Ecología Austral 17:7-19. Junio 2007
Asociación Argentina de Ecología

Sección especial

Enfoques en el estudio de la reproducción sexual de las plantas en ambientes alterados: limitaciones y perspectivas

MARCELO A AIZEN ✉

Laboratorio Ecotono-CRUB, Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Río Negro, Argentina.

RESUMEN. Las interacciones planta-polinizador son susceptibles a diferentes tipos de perturbaciones de origen antrópico. Aunque se supone que las distintas actividades humanas tienen impactos disruptivos o negativos sobre estas interacciones, el signo y la magnitud de los mismos dependen de una serie de variables ambientales y atributos biológicos cuya modificación puede tener efectos de signo contrario sobre distintos componentes de estos mutualismos. En consecuencia, el impacto de las perturbaciones antrópicas sobre la polinización y éxito reproductivo de las plantas no es fácilmente predecible *a priori*, dependiendo también de la intensidad, escala espacial y frecuencia del disturbio. El enfoque empleado mayormente en esta clase de estudios es de tipo comparativo y reduccionista. Esto resulta en una falta en la comprensión de los factores mediatos e inmediatos involucrados en la respuesta reproductiva de las plantas a las perturbaciones, y a interpretaciones erróneas, o a lo sumo incompletas, asociadas a repuestas curvilíneas y a una replicación reducida. En este trabajo reviso distintos tipos de limitaciones relacionados a este enfoque y propongo uno alternativo, que si bien es de naturaleza correlativa, permite una comprensión más mecanicista y la puesta a prueba de hipótesis de causalidad. El enfoque propuesto también permite asimilar, en forma más natural, al diseño de muestreo los patrones de perturbación que usualmente se encuentran en el campo, mejor reflejados por gradientes que por clases discretas. Esta aproximación también implica una mayor integración entre las áreas de la ecología reproductiva de plantas y la del paisaje.

[Palabras clave: disturbios antrópicos, ecología del paisaje, interacciones planta-polinizador, éxito reproductivo, enfoques, modelos conceptuales, polinización]

ABSTRACT. **Approaches to the study of sexual plant reproduction in altered habitats: limitations and perspectives**: Plant-pollinator interactions are susceptible to different types of anthropogenic disturbances. Although it is assumed that different human activities can disrupt these interactions, the direction and magnitude of their consequences are mediated by a series of environmental and biological variables that may have opposite effects on different aspects of these mutualisms. Therefore, the impact of human-driven habitat alteration on pollination and plant reproductive success can not be predicted *a priori*. The sign and magnitude of this impact will also depend on disturbance intensity, spatial scale and frequency. The current approach to study disturbance effects on plant reproduction is mostly comparative and highly reductionist (e.g., seed production is compared between disturbed vs. undisturbed sites). This approach leads to a lack of understanding on the proximal factors involved in the reproductive response of plants to habitat alteration, or even to incomplete or erroneous interpretations when responses are curvilinear or there is a low level of true replication. Here I review and comment on the different types of limitations arising from this comparative approach, and propose an alternative one. The proposed approach is exemplified in a simple conceptual model that can accommodate different aspects of the disturbance itself, including scale considerations, as well as aspects of plants, pollinators, and of the pollination process. This approach, even though of a correlative nature, allows a more

✉ Laboratorio Ecotono-CRUB, Universidad Nacional del Comahue, Quintral 1250, 8400 Bariloche, Río Negro, Argentina.
marcito@crub.uncoma.edu.ar

Recibido: 15 de enero de 2007; Fin de arbitraje: 20 de marzo de 2007; Revisión recibida: 18 de abril de 2007; Aceptado: 14 de mayo de 2007

mechanistic understanding of the effects of habitat disturbance on plant pollination and reproductive success by testing different proximal variables and causal models using path analysis and structural equation modeling. Also, the proposed approach can incorporate easily the disturbance patterns found in the field, better reflected in gradients than discrete classes. Finally, I advocate a greater integration between the mostly disconnected areas of plant reproductive ecology and landscape ecology.

[Keywords: anthropogenic disturbance, landscape ecology, plant-animal interactions, plant reproductive success, conceptual models, pollination]

INTRODUCCIÓN

Las interacciones planta-polinizador son susceptibles a distintos tipos de perturbación de origen antrópico. La ruptura de este tipo de interacciones mutualistas puede comprometer la reproducción sexual de numerosas plantas, representando el primer eslabón de una cadena de eventos que puede conducir a la extinción no sólo de muchas especies vegetales sino también de otros organismos asociados a ellas (Aizen & Feinsinger 1994a,b, 2003; Bond 1994; Kearns et al. 1998; Stachowicz 2001; Traveset & Richardson 2006). Es por esta razón que el estudio de los efectos de los disturbios de origen antrópico sobre la polinización y reproducción sexual de las plantas representa un área de trabajo de relevancia, muy activa dentro de la ecología (Aguilar et al. 2006).

Numerosos trabajos realizados en las últimas dos décadas, particularmente sobre los efectos de la fragmentación de hábitat, muestran que este tipo de disturbio puede tener un fuerte impacto sobre la reproducción de las plantas. El patrón encontrado más comúnmente es el de una disminución en la producción de frutos y semillas en ambientes fragmentados (ver revisión en Aizen et al. 2002; Aguilar et al. 2006). Típicamente, este tipo de estudios compara el rendimiento reproductivo de una, o raramente más especies de plantas creciendo en ambientes caracterizados por niveles contrastantes de perturbación. Sin embargo, el enfoque reduccionista (i.e., de simplificación excesiva) que caracteriza la gran mayoría de estos trabajos no permite una comprensión de las causas próximas de esta disminución. Esta clase de enfoque tampoco favorece el desarrollo de nuestra capacidad de predecir cómo el éxito reproductivo de una especie particular respondería a una dada perturbación del hábitat, caracterizada no sólo por una intensidad y frecuencia determinadas sino también por una configuración espacial específica.

La respuesta reproductiva de las plantas a distintos tipos de perturbaciones ambientales se espera que varíe con una multitud de factores intrínsicos y extrínsecos. Dos trabajos recientes exploran si el grado de dependencia y especialización de las plantas en los polinizadores pueden modular esta respuesta (Aizen et al. 2002, Aguilar et al. 2006). En particular, el meta-análisis desarrollado por Aguilar et al. (2006) muestra que las plantas auto-incompatibles (i.e., altamente dependientes de polinizadores) exhiben mayores decrecimientos en la producción de semillas que las autocompatibles (i.e., menos dependientes de los polinizadores). Por otro lado, la especialización no parece determinar una respuesta reproductiva diferencial a la fragmentación del hábitat (Aizen et al. 2002, Aguilar et al. 2006). Este último resultado podría ser explicado por el hecho que las pocas especies de polinizadores que interactúan con las plantas especialistas tienden a ser a su vez generalistas (i.e., interactúan con un alto número de especies de plantas), lo que le confiere a las plantas especialistas y generalistas una resiliencia similar a las perturbaciones de hábitat (Ashworth et al. 2004). Sin embargo, existe una gran heterogeneidad en las respuestas reproductivas entre las especies de plantas dentro de cualquiera de estas categorías de dependencia o especialización (Aguilar et al. 2006). Esto indica que otros factores deben ser invocados para explicar esta variación.

Un segundo punto a explorar está relacionado al signo mismo de los efectos. La mayoría de los trabajos sobre este tema pone a prueba

la hipótesis de que una perturbación de origen antrópico tiene un efecto disruptivo (i.e., de ruptura) sobre las interacciones planta-animal, con lo cual tanto los niveles de polinización como de éxito reproductivo de las plantas disminuirían en ambientes alterados. La evidencia empírica acumulada, particularmente en relación a la fragmentación de hábitat, muestra que la reproducción de la mayoría las especies se ve afectada negativamente tanto a nivel local como global. Sin embargo, un buen número de especies no exhibe ningún efecto aparente e incluso la reproducción de algunas puede verse favorecida por este tipo de perturbación (Aizen & Feinsinger 1994a; Renner 1998; Aizen et al. 2002; Aguilar et al 2006). Una aproximación más mecanicista no sólo permitiría modelar el signo de estos efectos, sino también entender que estas respuestas pueden ser claramente no lineales.

Finalmente, la gran mayoría de los estudios sobre los efectos de perturbación de hábitat es de índole comparativa más que correlativa. Como se indicó más arriba, existen numerosos trabajos que comparan el éxito reproductivo de plantas en sitios con niveles de perturbación bajo vs. alto (e.g. Jennersten 1988; Aizen & Feinsinger 1994a; Ne'eman et al. 2000; Ghazoul & McLeish 2001; Mayer 2004). Sin embargo, la clasificación de distintas situaciones de perturbación, que en realidad representan puntos a lo largo de un gradiente de variación, en dos o pocas categorías discretas no sólo conlleva una pérdida de información y eventualmente de potencia estadística, sino que también puede conducirnos a interpretaciones erróneas sobre un proceso que es de naturaleza multifactorial (Cottingham et al. 2005).

En esta contribución exploro tres de las limitaciones asociadas al reduccionismo y enfoque comparativo que caracterizan la mayoría de los estudios de los efectos de perturbación de hábitat sobre la reproducción de la plantas. Las mismas incluyen: (1) una falta en la compresión de los factores mediatos e inmediatos involucrados en mediar la respuesta reproductiva de las plantas a las perturbaciones, (2) el supuesto generalmente aceptado que los efectos de las perturbaciones antrópicas son unidireccionales y de índole negativa, e (3) interpretaciones erróneas, o a lo sumo incompletas, asociadas a repuestas curvilíneas y falta de verdadera replicación. En este trabajo proveo algunas sugerencias y perspectivas que pueden contribuir a circunscribir estas limitaciones.

LIMITACIONES

Limitación 1: la no consideración de factores abióticos y bióticos

Un disturbio, ya sea de origen antrópico o natural, nunca afecta directamente el éxito reproductivo de las especies vegetales remanentes. Por el contrario, la alteración del hábitat desencadena una serie de cambios en un sinnúmero de variables físicas y biológicas. Estos cambios determinan tanto la intensidad y frecuencia de las interacciones planta-polinizador así como los patrones de flujo de polen, afectando de esta forma tanto la cantidad como calidad de las semillas producidas (Aizen & Vázquez 2006; Kremen et al. 2007). Sin embargo, a pesar del valor empírico de los estudios publicados hasta el momento, la mayoría de éstos proveen información limitada sobre los mecanismos involucrados debido a los enfoques mayormente reduccionistas que los caracterizan (ver revisión en Aguilar et al. 2006).

Estos enfoques pueden ser representados por distintos modelos conceptuales esquematizados en la Figura 1. El modelo A representa la forma más extrema de reduccionismo en el estudio de los efectos de la alteración de hábitat sobre las interacciones planta-polinizador. Los trabajos que pueden encasillarse dentro de este modelo tienen como objetivo comparar la producción de frutos y/o semillas de una o más especies creciendo en sitios que difieren en la ocurrencia, intensidad, o frecuencia de algún tipo de disturbio (e.g., fragmentación de hábitat, presencia y/o carga de ganado, ocurrencia de fuego, etc). También pueden incluirse en esta categoría estudios donde el "disturbio" es simulado por el investigador en parcelas experimentales, o estudios que incluyen una dimensión temporal, considerando la evaluación del éxito reproductivo de las plantas antes y después de la ocurrencia de una

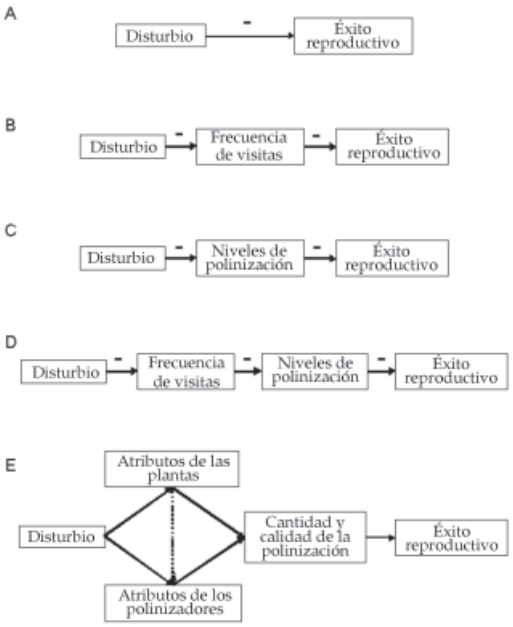

Figura 1. Modelos conceptuales de complejidad creciente que representan enfoques alternativos en el estudio de los efectos de las perturbaciones de hábitat sobre el éxito reproductivo de las plantas. Las flechas indican la dirección del efecto y los signos negativos en los modelos A-D representan la tendencia del efecto supuesto entre los factores indicados dentro de las casillas. El modelo E provee una plantilla que permite la formulación de hipótesis más mecanicistas. En este modelo algunos de los efectos de un disturbio sobre los atributos del ensamble de polinizadores pueden estar mediados por los cambios en los atributos de las plantas (flecha punteada).

Figure 1. Conceptual models of increasing complexity representing alternative approaches to the study of disturbance effects on plant reproductive success. Arrows indicate the direction of the effect and the negative symbols in models A-D the trend of the proposed effect. Model E provides a template that allows the formulation of more mechanistic hypotheses. In this latter model, disturbance effects on pollinator attributes can be mediated by changes in plant attributes (dotted line).

alteración ambiental (e.g., Lamont & Runciman 1993; Canales et al. 1994). Sea cual sea el diseño experimental o de muestreo utilizado, la sola evaluación del éxito reproductivo no permite atribuir ningún cambio detectado en la producción de frutos o semillas a una modificación de la interacción planta-polinizador o algún otro factor. Por ejemplo, una disminución en la producción de semillas en plantas de una especie determinada aisladas en fragmentos de bosque vs. bosque continuo podría deberse tanto a un decrecimiento en la frecuencia de visitas de su polinizador más eficiente, como a una mayor limitación de recursos causado por cambios en factores abióticos (e.g., un mayor déficit hídrico) o bióticos (e.g., mayores tasas de herbivoría). Los estudios que se ajustan a este modelo no permiten determinar la causalidad de estos cambios, más allá de establecer una asociación con la ocurrencia de un disturbio.

La medición de alguna variable relacionada con el mutualismo de polinización representa una mejora sustancial en nuestra capacidad de inferir el origen de un cambio en el éxito reproductivo. Dentro de esta aproximación, se incluye un gran número de estudios que estiman no sólo la producción de frutos y/o semillas sino también la frecuencia de visitas de polinizadores eficientes (e.g., Jennersten 1988; Walters & Stiles 1996) o niveles de polinización por conteo de granos depositados en el estigma o tubos polínicos en el estilo en sitios caracterizados por niveles de disturbio contrastantes (e.g., Aizen & Feinsinger 1994a). Estos estudios se ajustan a los marcos conceptuales provistos por los modelos B y C (Fig. 1), y en consecuencia constituyen pruebas más contundentes a favor o en contra de la hipótesis de disrupción del mutualismo de polinización debido a la alteración del hábitat. En este caso, es claro que una disminución de la producción de semillas en un sitio disturbado debería estar acompañada por una disminución en la tasa de visitas de los polinizadores a las flores o por una disminución en la cantidad del polen depositado. Sin embargo, tanto la frecuencia de visitas, la deposición de polen, como la producción de semillas pueden verse afectadas por cambios en la disponibilidad de recursos que usualmente se modifica con la ocurrencia de un disturbio (e.g., Menges 1995). Por ejemplo, un mayor déficit hídrico relacionado a una mayor insolación en sitios disturbados puede tener un efecto directo sobre el éxito reproductivo de una planta y también en la producción de recompensas (e.g., néctar) que puede determinar la tasa de visitas de poli-

nizadores y la deposición de polen. En este caso, la interpretación que el cambio observado en la producción de semillas se debe a una disrupción de la interacción entre la planta y sus polinizadores no sería correcta. La incorporación de dos o más variables relacionadas al mutualismo de polinización (modelo D, Figura 1) nos permite una compresión más profunda de cómo este proceso puede verse modificado por la alteración del hábitat, obteniendo información más desagregada para poner a prueba la hipótesis de disrupción. Sin embargo, estudios más completos que siguen este modelo conceptual (e.g., Aizen & Feinsinger 1994a,b) adolecen de los mismos problemas de interpretación que aquellos que se enmarcan en los modelos conceptuales más simples (A-C), debido a que los cambios en la disponibilidad de recursos asociados al disturbio pueden afectar independientemente a distintos eventos pre- y post-zigóticos (Aizen & Vázquez 2006).

Los experimentos de adición de polen proveen información suplementaria de gran relevancia. Los mismos involucran la saturación de los estigmas de parte o todas las flores expuestas a los polinizadores de un determinado individuo con polen alógamo (i.e., procedente de plantas distintas a la planta focal; Ashman et al. 2004; Knight et al. 2005). Un déficit en la producción de frutos y/o semillas entre aquellas flores que sólo recibieron visitas de polinizadores y aquellas que además fueron polinizadas manualmente es considerado prueba de una limitación reproductiva por falta de una adecuada polinización. En consecuencia, se espera que este déficit reproductivo aumente a medida que un determinado disturbio incrementa su intensidad o su frecuencia (e.g., Ågren 1996). Sin embargo, estos experimentos de adición no sólo involucran un aumento de la cantidad de polen que las flores reciben naturalmente, sino también un incremento de la calidad del mismo ya que el polen depositado manualmente proviene exclusivamente de otros individuos. A pesar de su uso extendido, este protocolo es incapaz de estimar la magnitud total de la limitación polínica, y tampoco de distinguir entre sus componentes cuanti y cualitativos (Aizen & Harder 2007). En el contexto de un estudio de los efectos de la alteración de hábitat, esto es importante ya que los disturbios pueden modificar la configuración espacial y estructura genética de las poblaciones de plantas afectando los flujos de polen y la calidad de la polinización, independientemente de cualquier efecto sobre las interacciones planta-polinizador (Nason & Hamrick 1997). Aizen & Harder (2007) proponen un nuevo protocolo basado en la (1) descripción de curvas dosis-respuesta entre el polen recibido y las semillas producidas en condiciones naturales, y (2) estimación de cuantas semillas producen las flores cuando reciben experimentalmente una cantidad ilimitada de polen alógamo solamente. Este protocolo no sólo permite estimar la limitación total, sino también los componentes de cantidad y calidad. Su aplicación en estudios futuros sobre los efectos de alteración de hábitat (e.g., fragmentación, tala selectiva, incendios, etc.) sería novedosa y reveladora.

Una aproximación más mecanicista requiere considerar distintos aspectos, tanto abióticos como bióticos, que pueden ser modificados por la alteración del hábitat. Esta aproximación está ejemplificada en forma esquemática en el modelo conceptual E (Figura 1; ver también Aizen & Vázquez 2006). De acuerdo al mismo, los disturbios modificarían una serie de atributos de las plantas y de los polinizadores ya sea en forma directa (e.g., remoción de biomasa) o a través de una serie de variables ambientales (e.g., insolación, disponibilidad de agua y nutrientes, etc). En el caso de las plantas, estos atributos pueden ser de índole individual (e.g., producción de flores, tasa de secreción de néctar), poblacional (e.g., densidad absoluta y relativa), o comunitaria (e.g., diversidad y composición del ensamble floral). En el caso de los polinizadores, estos atributos no sólo incluyen la abundancia de los mismos, que determinaría al menos en parte la frecuencia de visitas, sino también la composición y diversidad de los visitantes florales, que determinarían distintos aspectos cuanti y cualitativos de la eficiencia en la transferencia de polen. Todos estos rasgos del ensamble de polinizadores pueden verse modificados por un disturbio en forma directa, o a través de los cambios producidos tanto en la especie de planta focal como en el resto de la comunidad

vegetal. Por ejemplo, si un disturbio modifica la disponibilidad de néctar y polen esto seguramente afectará la frecuencia con que las flores son visitadas, así como la diversidad y la identidad de los visitantes florales. Esta vía indirecta ha sido señalada con una línea punteada (modelo E; Figura 1).

Distintos atributos de las plantas y sus polinizadores pueden afectar tanto la cantidad como la calidad del polen transferido. Por ejemplo, una especie de planta que florece masivamente a raíz de un disturbio podría atraer una gran cantidad de polinizadores (Westphal et al. 2003), lo que eventualmente podría incrementar las tasas de visita, y la cantidad del polen transferido a los estigmas (Vázquez et al. 2005). Sin embargo, también traería aparejado un aumento en el número de visitas a flores de una misma planta por parte de un mismo visitante y, en consecuencia, un incremento en la transferencia del polen propio (Harder & Barrett 1995). La deposición de este polen "geitonógamo" podría conducir a un incremento en el aborto de semillas en especies autocompatibles por expresión temprana de la depresión por endogamia, o a una disminución en la deposición y desempeño del polen alógamo en especies auto-incompatibles (Husband & Schemske 1996). En el caso de los polinizadores, si bien los cambios en la abundancia de los mismos tienen una relación directa con la frecuencia de visitas y los niveles de remoción y deposición de polen, modificaciones en la riqueza y composición del ensamble de visitantes también pueden afectar la eficacia por visita promedio y distintos rasgos de la calidad de la polinización (i.e., pureza, procedencia, y diversidad genética de las cargas de polen depositadas; ver Aizen & Vázquez 2006). La compresión de los efectos de una perturbación antrópica sobre el éxito reproductivo implica la detección de los factores más importantes que afectan tanto la cantidad y calidad de la polinización.

Limitación 2: el supuesto del efecto negativo de la perturbación

Los disturbios de origen antrópico no se diferencian cualitativamente de los de origen natural, pero sí cuantitativamente por su mayor magnitud, frecuencia y/o intensidad (Sousa 1984; Short & Wyllie-Echeverria 1996). Es por esa razón que a los disturbios originados por el hombre se les atribuye un efecto disruptivo sobre las interacciones planta-polinizador (Kearns et al. 1998). Sin embargo, así como existen disturbios naturales catastróficos (e.g., incendios extensivos, avalanchas, disturbios asociados a fenómenos de vulcanismo, etc.), también existen perturbaciones humanas de bajo impacto (e.g., tala selectiva, agricultura trashumante). Es importante tener en cuenta que la severidad de un disturbio debe referirse a cómo el mismo es percibido por el organismo o los organismos foco de nuestro estudio (Feinsinger 2004). Por ejemplo, un incendio de baja intensidad puede ser severo desde la perspectiva de una hierba anual, pero no desde la de un árbol longevo tolerante al fuego. Por todas estas razones, el sentido negativo de los efectos de las perturbaciones antrópicas sobre el éxito reproductivo no puede sustentarse como una hipótesis general, sino que el signo y magnitud de este efecto va a depender de una combinación de factores que incluyen tanto las características del disturbio (i.e., tipo, frecuencia, intensidad, escala espacial) como las biológicas de las especies involucradas (Aizen & Vázquez 2006).

La respuesta reproductiva de una planta a una perturbación puede ser tanto negativa, neutra, como positiva. La Figura 2 presenta un modelo general en donde la relación entre disturbio y éxito reproductivo es representada por una curva en forma de campana invertida. En este modelo la producción de semillas es máxima a un nivel intermedio de frecuencia y/o intensidad de disturbio. El mismo es análogo al propuesto por la hipótesis del disturbio intermedio que considera la diversidad comunitaria como variable respuesta (Huston 1979), en lugar de un atributo individual como es el caso de la Figura 2. Por ejemplo, un disturbio que favorezca la producción de atractivos y recompensas florales podría incrementar la producción de semillas a través de un aumento en la frecuencia de visitas (parte ascendente de la curva). Esto ocurriría hasta un punto en que la disponibilidad de polinizadores comienza a declinar como consecuencia de un incremento en la alteración del hábitat (parte

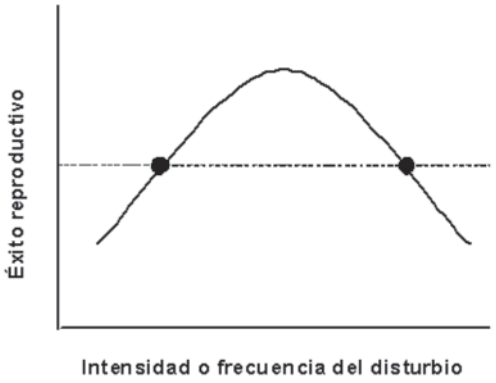

Figura 2. Respuesta, en forma de campana invertida, del éxito reproductivo de una especie de planta en función de la intensidad o frecuencia de un disturbio. En este caso un mismo éxito reproductivo (señalado por la línea de trazo interrumpido) puede alcanzarse a dos distintos niveles de intensidad o frecuencia de un disturbio (señalados con los puntos rellenos).

Figure 2. Bell-shaped response of plant reproductive success to either disturbance intensity or frequency. In this example, a same reproductive level (indicated by the dashed line) can be achieved at two different levels of disturbance (indicated by the filled dots).

descendente de la curva; ver también Feinsinger 1997). En el caso de especies de plantas o de polinizadores sumamente sensibles a las perturbaciones, el disturbio aún más leve podría tener un efecto negativo sobre la producción de semillas. En consecuencia, nos encontraríamos con una situación de decrecimiento reproductivo continuo a medida que el disturbio se intensifica o se vuelve más frecuente. Por el contrario, una especie tolerante a las perturbaciones, o cuya reproducción se ve altamente favorecida por los disturbios, no mostraría ningún decrecimiento reproductivo.

La adopción de una visión mecanicista también alerta en contra de asumir *a priori* un efecto disruptivo de los disturbios de origen antrópico sobre las interacciones planta-polinizador. Una exploración del modelo E (Figura 1) realizada por Aizen & Vázquez (2006) a partir de una serie de matrices cualitativas, cada una asociada a una de las flechas de líneas enteras de este modelo conceptual, apoya este punto de vista. En las dos primeras matrices estos autores relacionaron, en las filas, distintos tipos de disturbios (i.e., fragmentación de hábitat, fuego, cosecha selectiva, herbívoros introducidos, plantas introducidas, contaminación química) con, en las columnas, diferentes atributos de las plantas y los polinizadores que usualmente afectan a la polinización. En el caso de las plantas, los atributos considerados fueron de un nivel individual ("display" floral, morfología floral, fisiología floral, recompensas, y fenología floral), poblacional (tamaño, densidad, y densidad relativa), y comunitario (diversidad y composición). Los atributos de los polinizadores incluidos fueron su abundancia, diversidad y composición. En otras dos matrices se relacionaron los atributos de las plantas y de los polinizadores aquí mencionados, en las filas, con tres atributos que caracterizan las cargas polínicas depositadas en los estigmas, en las columnas. Los atributos polínicos considerados fueron la cantidad de polen depositado, la calidad del mismo, y su pureza (i.e., porcentaje de polen heteroespecífico). Por último, en una quinta matriz se relacionaron estos tres atributos de la polinización con dos aspectos de la producción semillas, su cantidad y calidad, que sintetizan el éxito reproductivo de una planta.

A cada celda de estas matrices se le asignó un símbolo que indica el efecto más comúnmente asumido de cada uno de los factores o atributos de una fila sobre cada uno de los factores o atributos de las filas. Estos símbolos fueron: ↑, para una relación positiva (e.g., se espera que un incendio incremente el "display" floral de las plantas remanentes debido a un incremento de la incidencia lumínica y liberación de nutrientes); ↓, para una relación negativa (e.g., la fragmentación de hábitat tiene como efecto inmediato un decrecimiento del tamaño poblacional de las especies vegetales remanentes); ↑↓, para una relación que puede ser tanto positiva como negativa, incluyendo respuestas de tipo cuadrática (e.g., un incremento de la densidad poblacional podría aumentar la cantidad de polen depositado en los estigmas a través de un incremento de los polinizadores, pero a partir de cierto nivel podría decrecer si la disponibilidad de polinizadores se convierte en un factor limitante); 0,

para una relación neutral donde ningún cambio es esperado; Δ, para un cambio que carece de una direccionalidad en términos de un aumento o disminución (e.g., fenología floral) o involucra múltiples dimensiones (e.g., composición de especies); y ?, para una relación causal donde la tendencia esperada de cambio es incierta, a pesar de un efecto supuesto (e.g., la invasión de especies podría cambiar tanto la cantidad como la calidad de las recompensas florales a través de un cambio en el status nutricional de las plantas nativas focales; sin embargo, no existe ninguna evidencia al respecto).

La Figura 3 resume las frecuencias de ocurrencia de distintos tipos cambios estimadas a partir de la información provista por un total de 123 celdas (ver matrices originales en Aizen & Vázquez 2006). Si bien los cambios unidireccionales son los más frecuentes, una alta proporción de los efectos predichos son bidireccionales (>25%). También llama la atención que no contamos con hipótesis ni predicciones claras (designadas con el símbolo "?") para una buena proporción de los efectos (>10%). Como se detalla en Aizen & Vázquez (2006), el estudio de estos efectos individuales provee oportunidades para el desarrollo de proyectos originales de relevancia tanto conceptual como aplicada. Por ejemplo, tenemos un desconocimiento casi total sobre cuál es el efecto, si alguno, de los disturbios sobre la morfología floral, incluyendo tamaño, simetría, color, etc. En un contexto más mecanicista y más allá de una tendencia negativa general (Aguilar et al. 2006), la existencia de estos efectos bidireccionales o de naturaleza incierta y la multiplicidad de factores que varían con la alteración del hábitat tienen como consecuencia que los impactos de las perturbaciones de origen antrópico sobre el éxito reproductivo no sean fácilmente predecibles.

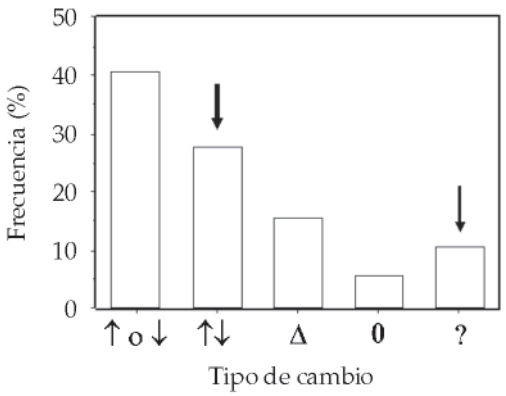

Figura 3. Histograma que muestra el porcentaje de distintos tipos de cambios causa-efecto entre 123 pares de variables. Esta figura resume la información contenida en cinco matrices cualitativas, cada una asociada a una de las flechas de líneas enteras de este modelo conceptual E (Figura 1) (detalles en Aizen &Vázquez 2006). El símbolo ↑ o ↓ representa un cambio unidireccional, ya sea positivo o negativo; ↑↓, una relación que puede ser tanto positiva como negativa, incluyendo respuestas de tipo cuadráticas; 0, una relación neutral donde ningún cambio es esperado; Δ, un cambio que carece de una direccionalidad en términos de un aumento o disminución; y ?, una relación causal donde la dirección esperada de cambio es incierta. Las flechas resaltan las frecuencias esperadas para los tipos de cambios bidireccionales e inciertos.

Figure 3. Histogram showing the percent of different types of cause-effect changes assessed from 123 pairs of variables. This figure summarizes the information contained in five different qualitative matrices, each one associated with one of the five solid arrows of conceptual model E (Figura 1) (details in Aizen &Vázquez 2006). The symbol ↑o ↓ represents an unidirectional change, positive or negative; ↑↓, a relation between two variables that can vary either way, including quadratic-type responses; 0, a neuter relation where no change is expected; Δ, a change that lacks a directionality; and ?, an uncertain causal relation. The solid arrows highlight the expected frequencies of the bidirectional and uncertain change types.

Limitación 3: la no consideración del disturbio como un gradiente y la falta de replicación

La mayoría de los estudios que evalúan los efectos de distintos tipos de alteración de hábitat sobre el éxito reproductivo de las plantas usualmente comparan situaciones que representan los extremos de un gradiente de disturbio. La Figura 2 ilustra el peligro de contrastar dos o pocos niveles de un tipo de perturbación particular cuyas propiedades (e.g., frecuencia e intensidad) varían en forma continua. En este ejemplo, la respuesta reproductiva de una determinada especie de planta a lo largo de un gradiente de disturbio está repre-

sentada por una campana invertida. En este caso, el investigador compara la producción de semillas en una serie de sitios muy perturbados (e.g., con alta carga de ganado) vs. poco perturbados (e.g., con muy baja carga de ganado), calcula el promedio de esta variable por planta, por flor, o por fruto para cada tipo de hábitat, obteniendo el resultado que indican los puntos de la Figura 2. La aplicación de una prueba estadística (e.g., un test *t*), le indica que no existen diferencias significativas; de hecho los dos promedios obtenidos son prácticamente iguales. A partir de estos resultados, ¿es lícito concluir que no existe ningún efecto del ganado sobre el éxito reproductivo de la especie estudiada? Claramente no, ya que la producción de semillas de las plantas de la especie focal sí varía con la intensidad disturbio, exhibiendo un máximo, en este ejemplo, a niveles intermedios de carga de ganado. De hecho cualquier comparación entre dos o pocos puntos, o datos agrupados en dos o pocas clases, para una especie que exhibe una respuesta al disturbio como la de la Figura 2 podría resultar en la conclusión, errónea o parcial en todos los casos, que la respuesta reproductiva al disturbio es neutra, negativa, e incluso positiva. Esto se debe a que un diseño de tipo comparativo no es capaz de capturar este tipo de variación curvilínea. Un problema similar surge cuando la respuesta reproductiva a un disturbio se ajusta a cualquier tipo de función donde a partir de cierto nivel de disturbio la producción de semillas es invariante. En este caso se detectaría una ausencia de efecto si las situaciones de disturbio comparadas se encuentran en la parte constante de la curva. El mismo efecto se produciría cuando las situaciones comparadas se encuentran comprendidas en un rango estrecho del gradiente de disturbio, y en consecuencia las diferencias en los valores de las variables respuestas son pequeñas.

Otro problema relacionado, es que la mayoría de los disturbios ocurren a la escala de paisaje y, en consecuencia, los estudios sobre sus efectos biológicos, incluyendo la polinización y el éxito reproductivo de las plantas, carecen de una adecuada replicación o en muchos casos de una verdadera replicación (i.e, "pseudo replicación", sensu Hurberlt 1984). En particular, esta falta de verdadera replicación (e.g., cuando se consideran las plantas y no los sitios muestreados como las unidades experimentales) puede llevarnos a conclusiones erróneas. Por ejemplo, si comparamos la producción de semillas de 10 plantas de una especie X en un sitio de bosque con cierto nivel de tala y otras 10 plantas de la misma especie en un sitio de bosque sin tala, podríamos encontrar que las plantas en el sitio intervenido producen menos semillas que en el no intervenido ¿Como deberíamos interpretar este resultado? Una interpretación posible, relacionada a la hipótesis que motivó este estudio, es que esta diferencia se debe a la alteración del hábitat provocada por la tala y su efecto disruptivo sobre las interacciones planta-polinizador. Sin embargo, una alternativa es que las plantas en el sitio de bosque sin tala producen más semillas simplemente por características particulares del sitio (e.g., más nutrientes, humedad, etc.) o de las plantas de ese sitio (e.g., un mayor grado de heterosis) no relacionadas a la intervención humana. Por más pequeñas que sean las diferencias, dos sitios nunca son exactamente iguales y un diseño pseudo replicado no permite discriminar, en este caso, qué porcentaje de estas diferencias puede atribuirse al efecto del disturbio, o a características propias de los sitios o los organismos que ocurren en ellos (Hurberlt 1984).

El origen de la baja replicación, o de la pseudoreplicación, está relacionado con varios factores logísticos no mutuamente excluyentes, entre los que se incluyen la falta de recursos económicos, limitaciones del tiempo de muestreo y de personal disponible. Sin embargo, en muchos casos la razón principal es que el diseño propuesto no se ajusta a la forma en que el ser humano impone un determinado tipo de disturbio sobre el paisaje (Hargrove & Pickering 1992). Por ejemplo, un investigador interesado en desarrollar un proyecto sobre el efecto de la fragmentación de bosques en la polinización y reproducción de la especie X se encuentra en el campo con un paisaje de fragmentos boscosos que difieren en tamaño, forma, grado de aislamiento (incluyendo fragmentos unidos a otros por corredores de hábitat) y alteración, y que se encuentran rodeados por distintos tipos de matrices (e.g., pasturas, campos de agricultura, vegetación secundaria

con distinto grado de recuperación, etc.). A pesar de esta diversidad de situaciones, el investigador ha planeado restringir su investigación a fragmentos de un rango de tamaño determinado, aislados de otros denominados como "bosque continuo" (también definidos arbitrariamente por un área mínima, ya que ningún bosque es infinitamente continuo) por un determinada distancia mínima, y rodeados por un tipo de matriz específica. Esto claramente restringe el número de sitios disponibles para el proyecto. Sea cual sea el tipo de disturbio, la búsqueda de sitios que reúnan una serie de características específicas en un paisaje que es altamente heterogéneo puede resultar en la baja replicación de la que adolecen muchos de los estudios sobre este tema (ver Aguilar et al. 2006).

Por último, un estudio que compara dos o pocos niveles de intensidad o frecuencia de un disturbio determinado tiene otra desventaja fundamental: el investigador no está evaluando los efectos de un tipo de perturbación de hábitat específico en el contexto de los paisajes heterogéneos del mundo real, sino en abstracciones o submuestras sesgadas de los mismos. En estos paisajes, las características de los disturbios varían en forma relativamente continua y las mismas pueden sintetizarse más fielmente en uno o más gradientes, que en una, dos o pocas categorías (ver también Cottingham et al. 2005).

PERSPECTIVAS

Los distintos tipos de limitaciones discutidos en las secciones anteriores pueden circunscribirse por medio de un diseño que incorpore información sobre distintos atributos biológicos relevantes de las especies involucradas y características del disturbio y/o del paisaje (Burel & Baudry 2003). Este diseño involucra la selección de una serie de variables que el investigador propone como causas próximas de los efectos propuestos como hipótesis. Estas variables pueden acomodarse dentro del esquema conceptual provisto por el modelo E (Figura 1), u otros más complejos (Kremen et al. 2007). Un ejemplo específico es provisto por Aizen & Vázquez (2006). En base a un trabajo de Vázquez & Simberloff (2004), estos autores propusieron como hipótesis que la herbivoría por ungulados introducidos, cuya intensidad fue caracterizada por un índice de ramoneo, afecta la polinización y el éxito reproductivo de una hierba característica del bosque templado de Sudamérica Austral, *Alstroemeria aurea*, a través de cambios en su densidad absoluta y relativa. Las variables consideradas, además de la intensidad del disturbio, fueron la densidad absoluta y relativa de la planta focal, los atributos más directamente afectados por este tipo de disturbio, la frecuencia de visitas, el depósito tanto de polen con-específico como hetero-específico, y la producción de frutos y semillas por fruto. En un segundo paso, estos autores propusieron un modelo específico de cómo estas variables estaban relacionadas. Este modelo constituye una hipótesis de trabajo, que puede ponerse a prueba utilizando las técnicas del análisis de caminos ("path analysis") y de modelado por medio de ecuaciones estructurales (SEM por "Structural Equation Modelling"). Estos métodos no sólo permiten establecer cuán adecuado es el ajuste de un modelo determinado a un grupo de datos recolectados en el campo, sino también discriminar entre modelos alternativos (Shipley 2000; Mitchell 2001). Las distintas hipótesis específicas de causalidad que conforman el modelo propuesto (i.e., relaciones entre pares de especies) pueden ser también verificadas, ya sea en el campo o en el laboratorio, por medio de experimentos manipulativos (e.g., Townsend & Levey 2005). Sin embargo, este tipo de evidencia debe ser considerada como complementaria, y no sustitutiva, a la provista por la aproximación correlativa propuesta ya que usualmente estos experimentos se realizan a escalas espaciales y temporales pequeñas (ver Oksanen 2001), además de incluir en muchos casos efec-tos colaterales no deseados (Hurberlt 1984, Huston 1997).

Al considerar un disturbio como una variable continua, o de naturaleza multivariada, no sólo se puede incluir en el análisis el contexto paisajístico en el que ocurre ese disturbio, sino también la escala espacial en que el efecto de un disturbio es más potente. Por ejemplo, en el paisaje altamente modificado del centro de Europa Steffan-Dewenter et al. (2002) estudiaron como el porcentaje de hábitat semi-

natural remanente y la diversidad de distintos tipos de hábitat, en áreas circulares concéntricas de radio creciente (de 250 a 3000 m), afectaban la abundancia y diversidad de distintos gremios de polinizadores. Este trabajo combinó información obtenida a partir de un Sistema de Información Geográfico con datos sobre la abundancia y composición del ensamble de abejas obtenidos a partir de muestreos estandarizados en 15 sitios distintos. Si bien los resultados obtenidos indicaron un efecto positivo general de la proporción de hábitat semi-natural, la respuesta de los distintos gremios de abejas fue dependiente de la escala (más local para las abejas solitarias, que para *Apis mellifera*). Siguiendo la línea de este ejemplo, el investigador podría evaluar en forma conjunta con la dependencia de la escala, los efectos de diferentes aspectos de un disturbio (e.g., intensidad, frecuencia, porcentaje de área afectada, etc.) o la interacción entre dos tipos de disturbio distintos (e.g., herbivoría y fragmentación) que varían a lo largo y ancho de un paisaje.

Un enfoque correlativo, pero de naturaleza mecanicista, como el propuesto, también permite comprender respuestas de distinto signo incluyendo las de tipo cuadrática. Por ejemplo, una relación como la graficada en la Figura 2, entre el disturbio y el éxito reproductivo, podría resultar de la acción de dos factores que afectan una tercer variable, pero con signos opuestos. También, aquellos factores que influyen directamente sobre una tercer variable en forma no-lineal pueden modelarse incorporando términos cuadráticos o polinomiales de grado mayor. Sin embargo, existe un nivel mínimo de replicación requerida para que un modelo pueda ponerse a prueba y ser comparado con otros modelos alternativos, el que claramente se incrementa con el número de variables, y términos de las mismas, incluidos en el modelo (ver Shipley 2000). De todas formas, este problema se soluciona ya sea incrementando el número de sitios muestreados y/o simplificando el modelo. Bajo este enfoque, una mayor replicación puede alcanzarse en forma relativamente sencilla, ya que el investigador no está restringido a relevar sitios con características tan específicas como en el caso de aplicar un enfoque comparativo.

A pesar de las ventajas que presenta un enfoque más mecanicista como el propuesto, el que permite incluir no sólo información de variables causales sino también evaluar la escala espacial en que las mismas están actuando, éste ha sido raramente aplicado. Posiblemente, esto se deba, al menos en parte, a los caminos separados que han seguido la ecología de la polinización y la del paisaje. Durante los últimos 30 años ha existido un énfasis en entender los mecanismos ecológicos que subyacen la reproducción de las plantas, incluyendo las transferencia de polen y los distintos eventos postpolínicos que conducen a la formación de semillas y frutos (Harder & Barrett 2006). Sin embargo, esta perspectiva mecanicista se ha perdido cuando los estudios sobre la ecología reproductiva han involucrado la escala del paisaje (pero ver Kremen et al. 2004). Dada la importancia que tienen estos trabajos en el contexto de la así llamada crisis de la polinización (Kearns et al. 1998; Wilcock & Neiland 2002; Biesmeijer et al. 2006), esta integración de áreas es una necesidad práctica y urgente.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a N. Chacoff y a C. Morales por su invitación a participar del simposio que originó esta sección especial y esta contribución inspirada en esa presentación. Este trabajo representa el producto de un intercambio de ideas con varios colegas y amigos a lo largo de los años incluyendo a las organizadoras, R. Aguilar, P. Feinsinger, L. Galetto, L. Harder, y D. Vázquez. Agradezco los comentarios de C. Morales, A. Traveset y un evaluador anónimo que han ayudado a mejorar una versión anterior del presente trabajo. El autor es miembro de la Carrera del Investigador del CONICET. La realización de esta contribución fue posible gracias a subsidios del CONICET (PIP 5066) y de la Universidad Nacional del Comahue (B126/ 04).

BIBLIOGRAFÍA

ÅGREN, J. 1996. Population size, pollinator limitation, and seed set in the self- incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology*, **77**: 1779-1790.

AGUILAR, R.; L ASHWORTH; L GALETTO & MA AIZEN. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters*, **9**: 968–980.

AIZEN, MA; L ASHWORTH & L GALETTO. 2002. Reproductive success in fragmented habitats: do compatibility systems and pollination specialization matter? *Journal of Vegetation Science*, **13**: 885-892.

AIZEN, MA & P FEINSINGER. 1994a. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a Chaco dry forest, Argentina. *Ecology*, **75**: 330-351.

AIZEN, MA & P FEINSINGER. 1994b. Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honeybees in Argentine "Chaco Serrano". *Ecological Applications*, **4**: 378-392.

AIZEN, MA & P FEINSINGER. 2003. Bees not to be? Responses of insect pollinator faunas and flower pollination to habitat fragmentation. Pp. 111-129 en: GA Bradshaw & PA Marquet (eds.). *How landscapes change: human disturbance and ecosystem fragmentation in the Americas*. Springer-Verlag. Berlin, Alemania.

AIZEN, MA & LD HARDER. 2007. Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology*, **88**: 271-281.

AIZEN, MA & DP VÁZQUEZ. 2006. Flower performance in human-altered habitats. Pp. 159-179 en: LD Harder & SCH Barrett (eds.). *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press. Oxford, RU.

ASHMAN, TL; TM KNIGHT; JA STEETS; P AMARASEKARE; M BURD ET AL. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, **85**: 2408-2421.

ASHWORTH, L; R AGUILAR; L GALETTO & MA AIZEN. 2004. Why do pollination generalist and specialist plant species show similar reproductive susceptibility to habitat fragmentation? *Journal of Ecology*, **92**: 717-719.

BIESMEIJER, C; S P M ROBERTS; M REEME; R OHLEMÜLLER; M EDWARDS ET AL. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. Science **21**: 351 – 354.

BOND WJ. 1994. Do mutualisms matter? Assessing the impact of pollinator and disperser disruption on plant extinction. *Philosophical Transactions of the Royal Society* **344**: 83-90.

BUREL, F & J BAUDRY. 2003. *Landscape Ecology: concepts, methods and applications*. Science Publishers. Enfield, EEUU.

CANALES, J; MC TREVISAN; JF SILVA & HA CASWELl. 1994. A demographic study of an annual grass (*Andropogon brevifolius* Schwarz) in burnt and unburnt savanna. *Acta Oecologica*, **15**: 261-273.

COTTINGHAM, KL; JT LENNON; & BL BROWN. 2005. Knowing when to draw the line: designing more informative ecological experiments. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **3**: 145-152.

FEINSINGER, P. 1997. Effects of plant species on each other's pollination: is community structure influenced? *Trends in Ecology & Evolution*, **2**: 123-126.

FEINSINGER, P. 2004. *El diseño de estudios de campo para la conservacion de la biodiversidad*. Editorial Fundación Amigos de la Naturaleza. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

GHAZOUL, J & M MCLEISH. 2001. Reproductive ecology of tropical forest trees in logged and fragmented habitats in Thailand and Costa Rica. *Plant Ecology*, **153**: 335-345.

HARDER, LD & SCH BARRETT. 1995. Mating cost of large floral displays in hermaphrodite plants. *Nature*, **373**: 512-515.

HARDER, LD & BARRETT, SCH (eds.). 2006. *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press. Oxford, RU.

HARGROVE, WW & J PICKERING. 1992. Pseudoreplication: a *sine qua non* for regional ecology. *Landscape Ecology*, **6:** 251-258.

HURBERLT, SH. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological experiments. *Ecological Monographs*, **54**: 187-211.

HUSBAND, BC & DW SCHEMSKE. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution*, **50**: 54-70.

HUSTON, M. 1979. A general hypothesis of species diversity. *American Naturalist,* **113**: 81-101.

HUSTON, MA. 1997. Hidden treatments in ecological experiments: re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. *Oecologia*, **110**: 449-460.

JENNERSTEN, O. 1988. Pollination in *Dianthus deltoides* (Caryophyllaceae): effects of habitat fragmentation on visitation and seed set. *Conservation Biology*, **2**: 359-366.

KEARNS, CA; DW INOUYE & NM WASER. 1998. Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **29**: 83–112.

KNIGHT, TM; JA STEETS; J C VAMOSI; S J MAZER; M BURD ET AL. 2005. Pollen limitation of plant reproduction: pattern and process. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **36**: 467–497.

KREMEN, C; NM WILLIAMS; RL BUGG; JP FAY & RW THORP. 2004. The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters*, **7**: 1109-1119.

KREMEN, C; NM WILLIAMS; MA AIZEN; B GEMMILL-HERREN; G LEBUHN ET AL. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile

orgaisms: a conceptual framework for the effects of land use change. *Ecology Letters*, **10**: 299-314.

LAMONT, BB & HV RUNCIMAN. 1993. Fire may stimulate flowering, branching, seed production and seedling establishment in two kangaroo paws (Haemodoraceae). *Journal of Applied Ecology,* **30**: 256-264

MAYER C. 2004. Pollination services under different grazing intensities. *International Journal of Tropical Insect Science*, **24**: 95-103.

MENGES, ES. 1995. Factors limiting fecundity and germination in small populations of *Silene regia* (Caryophyllaceae), a rare hummingbird-pollinated prairie forb. *American Midland Naturalist*, **133**: 242-255.

MITCHELL, RJ. 2001. Path analysis: pollination. Pp. 217–234 en: SM Scheiner & J Gurevitch, (eds.). *Design and analysis of ecological experiments*. Oxford University Press. Oxford, RU.

NASON, JD & JL HAMRICK. 1997. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two case studies of Neotropical canopy trees. *The Journal of Heredity,* **88**: 264-276.

NE'EMAN, G; A DAFNI & SG POTSS. 2000. The effect of fire on flower visitation rate and fruit set in four core-species in east Mediterranean scrubland. *Plant Ecology*, **146**: 97-104.

OKSANEN, L. 2001. Logic of experiments in ecology: is pseudoreplication a pseudoissue? *Oikos*, **94**: 27-38.

RENNER SS. 1998. Effects of habitat fragmentation of plant pollinator interactions in the tropics. Pp. 339-360 en: DM Newbery; HHT Prins & ND Brown (eds.). *Dynamics of tropical communities*. Blackwell Science. London, RU.

SHIPLEY, B. 2000. *Cause and correlation in biology*. Cambridge University Press. Cambridge, RU.

SHORT, FT & S WYLLIE-ECHEVERRIA. 1996. **N**atural and human-induced disturbance of seagrasses. *Environmental Conservation*, **23**: 17-27.

SOUSA, WP. 1984. The role of disturbance in natural communities. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **15**: 353-391.

STEFFAN-DEWENTER, I; U MÜNZENBERG; C BÜRGER; C THIES & T TSCHARNTKE. 2002. Scale-dependent effects of landscape structure on three pollinator guilds. *Ecology*, **83**: 1421–1432**.**

STACHOWICZ, JJ. 2001. Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. *Bioscience*, **51:** 235-246.

TOWNSEND, PA & DJ LEVEY. 2005. An experimental test of whether habitat corridors affect pollen transfer. *Ecology*, **86:** 466–475.

TRAVESET, A & DM RICHARDSON. 2006. Biological invasions as disruptors of plant reproductive mutualisms. *Trends in Ecology and Evolution*, **21**: 208-216.

VÁZQUEZ, DP & D SIMBERLOFF. 2004. Indirect effects of an introduced ungulate on pollination and reproduction. *Ecological Monographs*, **74**: 281-308.

VÁZQUEZ, DP; WF MORRIS & P JORDANO. 2005. Interaction frequency as a surrogate for the total effect of animal mutualists on plants. *Ecology Letters*, **8**: 1088-1094.

WALTERS, BB & EW STILES. 1996. Effect of canopy gaps and flower patch size on pllinator vsitation of *Impatiens capensis*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club,* **123**: 184-188.

WESTPHAL, C; I STEFFAN-DEWENTER & T TSCHARNTKE. 2003. Mass flowering crops enhance pollinator densities at landscape scale. *Ecology Letters*, **6**: 961-965.

WILCOCK, C & R NEILAND. 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science*, **7**: 270-277.