reproductivo de este arbusto. Para poner a prueba la hipótesis se determinó la carga polínica conoespecífica depositada, germinada y heteroespecífica sobre estigmas de flores de *C. gilliesii* en ambientes con alta (urbano) y baja (rural) contaminación lumínica en tres sitios dentro de la Provincia de Córdoba. En cada ambiente se seleccionaron 10 individuos y se recolectaron 10 estigmas por individuo para determinar las cargas polínicas. Además se determinó el número de frutos y óvulos y se describió el gremio de esfingidos en cada ambiente. Por último, se evaluaron las relaciones directas e indirectas entre la contaminación lumínica y el éxito reproductivo mediante modelos de ecuaciones estructurales (SEM). Se observó una cantidad marginalmente mayor de granos de polen depositados y proporción de germinados en los ambientes rurales y una cantidad significativamente mayor de granos de polen heteroespecíficos en estos ambientes. El número de frutos y de óvulos fecundados no difirió entre ambientes. Se capturaron representantes del gremio de esfingidos polinizadores de *C. gilliesii* con polen sobre alas, abdomen y probóscide. Según los SEM, a mayor contaminación lumínica, la cantidad de polen heteroespecífico depositado y germinado fue menor. Asimismo, se observó una relación directa significativa y negativa entre la contaminación lumínica y el depósito de polen. Este resultado indicaría que la actividad polinizadora es reducida en ambientes con mayor contaminación lumínica. Sin embargo, el éxito reproductivo de *C. gilliesii* no se vio afectado por la contaminación lumínica, probablemente porque se depositó una cantidad de polen conoespecífico suficiente en ambos ambientes como para fecundar los óvulos disponibles por ovario. Sería necesario realizar estudios de la aptitud de la progenie de *C. gilliesii* para determinar si hay repercusiones ulteriores en el éxito reproductivo.

1. Introducción

El proceso de polinización mediante el cual las plantas reciben una adecuada cantidad de polen de calidad, es llevado a cabo por vectores abióticos como el agua o el viento, o bióticos (Ashman *et al.* 2004). Estos últimos, denominados polinizadores, están comprendidos por distintos taxa de animales y de ellos depende en alguna medida el éxito reproductivo de aproximadamente el 90% de las Angiospermas (Buchmann & Nabhan 1996; Ashworth *et al.* 2004; Ollerton *et al.* 2011). Los polinizadores pueden producir aislamiento reproductivo de las plantas, así como promover su flujo genético, lo que llevaría a la co-especiación de las plantas y los polinizadores a través de procesos de selección recíproca (Willmer 2011). Por ello, la polinización biótica está asociada con la diversificación de algunos grupos principales de plantas y animales (Dodd *et al.* 1999).

Sin la presencia de polinizadores, muchas plantas no podrían reproducirse; y sin plantas que proporcionen polen, néctar y otras recompensas florales, muchas poblaciones de animales disminuirían (Kearns *et al.* 1998). En consecuencia, en las interacciones mutualistas entre las plantas y los polinizadores, en las que las partes interactuantes dependen entre sí en algún momento de sus ciclos de vida, se ejercen presiones selectivas recíprocas que modulan los caracteres involucrados en la interacción (Willmer 2011). Las adaptaciones que desarrollan las plantas para atraer ciertos tipos de polinizadores y excluir a otros dan lugar a los “síndromes florales”, un conjunto de caracteres fenotípicos de las plantas en respuesta a la adaptación a un determinado grupo de polinizadores funcionalmente equivalentes (Mayfield *et al.* 2001). Los polinizadores pueden clasificarse en grupos funcionales, caracterizados por presentar patrones comportamentales semejantes al acceder a las flores o producir presiones selectivas similares sobre éstas. En relación a ello, se observan correlaciones fenotípicas entre las flores de las plantas y sus polinizadores (Fenster *et al.* 2004).

La biodiversidad de los ecosistemas está siendo afectada por la creciente presión de actividades antropogénicas, como la conversión y fragmentación de hábitat, la deforestación y el cambio climático (Newbold *et al.* 2015). Estos procesos pueden afectar la función ecológica de las interacciones, incluso antes de la extinción de las especies (Valiente-Banuet *et al.* 2015). Entre las numerosas actividades humanas que causan la pérdida del hábitat, el desarrollo urbano produce una de las mayores tasas de extinción local de especies nativas (McKinney 2002). Dentro de los efectos producidos por la urbanización pueden mencionarse las modificaciones en el uso de suelo que

retrasan e impiden la recuperación sucesional (McKinney 2006) y el reemplazo de especies nativas por especies exóticas, que promueven la homogeneización biótica y la posterior pérdida de identidad biológica en sistemas locales (Blair 2001). Numerosos estudios realizados tanto en plantas (McKinney 2008) como en aves y mamíferos (Mackin-Rogalska *et al.* 1988), mariposas (Blair 2001) y otros insectos (Denys & Schmidt 1998, McIntyre 2000) documentan que la diversidad más baja de especies a lo largo del gradiente urbano-rural se observa en los ambientes altamente modificados del núcleo urbano (McKinney 2002).

Por otra parte, el proceso de urbanización produce una alteración en los niveles de luz ambiental durante la noche como consecuencia de la instalación de luces artificiales (Cinzano *et al.* 2001). La contaminación lumínica provoca efectos adversos en plantas, mamíferos e insectos afectando su supervivencia, fisiología y diversidad (Gaston *et al.* 2013, Estévez Caride 2016, Bennie *et al.* 2016). Entre los insectos, se ha visto que en condiciones de contaminación lumínica cambian la abundancia, riqueza y composición de las comunidades de polillas mayores (Grenis 2016).

Ante el disturbio antrópico de la contaminación por luces artificiales, el proceso de polinización nocturna puede verse afectado, impactando primero sobre la diversidad local y en última instancia sobre los procesos y servicios ecosistémicos y así deteriorando indirecta y directamente los beneficios del ambiente al hombre (Macgregor *et al.* 2015). Es decir, indirectamente la luz artificial afectaría las interacciones planta-animal, al desajustar el tiempo de encuentro (Visser & Holleman 2001; Van Asch *et al.* 2007) y disminuir el transporte de polen e impactar en la dispersión de semillas (Bennie *et al.* 2015, Macgregor *et al.* 2017). De esta manera, el estudio de las interacciones planta-polinizador en sitios con contaminación lumínica es clave para determinar los sitios más vulnerables donde enfocar futuras estrategias de conservación. Hasta el momento, pocos trabajos han indagado acerca del efecto de luces artificiales sobre las redes nocturnas de interacción planta-polinizador (Knop *et al.* 2017) o sobre el transporte de polen por lepidópteros nocturnos (Macgregor *et al.* 2017). Además, hasta donde se conoce, ningún trabajo ha evaluado el efecto de la luz artificial en ambientes urbanos y rurales sobre la efectividad de los polinizadores en el depósito de polen de calidad y el consecuente impacto sobre el éxito reproductivo de la planta involucrada en la interacción.

Caesalpinia gilliesii (Wall. ex Hook.) Dietr. es una leguminosa nativa que se distribuye ampliamente en Argentina (Burkart 1936). Es una planta autoincompatible,

es decir que depende exclusivamente de los polinizadores para reproducirse. Sus flores presentan un síndrome de caracteres florales convergentes tipo esfingófilo. Las piezas fértiles, dispuestas en forma de cepillo, sobresalen del perianto y pueden alcanzar 12,3 cm de longitud (Cocucci *et al.* 1992). Debido a la arquitectura floral penicilada, el néctar, expuesto en el centro de la flor, está fácilmente accesible. Por ello, *C. gilliesii* es visitada por una gran variedad de animales diurnos y nocturnos como polillas, esfingidos de probóscide corta y abejas, que se alimentan del polen o del néctar aunque sólo casualmente tocan los estigmas y depositan polen (Cocucci *et al.* 1992; Moré *et al.* 2006). A pesar de la alta diversidad de visitantes florales, los polinizadores de esta planta, es decir los visitantes que hacen contacto con anteras y estigma cuando toman néctar, son lepidópteros nocturnos pertenecientes a la familia Sphingidae (Moré *et al.* 2014), que presentan una probóscide de 4,3 a 10,5 cm de largo (i.e. *Manduca bergi*, *M. diffusa*, *M. sexta* y *Lintneria maura*) (Cocucci *et al.* 1992; Moré *et al.* 2006). Todas estas especies se reproducen en plantas pertenecientes a numerosas familias tales como Bignoniaceae, Brassicaceae, Convolvulaceae, Pedaliaceae, Solanaceae y Verbenaceae (Moré *et al.* 2005). Las especies del gremio de polinizadores son probablemente las más eficientes en el depósito de polen de calidad en *C. gilliesii*, es decir depositan en general mayor cantidad de polen propio y menor de polen de otras especies de planta (Poblete *et al.* 2019). En Córdoba esta especie de planta se encuentra tanto en ambientes urbanizados como rurales, con alta y baja contaminación lumínica, respectivamente. Por lo tanto, representa un sistema apropiado para estudiar el efecto de la contaminación lumínica sobre las interacciones dentro de comunidades nativas.

Considerando los efectos negativos de la contaminación lumínica sobre la actividad polinizadora de los esfingidos, se plantea la hipótesis de que la intensidad de luz artificial afecta negativa e indirectamente el éxito reproductivo del arbusto esfingófilo *C. gilliesii*. Se predice que en ambientes con mayor contaminación lumínica la cantidad de polen xenógamo depositado y germinado sobre los estigmas será menor que en ambientes con menor contaminación lumínica. De esta manera, tanto el número de frutos como de óvulos fecundados será menor en el ambiente más contaminado. Además, se espera una mayor cantidad de polen de otras especies de plantas (en adelante “heteroespecífico”) en ambientes con mayor contaminación lumínica.

Asimismo, se espera que la intensidad lumínica influya en la cantidad de semillas por fruto producidas por la planta indirectamente a través de la cantidad de polen depositado, germinado y heteroespecífico. A su vez, la contaminación lumínica

afectará directamente a la cantidad de polen depositado al influir en la abundancia y actividad de los esfingidos. A su vez, la cantidad de polen depositado también se vería influenciada por el número de flores abiertas y de inflorescencias de las plantas, que producirían un efecto atractivo sobre los polinizadores (Johnson 2003). Asimismo, el número de semillas que produce la planta depende del número de granos conoespecíficos germinados y heteroespecíficos que recibe el estigma, ambos dependientes de la cantidad de granos depositados. Se espera que el número de granos heteroespecíficos opere negativamente sobre la formación de semillas por obliteración del estigma con polen incongruente. Por último, dado que se ha evidenciado que en *C. gilliesii* el número de semillas depende del tamaño de la planta (Calviño et al. 2016), se predice una relación directa entre el número de inflorescencias, como indicador del tamaño de la planta, y el número de frutos.

Para poner a prueba la hipótesis, se planteó como objetivo general determinar el efecto de la contaminación lumínica sobre el éxito reproductivo de *C. gilliesii* en poblaciones de la Provincia de Córdoba (Argentina). Para ello, se propusieron los siguientes objetivos particulares:

- a. Determinar la carga polínica depositada sobre estigmas de flores de *C. gilliesii* en dos ambientes: uno con alta y otro con baja contaminación lumínica de tres sitios.
- b. Determinar la efectividad de los polinizadores en cada ambiente: relación entre carga polínica germinada y depositada por estigma; y entre carga polínica heteroespecífica y depositada sobre el estigma.
- c. Determinar el número de frutos y óvulos fecundados en cada ambiente.
- d. Describir el gremio de esfingidos en cada ambiente.
- e. Determinar las relaciones directas e indirectas entre la contaminación lumínica (intensidad de luz artificial), el número de flores abiertas y de inflorescencias sobre el éxito reproductivo.

2. Materiales y métodos

2.1. Sistema de estudio y sitios de muestreo

Caesalpinia gilliesii es un arbusto de hasta 3 m de altura que ha sido cultivado ampliamente por su valoración como especie ornamental (Parodi 1987). Su distribución natural en Argentina incluye las provincias de Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, La Rioja, Mendoza, Neuquén, Río Negro, Salta,

Santiago del Estero, Santa Fe, San Juan, San Luis y Tucumán. Posee inflorescencias vistosas con flores de anthesis nocturna con pétalos amarillos y estambres rojos que se marchitan al día siguiente (Cocucci *et al.* 1992). Las plantas son andromonoicas y muestran diferencias en la producción de flores perfectas y estaminadas según el tamaño del individuo y de la inflorescencia (Calviño & Galetto 2010). Esta especie no fructifica por autopolinización espontánea y es auto-incompatible (Cocucci *et al.* 1992; Jausoro & Galetto 2001; Calviño 2006).

Los sitios de estudio fueron elegidos por presentar al menos 10 individuos de *C. gilliesii* y los dos ambientes (urbano y rural) apareados. Éstos se ubicaron en las siguientes localidades de la Provincia de Córdoba: Río Ceballos (31°10'25,51"S; 64°18'44,40"W 683 m.s.n.m), Unquillo (31°14'3,39"S; 64°19'0,12"W 600 m.s.n.m) y Valle Hermoso (31°7'0,87"S; 64°28'58,48"W 905 m.s.n.m) (Fig. 1a). Para diferenciar los ambientes urbanos de los rurales se utilizó el mapa de contaminación lumínica disponible en www.lightpollutionmap.info. Se extrajeron los valores de intensidad lumínica del mapa para cada ambiente de los tres sitios y se realizó un promedio por ambiente (n=3). Se consideró una diferencia mínima de 200 $\mu\text{cd}/\text{m}^2$ de luz artificial para distinguir a los ambientes urbanos de los rurales (Fig. 1b).

Además, en cada ambiente de los sitios (n=3) se tomaron mediciones de la intensidad lumínica utilizando una cámara fotográfica Nikon Modelo D80. Entre las 19 y las 21hs se registró el tiempo de cierre del obturador al enfocar una superficie con fondo blanco. Estas mediciones fueron transformadas a lx (1 lumen/m²) mediante el uso de un fotómetro LI-COR Modelo LI-1400 y una curva de calibración entre tiempo de obturación y lx.

2.2. Medición de la efectividad de la polinización y del éxito reproductivo

En dos fechas durante la época de floración de *C. gilliesii*, se muestreó un total de 120 individuos (10 individuos x 2 fechas x 2 ambientes x 3 sitios). Los 10 individuos de cada ambiente se seleccionaron al azar y estuvieron separados entre sí por al menos 3 m de distancia. De cada individuo se recolectaron 10 estigmas que fueron conservados en alcohol al 70 % para su posterior análisis en el laboratorio.



Figura 1. (a) Ubicación geográfica de los sitios de muestreo dentro de la Provincia de Córdoba, (b) vista general de los ambientes urbano y rural, (c) inflorescencia de *C. gilliesii*: se observan flores abiertas la noche anterior, frutos y marcas (flecha) dejadas en la inflorescencia por frutos no formados, (d) trampa de luz y cámara filmadora colocadas para la captura y observación de esfingidos, respectivamente.

Como medida de efectividad de la polinización se cuantificó tanto el número de granos de polen depositados y germinados como el número de granos de polen heteroespecífico depositados sobre los estigmas. Para ello, en el laboratorio, los estigmas se clarificaron con NaOH 1N durante 2 horas y tiñeron con solución de Calberla y azul de anilina (para visualizar granos de polen depositados y tubos polínicos, respectivamente) colocando 15 gotas de cada colorante durante 3 horas (Dafni *et al.* 2005). Posteriormente, se dispusieron sobre portaobjetos y se observaron con microscopía de epifluorescencia utilizando un microscopio Zeiss Axiophot con el juego de filtros IV-06. La combinación de colorantes y un adecuado balance entre la iluminación epifluorescente y de campo claro permite observar simultáneamente la cubierta de los granos de polen y los tubos polínicos germinados.

A su vez, para determinar el éxito reproductivo se evaluó la fructificación y el número de óvulos fecundados por fruto. Para esto, a campo, en cada individuo se contabilizó el número de inflorescencias y en tres de ellas se determinó el número de flores abiertas, número de marcas totales (marcas en la rama de flores, frutos y de flores caídas que no formaron fruto), número de frutos, número de marcas de semillas y número de semillas (Fig. 1c).

2.3. Caracterización del gremio de esfíngidos y registro de visitas

Para medir la actividad polinizadora de los esfíngidos, se colocó una trampa de luz entre las 20:00 hs y las 00:00 hs en cada ambiente de los sitios muestreados. La trampa constó de dos lámparas mezcladoras de 150 W y un paño blanco de 1,5 x 1,5 m dispuesto en forma vertical (Fig. 1d). Se dispuso cada trampa en un espacio abierto próximo a la población de *C. gilliesii*.

Cada esfíngido capturado fue inyectado con alcohol 70 % y la longitud de su probóscide fue medida con un calibre digital (0,01 mm). Posteriormente, se colocó en un sobre entomológico para determinar en laboratorio la presencia de polen de *C. gilliesii*.

Para registrar las visitas a las flores, se dispuso una cámara enfocando la mayor cantidad de flores posibles de una planta entre las 20:00 hs y las 00:00 hs (Fig. 1d). En los videos se registró el número de flores observadas y visitadas y si los esfíngidos hacían contacto con las piezas fértiles de la flor visitada. En cada ambiente se realizó en simultáneo una filmación por fecha.

2.4 Análisis estadísticos

El éxito reproductivo se determinó sobre la base de dos medidas: a) número de estigmas con polen conoespecífico depositado, germinado y heteroespecífico; y b) número de granos conoespecíficos, germinados y heteroespecíficos por estigma. En el primer caso, se realizaron pruebas de homogeneidad de χ^2 entre ambientes. En el segundo caso, para determinar si las medidas de éxito reproductivo estaban influenciadas por el ambiente de los sitios, se ajustaron modelos lineales generalizados mixtos (GLMM). El ambiente con dos niveles (urbano y rural) fue incluido como factor fijo y los sitios como factor aleatorio dentro del cual se anidaron la fecha y el individuo, para controlar la variabilidad de las pseudoréplicas dentro de cada ambiente. En el caso de variables cuyos datos eran conteos (número de granos de polen depositados, germinados y heteroespecíficos) se ajustaron modelos con distribución de los errores tipo Poisson, en los cuales se incluyó como “offset” al total de estigmas por individuo. La proporción de granos germinados y heteroespecíficos, la fructificación (relación cantidad de frutos/inflorescencias) y la proporción de semillas por fruto se analizaron mediante una distribución binomial de los errores. Para las proporciones de granos germinados y heteroespecíficos se incluyó como “offset” al total de estigmas por individuo. Para todos los casos se utilizó la función `glmer()` del paquete `lme4` (Bates *et al.* 2015) del programa estadístico R (R Core Team 2016). Cuando se detectó

sobredispersión en los residuos, es decir cuando la devianza residual del modelo fue mayor a los grados de libertad de los residuos, se corrigió agregando como factor aleatorio a la unidad de observación (Harrison 2014).

Por último, con el objetivo de determinar las relaciones directas e indirectas entre la contaminación lumínica (intensidad de luz artificial medida como $\mu\text{cd}/\text{m}^2$ y lx), el número de flores abiertas y de inflorescencias sobre el éxito reproductivo se realizó un modelo de ecuaciones estructurales (SEM) acíclico dirigido utilizando el paquete piecewiseSEM (Lefcheck 2016) en R. Los modelos de ecuación estructural son probabilísticos y consideran variables tanto predictoras como respuestas en una sola red causal. Los SEM acíclicos dirigidos permiten evaluar individualmente cada una de las ecuaciones lineales estructuradas dentro del modelo (Shipley 2000).

En el modelo más completo (mod A) se incluyó el efecto del número de flores abiertas y de inflorescencias sobre la cantidad de polen depositado (Fig. 2). Se asumió que la intensidad lumínica, influiría en la cantidad de semillas por fruto producidas por la planta indirectamente a través de la cantidad de polen depositado, germinado y heteroespecífico. Cada una de las relaciones dentro del modelo se ajustó mediante GLMM incorporando como factor aleatorio al sitio dentro del cual se anidaron el ambiente, la fecha y los individuos. Se puso a prueba el modelo completo (mod A, Fig. 2) junto con otros tres más simples extrayendo la influencia directa del número de inflorescencias (mod B), de flores abiertas (mod C) o de ambas (mod D). Para cada modelo se determinó la bondad de ajuste mediante el índice C de Fisher y el valor de significancia P. Se consideró que los modelos representaron significativamente los datos cuando tuvieron $P > 0,05$. Además se utilizó el criterio de información Akaike (AIC) para seleccionar el mejor modelo, el cual fue representado gráficamente mediante un diagrama de flujo.

3. Resultados

3.1. Sitios de muestreo: contaminación lumínica

Los valores de intensidad de luz artificial extraídos del mapa de contaminación lumínica fueron en promedio para ambientes urbanos de $915,33 \mu\text{cd}/\text{m}^2$ y para ambientes rurales de $455,67 \mu\text{cd}/\text{m}^2$. En las mediciones locales de intensidad lumínica, los ambientes urbanos presentaron en promedio $0,097 \text{ lx}$ y los rurales $0,0098 \text{ lx}$.

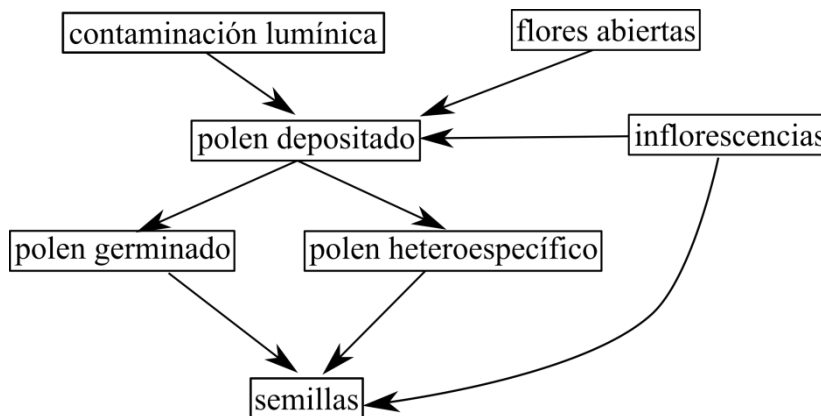


Figura 2. Modelo completo de relaciones directas e indirectas entre las variables medidas que se evaluaron mediante modelos de ecuaciones estructurales.

3.2. Efectividad de la polinización y éxito reproductivo

Del total de estigmas observados (urbano: $n=561$, rural: $n=495$) se encontró que el ambiente rural presentó un número marginalmente mayor de estigmas con granos de polen de *C. gilliesii* depositados que el ambiente urbano ($n=135$ y 151 , respectivamente; $\chi^2=2,93$; $P=0,087$; Fig. 3a y b). En tanto, el 13% de los estigmas de ambientes urbanos y el 16% de los provenientes de ambientes rurales presentaron granos de polen germinados. Ambos ambientes no difirieron significativamente en el número de estigmas con polen germinado ($n=73$ y 79 , respectivamente; $\chi^2=1,1$; $P=0,276$; Fig. 3c). Además, se observó que con un 12% de estigmas con granos de polen heteroespecífico en los ambientes urbanos y un 29% en los rurales, ambos ambientes difirieron significativamente en el número de estigmas que recibieron polen heteroespecífico ($n=65$ y 143 , respectivamente; $\chi^2=32$, $P<0,005$; Fig. 3d).

Las plantas de *C. gilliesii* ubicadas en los ambientes urbanos presentaron una menor cantidad de polen depositado por estigma que las plantas de los ambientes rurales y esta diferencia fue marginalmente significativa (GLMM Poisson: $Z=1,75$; $P=0,08$; Fig. 4a). El número de granos de polen germinado no difirió significativamente entre los ambientes (GLMM Poisson: $Z=0,90$; $P=0,37$; Fig. 4b), mientras que el número de granos de polen heteroespecífico fue significativamente mayor en los ambientes rurales (GLMM Poisson: $Z=5,76$; $P=<0,001$; Fig. 4c). Asimismo, la proporción de granos germinados en relación a los depositados por estigma fue marginalmente mayor en los ambientes rurales (GLMM Binomial: $Z=1,93$; $P=0,054$; Fig. 4d). La proporción de granos de polen heteroespecífico respecto a los depositados fue marginalmente mayor en los ambientes rurales que en los urbanos (GLMM Binomial: $Z=1,87$; $P=0,062$; Fig. 4e). El número de inflorescencias por individuo y el de flores abiertas en relación al

número de inflorescencias, indicadores del tamaño de las plantas y de la atracción a los polinizadores, respectivamente, no fueron distintos entre los tipos de ambientes (GLMM Poisson: $Z=1,35$; $P=0,18$ y GLMM Binomial: $Z=1,02$; $P=0,309$; respectivamente).

Las proporciones de frutos (número de frutos por inflorescencia) y de semillas (número de semillas por fruto) no difirieron significativamente entre los ambientes urbanos y rurales (GLMM Binomial: $Z=1,17$; $P=0,243$; $Z=1,537$; $P=0,124$; respectivamente; Fig. 5a y b).

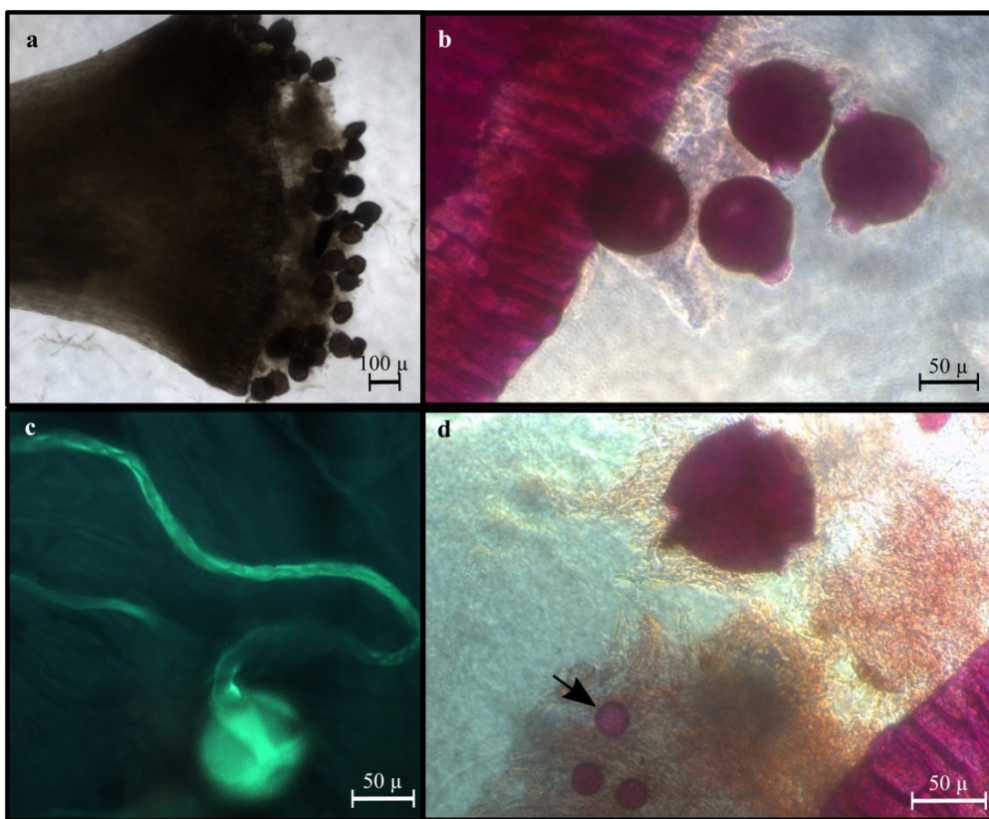


Figura 3. Estigma de *C. gilliesii* (a) vista general de los granos depositados, (b) detalle de granos de *C. gilliesii*, (c) grano compatible germinado y (d) granos heteroespecíficos (flecha).

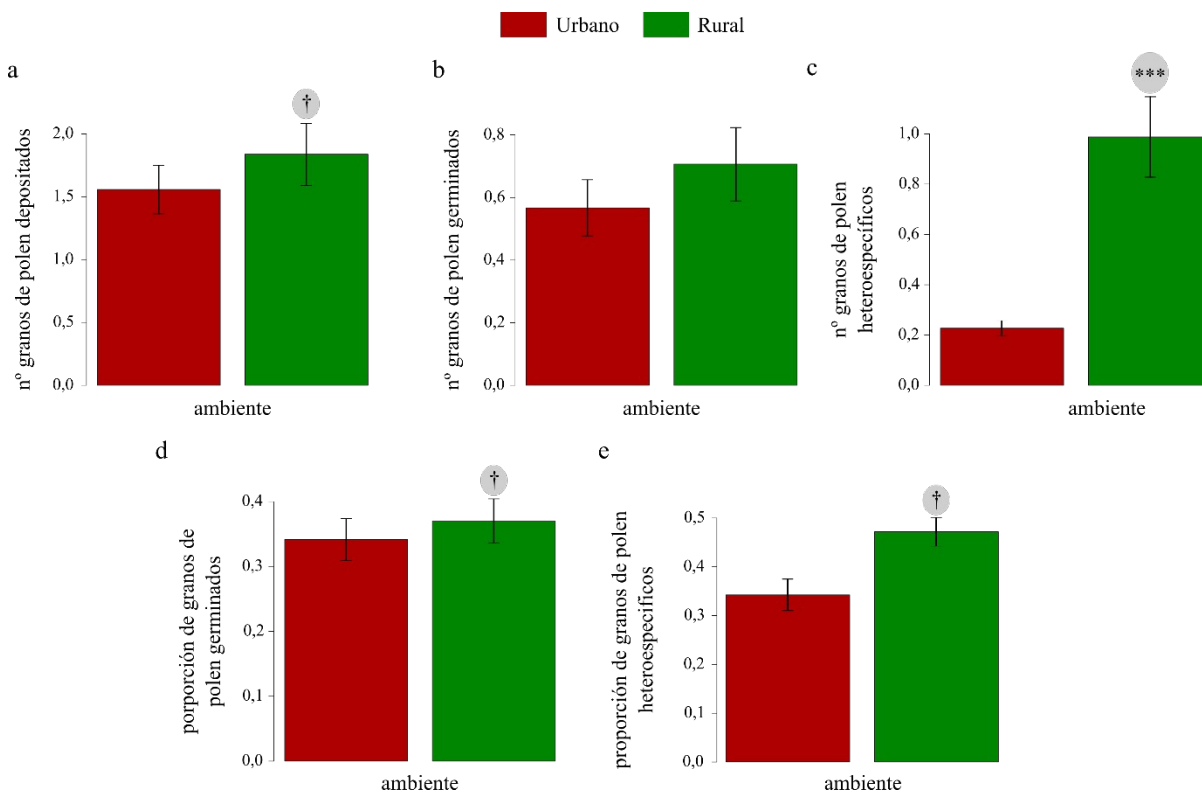


Figura 4. Medidas de la efectividad de la polinización de *C. gilliesii* en ambientes urbanos y rurales de la provincia de Córdoba: (a) polen depositado por estigma, (b) polen germinado, (c) polen heteroespecífico, (d) relación entre polen germinado y depositado y (e) relación entre polen heteroespecífico y depositado. Niveles de significancia según los GLMM: *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$; † $P < 0,1$. Las barras de error representan el error estándar asociado.

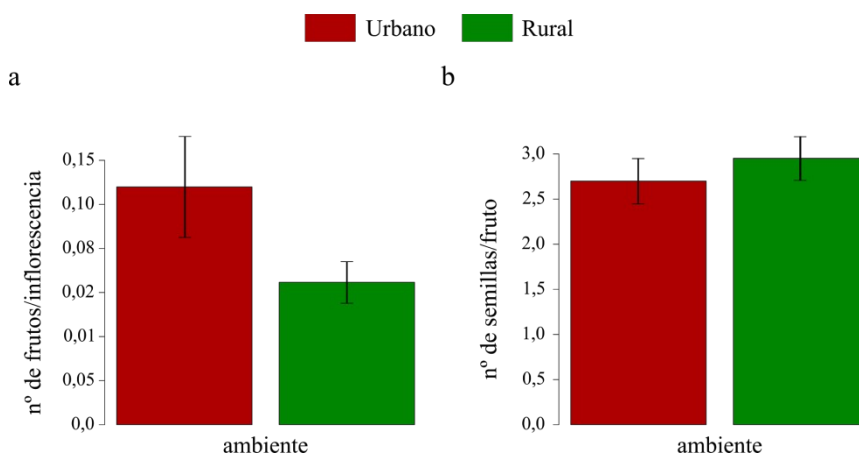


Figura 5. Medidas del éxito reproductivo de *C. gilliesii* en ambientes urbanos y rurales: (a) número de frutos por inflorescencia y (b) número de semillas por fruto. Las diferencias no fueron significativas según los GLMM. Las barras de error representan el error estándar asociado.

3.3. Caracterización del gremio de esfíngidos y registro de visitas

Durante los muestreos nocturnos se observó que la actividad de los esfíngidos comenzaba a partir de las 21 hs, aumentando su frecuencia a lo largo de la noche. Se registró un total de 26 esfíngidos, de los cuales 16 individuos fueron capturados en

ambientes urbanos y 10 en ambientes rurales. Se identificaron tres individuos de *Ca. grisescens*, 19 de *M. diffissa*, dos de *L. maura* y dos de *M. sexta* (Tabla 1). Excepto un individuo de *Ca. grisescens*, todos los individuos capturados llevaron polen de *C. gilliesii* (Fig. 6). El polen se depositó principalmente sobre la probóscide, la superficie ventral de las alas y el abdomen de los esfíngidos. Además de polen de *C. gilliesii* se encontraron granos de polen heteroespecífico sobre la probóscide de individuos de *M. diffissa* y *L. maura*.



Figura 6. Vista dorsal (columna izquierda) y ventral (columna derecha) de los esfíngidos capturados: (a) *Callionima grisescens*, (b) *Manduca diffissa*, (c) *M. sexta* y (d) *Lintneria maura*. En los acercamientos se observan los granos de polen de *C. gilliesii* transportados sobre distintas partes del cuerpo.

En cuanto a la longitud de la probóscide, un individuo de *M. sexta*, capturado en el ambiente rural, tuvo la mayor longitud con 96,61 mm y uno de *Ca. grisescens* la menor con 13,25 mm (Tabla 1). En promedio, el gremio de esfingidos, sin *Ca. grisescens*, el cual fue polinizador casual, presentó una probóscide de 61,87 mm \pm 18,60 de longitud.

En los registros realizados con cámara filmadora, se observaron tres visitas a las flores de los ambientes rurales. Durante las visitas, los esfingidos realizaron contacto con las piezas fértiles de al menos dos flores de las seis enfocadas. Poco después de las 20 hs también se registraron otros visitantes florales, probablemente robadores de néctar, como abejorros y abejas.

Tabla 1. Esfingidos capturados por especie y ambiente, número total de individuos, número de individuos con polen de *Caesalpinia gilliesii* y longitud media de la probóscide.

Especie	Ambiente	Individuos capturados (N=26)	Individuos con polen de <i>C. gilliesii</i>	Longitud media de probóscide \pm DE (mm)
<i>Manduca diffissa</i> (Butler, 1871)	Urbano	13	12	52,79 \pm 5,01
<i>Lintneria maura</i> (Burmeister, 1879)	Urbano	2	1	49,95 \pm 2,93
<i>Callionima grisescens</i> (Rothschild, 1894)	Urbano	1	0	13,25
<i>Manduca diffissa</i> (Butler, 1871)	Rural	6	6	55,16 \pm 3,82
<i>Callionima grisescens</i> (Rothschild, 1894)	Rural	2	2	15,59 \pm 2,72
<i>Manduca sexta</i> (Linnaeus, 1763)	Rural	2	2	89,56 \pm 9,98

3.4. Modelos de ecuaciones estructurales

Mediante los modelos de ecuaciones estructurales se evaluaron las relaciones directas e indirectas entre la contaminación lumínica, medida como intensidad de luz artificial, y el número de semillas a través del número de granos de polen conoespecífico, germinado y heteroespecífico depositados sobre los estigmas. Todos los modelos realizados con la intensidad lumínica en $\mu\text{cd}/\text{m}^2$ explicaron significativamente los datos ($P > 0,05$; Tabla 2; Fig. S1). En cambio, en los modelos realizados con la intensidad lumínica medida en lx, sólo el más simple explicó significativamente los datos (Tabla 2; Fig. S1).

De los ocho modelos planteados, los más sencillos (modelos D, Fig. 8) presentaron el menor valor de AIC. Estos modelos incluyeron los efectos indirectos de la contaminación lumínica sobre la producción de semillas, a través de la cantidad de polen conespecífico depositado, que a su vez influyó directamente en la cantidad de polen conespecífico germinado y heteroespecífico (Fig. 8).

Las relaciones directas negativas entre la contaminación lumínica tanto con el polen conespecífico como con el polen heteroespecífico fueron significativas en los dos modelos seleccionados (Fig. 8). Asimismo, la relación directa positiva entre la cantidad de polen conespecífico depositado y germinado fue significativa en ambos modelos (Fig. 8).

Tabla 2. Modelos de ecuaciones estructurales puestos a prueba en este estudio. En negrita se resalta el modelo seleccionado con el menor AIC. Los modelos con un $P > 0,05$ representaron significativamente los datos.

Unidades de intensidad lumínica	$\mu\text{cd}/\text{m}^2$				lx			
	Modelo/Parámetros	C de Fisher	P	AICc	AIC	C de Fisher	P	AICc
Mod A (completo)	20,63	0,056	67,47	58,63	98,32	<0,001	139,28	132,32
Mod B (sin variable: inflorescencias)	12,08	0,148	55,94	48,08	50,61	<0,001	91,57	84,61
Mod C (sin variable: flores abiertas)	11,11	0,085	57,95	49,11	50,46	<0,001	91,42	84,46
Mod D (sin variables de mod C y mod D)	1,85	0,397	42,81	35,85	2,75	0,253	43,71	36,75

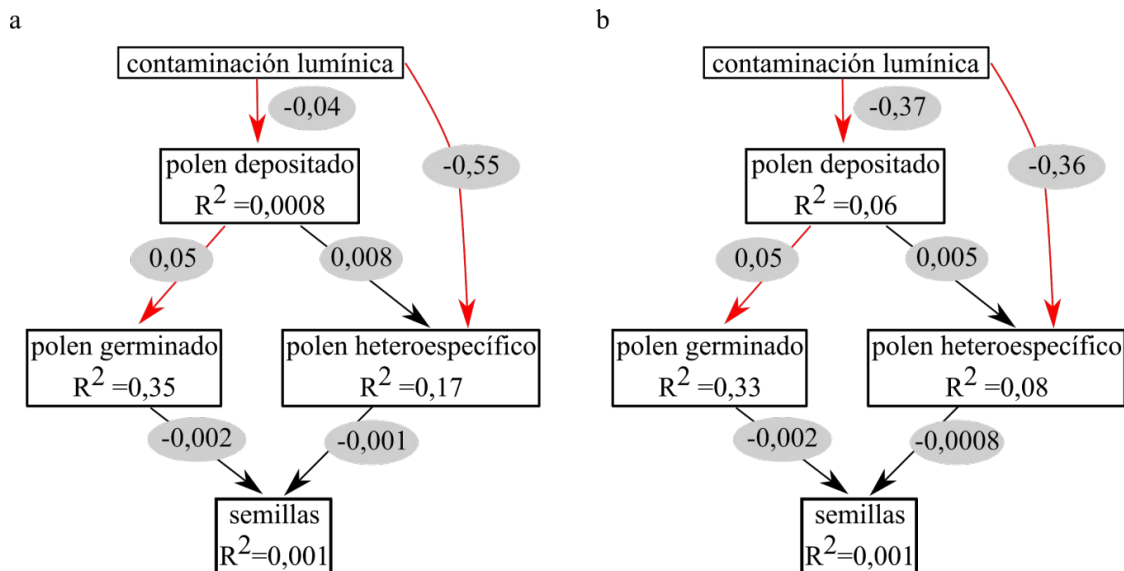


Figura 8. Modelos finales de ecuaciones estructurales considerando a la contaminación lumínica como la intensidad de luz medida en a) $\mu\text{cd}/\text{m}^2$ y b) lx. En cada caja se detalla la variabilidad explicada por cada componente del modelo (R^2) y en cada flecha el coeficiente de la interacción. Las flechas en rojo indican las relaciones que fueron estadísticamente significativas ($P < 0,05$).

4. Discusión

4.1. Efectividad de la polinización y éxito reproductivo de *C. gilliesii*

La cantidad de estigmas de *C. gilliesii* con polen xenógamo depositado (granos de polen germinados) fue marginalmente mayor en ambientes rurales, tal como se predijo por la menor contaminación lumínica en estos ambientes. Esto es consistente con la relación encontrada por otros autores entre la actividad de los esfíngidos y la contaminación, según la cual, en ambientes con menor incidencia de luz artificial, es más eficiente el transporte de polen por insectos nocturnos (Macgregor *et al.* 2017). En cuanto a la cantidad de polen depositado por estigma, a pesar de no observarse diferencias en el número de polen germinado por estigma sí se observó una proporción marginalmente mayor de polen germinado en relación al depositado en ambientes rurales. Esto sugiere que en ambientes rurales, los esfíngidos son más eficientes en el depósito de polen compatible que puede germinar que en ambientes urbanos. Contrario a lo inicialmente planteado, se observó una mayor cantidad de polen heteroespecífico en ambientes rurales, posiblemente relacionada con una mayor abundancia y diversidad de otras especies de plantas que en ambientes urbanos (obs. pers.), así como de mayor diversidad de visitantes florales generalistas. La mayor cantidad de polen heteroespecífico recibido sobre los estigmas en los ambientes rurales no parece haber afectado la germinación de los granos de polen conespecíficos, ya que no difirió la

cantidad de polen germinado sobre los estigmas entre los ambientes. Sin embargo, la mayor proporción de granos conoespecíficos germinados en ambientes rurales sugiere que el polen depositado era de mejor calidad.

Las relaciones planta-polinizador asimétricas están representadas por plantas generalistas que son polinizadas por muchos polinizadores tanto especialistas como generalistas o por plantas especialistas que son polinizadas por pocos taxa de polinizadores generalistas (Ashworth *et al.* 2004). En el caso de *C. gilliesii* y sus polinizadores, la interacción está representada, por un lado, por la planta que es especialista funcional ya que depende del grupo funcional de los esfingidos para reproducirse. Por el otro lado, algunos de los polinizadores son generalistas ya que pueden acceder al néctar de otras especies de plantas de la comunidad, mientras que otros son especialistas con probóscides más largas que acceden más frecuentemente a plantas de flores largas (Bascombe *et al.* 2006; Sazatornil *et al.* 2016). En ambientes naturales, las plantas de *C. gilliesii* generalmente conviven con otras plantas esfingófilas que florecen en el mismo momento, tales como *Mandevilla laxa* y *Nicotiana longiflora* (Cocucci *et al.* 2009). Las distintas especies de planta pueden particionar el servicio de la polinización a través de diferentes mecanismos, ya sea variando el momento de floración o depositando el polen sobre distintas partes del cuerpo del visitante (Muchhala *et al.* 2007; Moré *et al.* 2006). En relación a este último, *M. laxa* y *N. longiflora* depositan el polen con mayor frecuencia sobre la probóscide, mientras que *C. gilliesii* lo hace sobre las partes ventrales del cuerpo y alas (Cocucci *et al.* 2009; Moré *et al.* 2006). Además, se ha observado que algunas especies de plantas podrían tolerar cierta cantidad de depósito de polen heteroespecífico sin alterar su éxito reproductivo y en general los beneficios de compartir polinizadores superan los costos de recibir polen de otras especies o perder polen propio (Ashman & Gómez 2013; Tur *et al.* 2016).

A pesar de las diferencias entre los ambientes urbanos y rurales en cuanto a intensidad de luz artificial, las plantas de *C. gilliesii* presentaron tamaños similares (número de inflorescencias) y, a pesar de las diferencias en la cantidad y calidad de polen depositado, ni el número de frutos por inflorescencia ni de semillas por fruto difirieron significativamente entre ambientes. Posiblemente, la contaminación lumínica esté afectando la actividad de los polinizadores nocturnos, pero la cantidad de polen depositado en el ambiente urbano y el rural sea suficiente como para fecundar los óvulos disponibles de *C. gilliesii* (i.e. aproximadamente ocho por ovario; Cocucci *et al.* 1992; Calviño & Carrizo García 2005). Además, la fructificación de la planta depende

también de otros factores que no fueron considerados en este estudio, tal como la disponibilidad de recursos, que establecerán un límite al éxito reproductivo por debajo del éxito de la polinización (Calviño *et al.* 2016).

4.2. Gremio de esfíngidos

En este trabajo se realizó una caracterización del gremio en ambientes urbanos y rurales y se observó una tendencia a una mayor abundancia de esfíngidos en ambientes urbanos, aunque una mayor polinización en ambientes rurales. A diferencia de lo esperado, la mayor captura de esfíngidos se registró en ambientes urbanos. Esta aparente contradicción podría explicarse porque el incremento en la intensidad lumínica artificial atrae a los visitantes florales nocturnos (Macgregor *et al.* 2017). A pesar de la mayor atracción de esfíngidos a la luz artificial, y tal como lo observado aquí, en trabajos previos se ha evidenciado una menor probabilidad de transportar polen en ambientes contaminados que en no contaminados (Macgregor *et al.* 2017). Dado que la contaminación lumínica afecta negativamente el éxito reproductivo de los esfíngidos, ya sea inhibiendo la liberación de feromonas por parte de las hembras (Sower *et al.* 1970), suprimiendo la oviposición (Nemec 1969) o afectando el desarrollo de las larvas (van Geffen *et al.* 2014), los esfíngidos presentes en los ambientes urbanos deben provenir de ambientes aledaños menos contaminados. Sin embargo, debido a que este estudio no se diseñó para determinar la abundancia y diversidad, en el futuro se debería determinar el efecto de la contaminación lumínica sobre la comunidad del gremio de esfíngidos para evaluar las consecuencias sobre su actividad polinizadora.

Otro aspecto a considerar para próximos estudios es el grado de edificación de los ambientes urbanos, ya que en los considerados en este estudio, a pesar de que presentaron valores de intensidad lumínica similares entre sí, difirieron en cuanto al grado de edificación, encontrándose algunos en zonas más céntricas y transitadas que otros. Esto es relevante, ya que se ha evidenciado que las barreras físicas de los ambientes urbanos pueden interferir en las interacciones biológicas, al afectar la dispersión de los insectos (Peralta *et al.* 2011). En este sentido, el ambiente urbano de Unquillo, donde la trampa de luz se colocó en la vecindad de una población numerosa de *C. gilliesii*, tuvo una mayor cantidad de esfíngidos que los demás ambientes urbanos, donde la abundancia de *C. gilliesii* y de otras plantas fue menor.

Los esfíngidos capturados presentaron granos de polen tanto sobre la probóscide como sobre las alas y el abdomen. Se ha observado que flores de tipo penicilado, como es el caso de *C. gilliesii*, son polinizadas con mayor frecuencia por esfíngidos que

presentan probóscides que van desde 43,77 hasta 105,48 mm de longitud, transportando el polen principalmente sobre alas y probóscide (Moré *et al.* 2006). Teniendo en cuenta las medidas de longitud de probóscide registradas en este trabajo, se podría considerar que los esfíngidos capturados serían efectivos polinizadores de esta planta.

A pesar de que la estructura floral de *C. gilliesii* no es considerada restrictiva ya que el néctar se encuentra fácilmente accesible tanto a visitantes diurnos como nocturnos y de todo tamaño de probóscide, se ha evidenciado que las especies polinizadoras de *C. gilliesii* son *M. bergi*, *M. diffissa*, *M. sexta* y *L. maura*, todos éstos lepidópteros nocturnos de probóscides relativamente largas (Moré *et al.* 2006). En este estudio se registraron tres de las mencionadas, en tanto que no se encontraron evidencias de la presencia de *M. bergi* en los ambientes muestreados. Esto es esperable ya que esta especie es escasa en la Provincia de Córdoba (Moré *et al.* 2005).

La actividad locomotora de *M. sexta* está regulada por el reloj circadiano y depende en gran medida de la intensidad lumínica del entorno por lo que evita volar bajo condiciones de alta luminosidad (Fenske *et al.* 2018). Por ello se explicaría que esta especie potencialmente más vulnerable a la contaminación lumínica, no haya sido capturada en el ambiente urbano, aunque no se puede descartar que, al aumentar el esfuerzo de captura, se la logre registrar en los ambientes urbanos también. Estudios indican que *M. sexta* responde positivamente a una mayor densidad de flores (Raguso & Willis 2002), lo que se corresponde con lo observado a campo en los ambientes rurales.

Por otro lado, en los ambientes rurales no se observaron individuos de *L. maura* lo que sugiere que esta especie sería más tolerante a la contaminación lumínica. Es posible que el esfuerzo de muestreo no haya sido suficiente como para tener registros de su actividad. En el caso de *Ca. grisescens*, se la encontró con menor frecuencia que las demás especies. Esta especie presenta una menor longitud de probóscide, de manera que el acceso a las flores es realizado desde abajo sin tocar las anteras y el estigma. En consistencia con el escaso polen transportado por los individuos capturados, esta especie es considerada polinizadora poco eficiente de *C. gilliesii* (Moré *et al.* 2006).

Las visitas registradas con la cámara filmadora demostraron que el comportamiento de los esfíngidos se caracteriza por un vuelo sostenido, en el que visitan las flores abiertas y tocan las piezas fértiles durante el libado de néctar (Cocucci *et al.* 1992). Por otro lado, los abejorros y abejas que visitaron las flores al atardecer, son considerados aquí polinizadores ocasionales ya que toman el néctar de las flores sin tocar las piezas fértiles (Cocucci *et al.* 1992).

4.3. Relaciones directas e indirectas entre la contaminación lumínica y el éxito reproductivo de *C. gilliesii*

Los modelos estructurales finales seleccionados aportaron sustento a las hipótesis de relaciones entre la contaminación lumínica y el éxito reproductivo de *C. gilliesii*. A pesar de que, indirectamente, el número de semillas no se vio afectado de manera significativa por la contaminación lumínica, se observaron efectos significativos indirectos de ésta sobre la cantidad de polen germinado, a través del polen depositado por los polinizadores. A mayores intensidades lumínicas, los estigmas recibieron menor cantidad de polen, de los cuales una menor cantidad eran compatibles.

Además, la contaminación lumínica influyó directamente de manera negativa y significativa sobre la cantidad de polen heteroespecífico depositado. Es decir que a mayor contaminación lumínica se depositó menor cantidad de polen heteroespecífico. Probablemente, tal como se explicó en las secciones previas, la mayor diversidad de otras especies de plantas esfingófilas en los ambientes rurales podría explicar el mayor depósito de polen heteroespecífico sobre los estigmas de *C. gilliesii*. Sin embargo, esto no afectó diferencialmente el éxito reproductivo en comparación con los ambientes con mayor contaminación lumínica. Como el número de óvulos por ovario de *C. gilliesii* es muy bajo y el número de granos germinados por estigma fue mayor que el número de óvulos fecundados, la cantidad de polen compatible depositado, aunque menor en los ambientes contaminados, fue suficiente para fecundar a todos los óvulos del ovario. Esto puede implicar que, en condiciones de contaminación, las semillas aunque no producidas en menor cantidad pueden tener menor calidad genética ya que provienen de una opción más restringida de padres (Escobar *et al.* 2008). La mayor proporción de granos germinados en ambientes rurales también sugiere que el polen era de mejor calidad. Es posible que los efectos benéficos de una polinización de mejor calidad impacten posteriormente a la formación de semillas en el fruto. Por lo tanto, sería necesario realizar estudios de la aptitud de la progenie para evaluar completamente el efecto de la contaminación lumínica sobre el éxito reproductivo de *C. gilliesii*.

5. Conclusiones

Tanto la diversidad como la abundancia de las especies de plantas y polinizadores que interactúan en los ecosistemas pueden verse afectadas por alteraciones del ambiente, influyendo en última instancia sobre los procesos y servicios ecosistémicos que proveen, tales como el de la polinización (Macgregor *et al.* 2015;

Valiente-Banuet *et al.* 2015). La contaminación lumínica puede producir una disrupción de las redes de polinización en comunidades nativas al afectar la intensidad de las interacciones, alterar la diversidad de las comunidades de los polinizadores, la calidad del polen transportado por los mismos y la dispersión de las semillas (Bennie *et al.* 2015; Grenis 2016; Macgregor *et al.* 2015, 2017). En este trabajo se observaron diferencias en la actividad polinizadora del gremio de esfíngidos de *C. gilliesii* entre ambientes con distinta contaminación por luces artificiales. Sin embargo, las diferencias en la cantidad de estigmas visitados y de polen depositado no se vieron reflejadas en una alteración de la producción de frutos. Posiblemente, la contaminación lumínica esté afectando la actividad de los polinizadores nocturnos, ya que se vio una relación directa entre la intensidad lumínica y la cantidad de polen xenógamo, aunque tanto en ambientes urbanos como rurales se depositó una cantidad suficiente como para fecundar los óvulos disponibles por ovario en *C. gilliesii*. También se debe considerar que la diversidad genética de las poblaciones de *C. gilliesii* posiblemente sea mayor en los ambientes rurales ya que en ambientes urbanos las plantas son generalmente cultivadas y posiblemente tengan un mismo origen genético. Por ello, habría mayor probabilidad de depósito de polen multiparental y por ende mayor aptitud de la progenie en ambientes rurales aún con igual intensidad de polinización (Escobar *et al.* 2008). En futuros estudios sería interesante determinar si en sitios con mayor contaminación lumínica que la evaluada en este trabajo hay un efecto sobre la formación de semillas, frutos y aptitud de la progenie de especies dependientes de polinizadores nocturnos para reproducirse. Asimismo, deberían tenerse en cuenta otros aspectos relacionados con la urbanización como el grado de edificación, la abundancia y diversidad de plantas y la diversidad genética de la comunidad.

Este trabajo propone un acercamiento al estudio de un tipo de interacción biológica, la polinización, relacionado a un tipo de disturbio antrópico, la contaminación lumínica. En este primer acercamiento se evidenciaron cambios en la función de la polinización con la intensidad lumínica, probablemente debidos a la incidencia de la luz artificial sobre la actividad de los polinizadores. Dado que otras especies de plantas esfingófilas de la comunidad también dependen de estos polinizadores, no puede descartarse que su éxito reproductivo sí esté siendo influenciado por la contaminación lumínica. Además, así como este gremio de polinizadores está siendo afectado por la urbanización, probablemente otros organismos y con ello otras interacciones se vean influenciadas por este disturbio. De esta manera, sería interesante profundizar este

estudio teniendo en cuenta qué efectos tiene la contaminación lumínica sobre el resto de los organismos, cómo afecta a la actividad polinizadora de otros animales, tanto diurnos como nocturnos y su interacción, con el fin de enfocar futuras estrategias de planificación y restauración de ambientes urbanizados.

6. Referencias bibliográficas

- Ashman, T.L., & Arceo Gómez, G. 2013. Toward a predictive understanding of the fitness costs of heterospecific pollen receipt and its importance in co-flowering communities. *Am. J. Bot.* 100, 1061-1070.
- Ashman, T.L., Knight, T.M., Steets, J.A., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D.R., Dudash, M.R., Johnston, M.O., Mazer, S.J., Mitchell, R.J., Morgan, M.T. & Wilson, W.G. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecol.* 85, 2408-2421.
- Ashworth, L., Aguilar, R., Galetto, L. & Aizen, M.A. 2004. Why do pollination generalist and specialist plant species show similar reproductive susceptibility to habitat fragmentation? *J. Ecol.* 92, 717-719.
- Bascompte, J., Jordano, P. & Olesen, J.M. 2006. Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Sci.* 312, 431-433.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker, S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* 67, 1-48.
- Bennie, J., Davies, T.W., Cruse, D., Inger, R. & Gaston, K.J. 2015. Cascading effects of artificial light at night: resource-mediated control of herbivores in a grassland ecosystem. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370, 20140131.
- Bennie, J., Davies, T.W., Cruse, D. & Gaston, K.J. 2016. Ecological effects of artificial light at night on wild plants. *J. Ecol.* 104, 611-620.
- Blair, R.B. 2001. Birds and butterflies along urban gradients in two ecoregions of the united states: is urbanization creating a homogeneous fauna?. En: Lockwood, J.L. & McKinney, M.L. (Eds.) *Biotic Homogenization*. Springer, Boston, MA.
- Buchmann, S.L., & Nabhan, G.P. (Eds.). 1996. *The forgotten pollinators*. Island Press, Washington DC.
- Burkart, A. 1936. Las especies argentinas y uruguayas del género *Caesalpinia*. *Rev. Arg. Agr.* 3, 67-112.
- Calviño, A. & Carrizo García, C. 2005. Sexual dimorphism and gynoeceum size variation in the andromonoecious shrub *Caesalpinia gilliesii*. *Plant. Biol.* 7, 195-202.
- Calviño, A. & Galetto, L. 2010. Variation in sexual expression in relation to plant height and local density in the andromonoecious shrub *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae). *Plant. Ecol.*

209, 37-45.

- Calviño, A. 2006. Evaluación del éxito reproductivo de *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae) en función de la densidad a distintas escalas. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Calviño, A.A., Ashworth, L. & Galetto, L. 2016. Cumulative individual seed production in the polycarpic *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae): effects of temporal variability in floral display, plant density and pollination. *The Int. J. Plant. Reprod. Biol.* 8, 115-127.
- Cinzano, P., Falchi, F. & Elvidge, C.D. 2001. The first world atlas of the artificial night sky brightness. *Mont. Not. R. Astron. Soc.* 328, 689-707.
- Cocucci, A.A.; Galetto, L. & Sérsic, A. 1992. El síndrome floral de *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae Caesalpinioideae). *Darwiniana* 31, 111-135.
- Cocucci, A.A., Moré, M. & Sérsic, A. 2009. Restricciones mecánicas en las interacciones planta-polinizador: estudios de caso en plantas polinizadas por esfingidos. En: *Ecología y evolución de interacciones planta-animal*. Medel, R., Aizen, M.A. & Zamora, R. (Eds.), pp. 43-59. Editorial Universitaria S.A., Santiago de Chile.
- Dafni, A., Kevan, P.G., Husband, B.C. (Eds.). 2005. *Practical pollination biology*. Enviroquest, Ltd., Cambridge, Ontario, Canadá.
- Denys, C. & Schmidt, H. 1998. Insect communities on experimental mugwort plots along an urban gradient. *Oecol.* 113, 269-277.
- Dodd, M.E., Silvertown, J. & Chase, M.W. 1999. Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among angiosperm families. *Evol.* 53, 732-744.
- Escobar, J.S., Nicot, A. & David, P. 2008. The different sources of variation in inbreeding depression, heterosis and outbreeding depression in a metapopulation of *Physa acuta*. *Genetics* 180, 1593-1608.
- Estévez Caride, P. 2016. Polinización en lepidópteros nocturnos. *Rev. de Biol. Uvigo* 8, 75-82.
- Fenster, C.B., Armbruster, W.S., Wilson, P., Dudash, M.R., & Thomson, J.D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35, 375-403.
- Fenske, M.P., Nguyen, L.P., Horn, E.K., Riffell, J.A., & Imaizumi, T. 2018. Circadian clocks of both plants and pollinators influence flower seeking behavior of the pollinator hawkmoth *Manduca sexta*. *Sci. Rep.* 8, 2842.
- Gaston, K.J., Avila-Jimenez, M.L. & Edmondson, J.L. 2013. Managing urban ecosystems for goods and services. *J. Appl. Ecol.* 50, 830-840.
- Grenis, K. 2016. Impact of light pollution on species interactions. *Electronic Theses and Dissertations* 1140.
- Harrison, X.A. 2014. Using observation-level random effects to model overdispersion in count data in ecology and evolution. *PeerJ* 2, e616.
- Jausoro, M. & Galetto, L. 2001. Producción de flores y frutos en una especie andromonoica:

- Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae). Kurtziana 29, 15-25.
- Johnson, S.D., Peter, C.I., Nilsson, L.A. & Ågren, J. 2003. Pollination success in a deceptive orchid is enhanced by co-occurring rewarding magnet plants. *Ecol.* 84, 2919-2927.
- Kearns, C.A., Inouye, D.W. & Waser, N.M. 1998. Endangered mutualisms: the conservation of plant- pollinator interactions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29, 83-112.
- Knop, E., Zoller, L., Ryser, R., Gerpe, C., Hörler, M. & Fontaine, C. 2017. Artificial light at night as a new threat to pollination. *Nature* 548, 206.
- Lefcheck, J.S. 2016. PiecewiseSEM: Piecewise structural equation modeling in R for ecology, evolution, and systematics. *Meth. Ecol. Evol.* 7, 573-579.
- Macgregor, C.J., Pocock, M.J., Fox, R. & Evans, D.M. 2015. Pollination by nocturnal Lepidoptera, and the effects of light pollution: a review. *Ecol. Entomol.* 40, 187-198.
- Macgregor, C.J., Evans, D.M., Fox, R. & Pocock, M.J. 2017. The dark side of street lighting: impacts on moths and evidence for the disruption of nocturnal pollen transport. *Glob. Ch. Biol.* 23, 697-707.
- Mackin-Rogalska, R., Pinowski, J., Solon, J. & Wojcik, Z. 1988. Changes in vegetation, avifauna, and small mammals in a suburban habitat. *Pol. Ecol. Stud.* 14, 293-330.
- Mayfield, M.M., Waser, N.M. & Price, M.V. 2001. Exploring the ‘most effective pollinator principle’ with complex flowers: bumblebees and *Ipomopsis aggregata*. *Ann. Bot.* 88, 591-96.
- McIntyre, N.E. 2000. Ecology of urban arthropods: A review and a call to action. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93, 825-835.
- McKinney, M.L. 2002. Urbanization, biodiversity, and conservation: the impacts of urbanization on native species are poorly studied, but educating a highly urbanized human population about these impacts can greatly improve species conservation in all ecosystems. *BioSci.* 52, 883-890.
- McKinney, M.L. 2006. Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biol. Conserv.* 127, 247-260.
- McKinney, M.L. 2008. Effects of urbanization on species richness: a review of plants and animals. *Urban Ecosyst.* 11, 161-176.
- Moré, M., Kitching, I.J., & Cocucci, A.A. (Eds.). 2005. Sphingidae: esfingidos de Argentina. L.O.L.A., Buenos Aires, Argentina.
- Moré, M., Sérsic, A.N. & Cocucci, A.A. 2006. Specialized use of pollen vectors by *Caesalpinia gilliesii*, a legume species with brush-type flowers. *Biol. J. Linn. Soc.* 88, 579-592.
- Moré, M., Kitching, I.J. & Cocucci, A.A. 2014. Lepidoptera: Sphingidae. En: Biodiversidad de Artrópodos Argentinos vol 4. Roig-Juñent, S., Claps, L.E. & Morrone, J.J. (Eds.). San Miguel de Tucumán: Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Ciencias Naturales, Tucumán, Argentina.

- Muchhala, N., & Potts, M.D. 2007. Character displacement among bat-pollinated flowers of the genus *Burmeistera*: analysis of mechanism, process and pattern. *Proc. Royal Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 274, 2731-2737.
- Nemec, S.J. 1969. Use of artificial lighting to reduce *Heliothis* spp. populations in cotton fields. *J. Econ. Entomol.* 62, 1138-1140.
- Newbold, T., Hudson, L.N., Hill, S.L.L., Contu, S., Lysenko, I., Senior, R.A., Borger, L., Bennett, D.J., Choimes, A., Collen, B., Day, J., De Palma, A., Diaz, S., Echeverria-Londono, S., Edgar, M.J., Feldman, A., Garon, M., Harrison, M.L.K., Alhusseini, T., Ingram, D.J., Itescu, Y., Kattge, J., Kemp, V., Kirkpatrick, L., Kleyer, M., Correia, D.L.P., Martin, C.D., Meiri, S., Novosolov, M., Pan, Y., Phillips, H.R.P., Purves, D.W., Robinson, A., Simpson, J., Tuck, S.L., Weiher, E., White, H.J., Ewers, R.M., Mace, G.M., Scharlemann, J.P.W. & Purvis, A. 2015. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature* 520, 45-50.
- Ollerton, J., Winfree, R. & Tarrant, S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120, 321-326.
- Parodi, L.R. 1987. Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería. Tomo 1: Descripción de las plantas cultivadas, Editorial ACME S.A.C.I., Buenos Aires, Argentina.
- Peralta, G., Fenoglio, M.S., & Salvo, A. 2011. Physical barriers and corridors in urban habitats affect colonisation and parasitism rates of a specialist leaf miner. *Ecol. Entomol.* 36, 673-679.
- Poblete Palacios, J. A., Soteras, F., & Cocucci, A. A. (2019). Mechanical fit between flower and pollinators in relation to realized precision and accuracy in the hummingbird-pollinated *Dolichandra cynanchoides*. *Biol. J. Linn. Soc.* <https://doi.org/10.1093/biolinnean/bly219>.
- R Core Team 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Raguso, R.A. & Willis, M.A. 2002. Synergy between visual and olfactory cues in nectar feeding by naïve hawkmoths, *Manduca sexta*. *Anim. Behav.* 64, 685–695.
- Sazatornil, F.D., Moré, M., Benitez-Vieyra, S., Cocucci, A.A., Kitching, I.J., Schlumpberger B.O., Oliveira, P.E., Sazima, M. & Amorim, F.W. 2016. Beyond neutral and forbidden links: morphological matches and the assembly of mutualistic hawkmoth-plant networks. *J. Anim. Ecol.* 85, 1586-94.
- Shipley, B. 2000. A new inferential test for path models based on directed acyclic graphs. *Struct. Equ. Model.* 7, 206-218.
- Sower, L.L., Shorey, H.H. & Gaston, L.K. 1970. Sex pheromones of noctuid moths. XXI. Light: dark cycle regulation and light inhibition of sex pheromone release by females of *Trichoplusia ni*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63, 1090-1092.
- Tur, C., Sáez, A., Traveset, A., & Aizen, M.A. 2016. Evaluating the effects of pollinator

mediated interactions using pollen transfer networks: evidence of widespread facilitation in south Andean plant communities. *Ecol. Lett.* 19, 576-586.

- Valiente-Banuet, A., Aizen, M.A., Alcántara, J.M., Arroyo, J., Cocucci, A., Galetti, M., García, M.B., García, D., Gómez, J.M., Jordano, P., Medel, R., Navarro, L., Obeso, J.R., Oviedo, R., Ramírez, N., Rey, P.J., Traveset, A., Verdú, M. & Zamora, R. 2015. Beyond species loss: the extinction of ecological interactions in a changing world. *Funct. Ecol.* 29, 299-307.
- van Asch, M. & Visser, M.E. 2007. Phenology of forest caterpillars and their host trees: the importance of synchrony. *Ann. Rev. Entomol.* 52, 37-55.
- van Geffen, K.G., van Grunsven, R.H.A., van Ruijven, J., Berendse, F. & Veenendaal, E.M. 2014. Artificial light at night causes diapause inhibition and sex-specific life history changes in a moth. *Ecol. Evol.* 4, 2082-2089.
- Visser, M.E. & Holleman, L.J. 2001. Warmer springs disrupt the synchrony of oak and winter moth phenology. *Proc. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 268, 289-294.
- Willmer, P. (Ed.). 2011. *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press, New Jersey, EE.UU.

Material Suplementario

Figura S1. Modelos de ecuaciones estructurales puestos a prueba en este trabajo. La contaminación lumínica está representada por la intensidad de luz medida en $\mu\text{cd}/\text{m}^2$ (paneles izquierdos) y en lux (paneles derechos): a) modelos completos, b) modelos sin número de inflorescencias y c) modelos sin número de flores abiertas. En cada caja se detalla la variabilidad explicada por cada componente del modelo (R^2) y en cada flecha el coeficiente de la interacción. Las flechas en rojo indican las relaciones que fueron estadísticamente significativas ($P < 0,05$). Para conocer los parámetros ver Tabla 2, los modelos finales seleccionados se representan en la Fig. 8.

