



**Universidad Nacional del Comahue
Centro Regional Universitario Bariloche**

**Efectos de una interacción clave y consecuencias de su ruptura en el bosque
Templado Patagónico**



Trabajo de Tesis para optar por el grado de Doctor en Biología

Lic. Agustin Vitali

Director: Dr. Mariano Alberto Rodríguez-Cabal

Co-directora: Dra. Yamila Sasal

2022

Resumen

Un atributo central de las comunidades es que sólo unas pocas especies e interacciones pueden determinar las propiedades y los procesos que en ellas ocurren. Diversos estudios han resaltado la importancia de estas especies e interacciones clave en el mantenimiento de las comunidades. Su importancia radica en la capacidad de generar efectos en cadena que se propagan a través de la comunidad. Por esta razón, resulta indispensable identificar estas especies e interacciones y entender los mecanismos por los cuales afectan la estructura y el funcionamiento de las comunidades. Esto es relevante debido a las actuales tasas de cambio global que pueden producir la remoción de estas especies o la ruptura de estas interacciones clave.

Uno de los principales procesos promotores del cambio global es la invasión de especies no nativas. Estas especies generan impactos en la economía, en la estructura de las comunidades y en los procesos ecológicos en los sitios donde invaden. Mediante interacciones negativas las especies no nativas pueden reducir drásticamente los tamaños poblacionales de especies nativas, generando, en última instancia, extinciones locales. En particular, estas especies pueden afectar indirectamente la comunidad mediante la ruptura de mutualismos, ocasionando efectos en cascada sobre otros miembros de la comunidad. Sin embargo, la importancia de los efectos indirectos que producen las especies no nativas son a menudo ignorados en estudios sobre los impactos de estas especies en la comunidad invadida.

En la región noroeste del bosque templado de Patagonia ocurre una interacción mutualista que involucra a un colibrí (*Sephanoides sephanioides*), un marsupial (*Dromiciops gliroides*), un muérdago (*Tristerix corymbosus*) y al principal hospedador del muérdago (*Aristotelia chilensis*). El néctar producido por el muérdago es el único recurso para el colibrí durante el invierno permitiendo generar poblaciones permanentes en estos bosques. Además, el colibrí poliniza especies de casi el 20% de los géneros leñosos de estos bosques en verano. El marsupial dispersa al menos 25 especies de frutos carnosos, incluyendo frutos de gran tamaño no dispersados por las aves. Al mismo tiempo, el muérdago depende del marsupial para su persistencia ya que es su único dispersor de semillas. A pesar de la importancia individual de estas especies, el rol de esta interacción en los bosques templados patagónicos es aún desconocida. También, se ha registrado que ungulados no nativos producen la ruptura del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial al consumir el principal hospedador del muérdago y al producir la extinción local del marsupial. Entender como la ruptura de este mutualismo podría generar efectos en cascada en la comunidad resulta prioritario para la conservación de estos bosques. Por todas estas razones, la presente tesis tiene como objetivo principal evaluar la importancia del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial para el bosque templado patagónico y estudiar como su ruptura afecta diferentes propiedades a nivel comunidad.

Para examinar la importancia del mutualismo entre el colibrí-muérdago-marsupial en estos bosques y entender cómo su ruptura por ungulados no nativos impacta en la complejidad y diversidad de la comunidad, me centré en el análisis de redes de interacciones. Para alcanzar los objetivos propuestos, construí redes de polinización y dispersión de semillas en sitios de bosque intacto con y sin el mutualismo tripartito y sitios con ungulados no nativos. Luego, evalué la complejidad y diversidad de las redes mutualistas utilizando “motivos” (motifs). Los resultados sugieren que el mutualismo colibrí-muérdago-marsupial tiene el potencial de incrementar el número de especies y la diversidad de interacciones de las redes de polinización y dispersión de semillas debido al papel ecológico clave que desempeñan sus

miembros. Además, los resultados indican que la introducción de ungulados no nativos y la pérdida de este mutualismo tripartito erosionan la complejidad de estas redes. Esta reducción en el número de especies y diversidad de interacciones podrían estar acompañada con cambios en otras propiedades de la comunidad como la estructura y estabilidad.

Posteriormente, evalué cómo la ruptura del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial por ungulados no nativos modifica la forma en que en las especies interactúan en la comunidad (estructura) y cómo eso afecta la vulnerabilidad de la comunidad a la extinción de especies. Esto lo lleve a cabo construyendo redes multicapas polinizador-planta-dispersor de semillas en sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito y sitios con ungulados. Para cada red, calculé parámetros que describen su estructura (conectividad, modularidad, rol estructural de las especies). Luego, evalué como los cambios en la estructura afectaron la estabilidad de la comunidad a través de simulaciones de extinciones de especies. En general, encontré que los ungulados no nativos redujeron la conectividad entre la polinización y la dispersión de semillas y produjeron una red con menos compartimentos pero menos conectados entre sí. Estos cambios estructurales alteraron la dinámica de los efectos en cascada en la comunidad, aumentando la propagación de las perturbaciones y reduciendo la robustez de la red.

Finalmente, evalué el potencial del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial para reducir los impactos producidos por un abejorro invasor (*Bombus terrestris*) sobre la comunidad. Al aumentar la diversidad de especies de plantas, este mutualismo clave podría promover el recableado de interacciones de los polinizadores nativos, permitiéndoles asignar nuevas interacciones con plantas y escapar de la competencia con el polinizador invasor. Para lograr esto, utilicé datos recogidos en sitios antes de la invasión del abejorro y comparé esas redes con redes construidas después de la invasión en sitios con y sin el mutualismo clave. En este caso, apliqué motivos para calcular el nicho de interacciones de polinizadores y dinámica de redes para estimar el recableado de interacciones de la comunidad. Encontré que el mutualismo clave promovió la resistencia de la comunidad frente a los impactos de *B. terrestris*, al aumentar las chances de que los polinizadores nativos formen nuevas interacciones y reduzcan la competencia por recursos con el abejorro no nativo.

En general, el mutualismo colibrí-muérdago-marsupial es importante para el bosque templado patagónico ya que aumenta la complejidad y la resistencia de la comunidad al impacto polinizadores invasores. Además, su ruptura por ungulados no nativos altera la estructura y reduce la estabilidad de la comunidad. Estos resultados enfatizan la necesidad de proteger este mutualismo y son el punto de partida para tomar decisiones de manejo futuras.

Abstract

A central attribute of ecological communities is that only a few species and interactions may be essential to maintain community structure and ecosystem processes. Several studies have highlighted the importance of keystone species and interactions in maintaining communities. Their importance lies in the ability to generate knock-on effects that propagate through the community. For that reason, it is essential to identify and conserve keystone species and interactions and to understand the mechanisms by which they affect the structure and functioning of communities. This is particularly relevant given the current high rate of global change resulting in the removal of these species or disruption of key interactions.

One of the main processes that promotes global change is the invasion of non-native species. These species generate impacts on the economy, structure of the communities and ecological processes in the places where they invade. Invasive species can reduce the abundance of native species through negative interactions, potentially to the point of local extinction. In particular, they can disrupt mutualistic interactions, resulting in the loss of ecological services and generating cascading effects on other species in the community. However, the relevance of indirect effects produced by invasive species are often ignored in ecological studies.

In the northern portion of the temperate forest of Patagonia, a mutualistic interaction occurs involving a hummingbird (*Sephanoides sephaniodes*), a marsupial (*Dromiciops gliroides*), a mistletoe (*Tristerix corymbosus*), and main host of the mistletoe (*Aristotelia chilensis*). The nectar produced by the mistletoe is the only resource for the hummingbird during the winter, allowing it to establish permanent populations in these forests. In addition, the hummingbird pollinates almost 20% of the woody genera in summer. The marsupial provides an efficient seed dispersal service by dispersing at least 25 fleshy fruited species, including large fruits not dispersed by the native birds. In addition, the mistletoe depends fully on the marsupial for its persistence because it is its only seed disperser. Despite the individual importance of these species, the potential role of the hummingbird-mistletoe-marsupial mutualism for the maintenance and functioning of the Patagonian temperate forest is still -. It has been demonstrated that non-native ungulates disrupt the hummingbird-mistletoe-marsupial mutualism by consuming the main host of the mistletoe, *A. chilensis*, and by causing the local extinction of the marsupial. Understanding how the disruption of this mutualism could generate cascading effects in the community is essential for the conservation of this forest. Here, the main goal is to evaluate the importance of the hummingbird-mistletoe-marsupial mutualism in the Patagonian temperate forest and to study how its disruption affects different properties at community level.

To evaluate the importance of the hummingbird-mistletoe-marsupial mutualism and understand the effect of its disruption by non-native ungulates on the complexity and diversity of interactions of the community, I focused on ecological network analysis. I built pollination and seed dispersal networks in intact forest sites with and without the tripartite mutualism, and in sites with non-native ungulates. I evaluated the complexity and diversity of networks using motifs. The results suggest that the hummingbird-mistletoe-marsupial mutualism increases the number of species and diversity of interactions of the networks due to the ecological role of its members. Moreover, the results indicate that the gain of non-native ungulates and the consequent loss of the tripartite mutualism erode the complexity of the networks. This reduction in the number of species and diversity of interactions may produce changes in the other community properties.

I also evaluated how the disruption of the hummingbird-mistletoe-marsupial mutualism by non-native ungulates alters the way in which species interact in the community (structure) and the consequent effect on the vulnerability of the community to species extinction events. To do this, I built pollinator-plant- seed disperser multilayer network in intact sites with the tripartite mutualism and sites with non-native ungulates. For each network, I calculated parameters describing the network structure (connectivity, modularity, structural role of species). Then, I evaluated how changes in the structure affect the stability of the community using species extinction models. I found that non-native ungulates reduced the connectivity between pollination and seed dispersal mutualism and created a less compartmentalized and fragmented network. These structural changes altered the dynamics of cascading effects, increasing the propagation of disturbances and reducing the robustness of networks with presence of non-native ungulates.

Finally, I explored whether the mutualism among a hummingbird–mistletoe–marsupial reduce the impact of an invasive bumblebee (*Bombus terrestris*) on the community. By increasing the diversity of species, this keystone mutualism could promote the interaction rewiring of native pollinators, allowing them to assign new interactions with plants and escape competition with the invasive pollinator. To do this, I used data collected before the invasion of *B. terrestris* to build pollination networks and compared them with networks built in sites after the invasion with and without the keystone mutualism. In this case, I used motifs to calculate the interaction niche of pollinators and network dynamics to estimate the interaction rewiring of the community. I found that the keystone mutualism promoted the resistance of the community against the impact of *B. terrestris* by increasing the chances of native pollinators to form new interactions and reducing the competition for resources with the invasive pollinator.

In general, the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism is essential to the Patagonian temperate forest because it increases the complexity and resistance of the community against invasive pollinators. In addition, the disruption of this keystone mutualism by non-native ungulates alters the structure and reduces the stability of the community. These results emphasize the protection of the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism and are the starting point for future management decisions.

Índice	
Resumen	2
Abstract	4
Capítulo 1 - Introducción General	9
1.1 Introducción	9
1.2 Características del bosque templado patagónico.....	13
1.3 Estructura de la tesis.....	15
Capítulo 2 - La ruptura de la interacción colibrí-muérdago-marsupial erosiona las redes de polinización y dispersión de semillas del bosque templado patagónico	19
2.1 Introducción	19
2.2 Materiales y métodos	21
2.2.1 Área de estudio.....	21
2.2.2 Colecta de datos	27
2.2.3 Análisis de datos.....	32
2.3 Resultados	38
2.4 Discusión.....	44
Capítulo 3 – Redes multicapa revelan efectos en cascada en la estructura y estabilidad de la comunidad tras la ruptura de la interacción colibrí-muérdago-marsupial	51
3.1 Introducción	51
3.2 Materiales y métodos	55
3.2.1 Área de estudio.....	55
3.2.2 Colecta de datos	56
3.2.3 Análisis de datos.....	56
3.3 Resultados	65
3.4 Discusión.....	76
Capítulo 4 - El mutualismo colibrí-muérdago-marsupial reduce el impacto de polinizadores invasores en la comunidad	80
4.1 Introducción.....	80
4.2 Materiales y métodos	83
4.2.1 Área de estudio.....	83
4.2.2 Colecta de datos	86
4.2.3 Análisis de datos.....	87
4.3 Resultados	94
4.4 Discusión.....	101

Capítulo 5 – Síntesis y discusión general	106
Agradecimientos	112
Bibliografía	113
Apéndice 1 – Definición de cada concepto clave	131
Apéndice 2 - Lista de motivos (motifs)	135
Apéndice 3 – Estimación del parámetro R.....	144
Apéndice 4 – Significado ecológico de los ejes de NMDS.....	162
Artículo de respaldo 1	166
Artículo de respaldo 2	178



Capítulo 1 - Introducción General

1.1 Introducción

El concepto de especie clave fue introducido por primera vez por Robert T. Paine para identificar aquellas especies que afectan de manera desproporcionada la presencia, distribución y densidad de muchas otras especies (Paine 1969). Este concepto surgió de un experimento manipulativo de campo donde el depredador principal (una estrella de mar, *Pisaster ochraceus*) fue eliminado de una comunidad intermareal rocosa. En ausencia del depredador, su presa principal (un mejillón) se volvió dominante, reduciendo el espacio disponible para el establecimiento de otras especies sésiles y posteriormente excluyéndolas. Por el contrario, cuando el depredador estaba presente, ejercía un efecto de arriba hacia abajo que impedía que las especies de niveles tróficos inferiores monopolizaran los recursos, modificando así la estructura de la comunidad a través del tiempo (Paine 1966). Los artículos seminales de Paine (Paine 1966, 1969) impactaron en el campo de la ecología al identificar el potencial de una sola especie para mantener la integridad de una comunidad. Desde entonces, varios estudios han descrito a los principales depredadores como especies clave al ejercer una influencia de arriba hacia abajo sobre las comunidades bióticas. Algunos de estos ejemplos incluyen nutrias marinas (*Enhydra lutris*) en comunidades cercanas a la costa de las Islas Aleutianas (Estes & Palmisano 1974) y el lobo gris (*Canis lupus*) en el Parque Nacional Yellowstone (Ripple et al. 2001). Asimismo, otros estudios han identificado especies clave en otras interacciones, como herbivoría o mutualismos (Mills et al. 1993). Sin embargo, a pesar de la importancia del concepto de especie clave para la ecología y la biología de la conservación, existen varios debates en torno a la ambigüedad e imprecisión de su definición (Mills et al. 1993, Zacharias & Roff 2001, Cottee-Jones & Whittaker 2012).

Desde el concepto original de Paine, han surgido al menos 16 definiciones diferentes para referirse a especies clave, desde el concepto de "depredador clave" en 1969 hasta el de "gen clave" en 2018 (Fig. 1.1 y Apéndice 1: Tabla A1.1). Durante este tiempo, el concepto se ha ampliado para incluir tanto a especies, basadas en su rol dentro de la comunidad (ej., herbívoro clave o patógeno clave), como a entidades de otros niveles de organización (ej., gen clave o comunidad clave; Fig. 1.1 y Apéndice 1: Tabla A1.1). La expansión del concepto original fue producida por el avance de la ciencia en diferentes subdisciplinas y la necesidad de centrar la importancia en pocas entidades (es decir, especies, genes, etc.) que puedan mantener o tener una gran implicancia en el sistema de estudio. Por ejemplo, Skovmand y colaboradores (2018) nombran como genes claves a aquellos genes que participan en el

proceso de la fotosíntesis en algas debido a su importancia para producir oxígeno vital para otras especies.

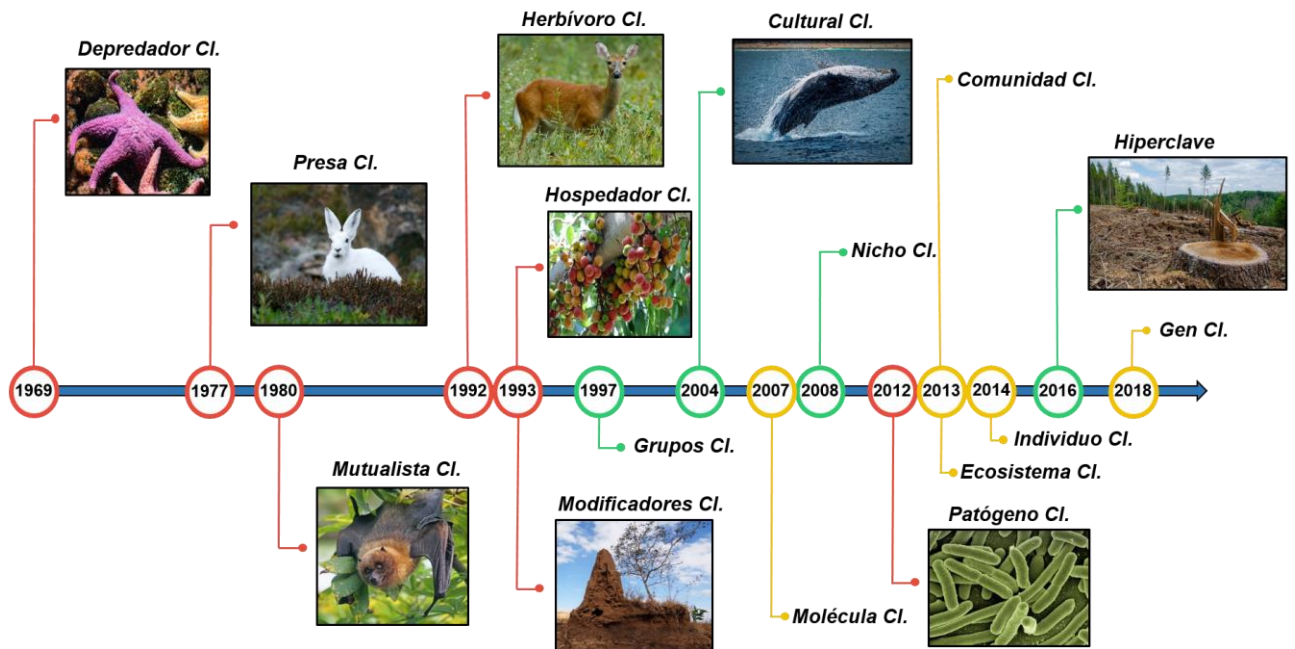


Figura 1.1. Línea de tiempo de la expansión del concepto “clave” (keystone). Los números dentro de círculos indican el año en que se originó el concepto. Los colores de los círculos indican grupos de definiciones que se enfocan en: rol de la especie (rojo), nivel de organización biológica (amarillo), y otros (verde). La abreviación “Cl” hace referencia a la palabra “clave”. La definición y ejemplos de cada concepto están detallados en Apéndice 1: Tabla A1.1.

El concepto “clave” también se ha extendido más allá de las especies para abarcar interacciones ecológicas. En 2006, Helfield y Naiman (2006) identificaron las "interacciones clave" como aquellas que controlan la funcionalidad de una comunidad o ecosistema en mayor medida que lo previsto, a partir de la abundancia de los organismos que participan en ellas (Valiente-Banuet et al. 2015). Este nuevo concepto ofrece una perspectiva más ecológica para comprender los impactos de los organismos dentro de los ecosistemas y ayudar en el desarrollo de planes de conservación. Hay diversos factores que implican la necesidad de centrarse en las interacciones ecológicas. Primero, la coexistencia de especies no siempre implica interacción entre ellas (Freilich et al. 2018, Blanchet et al. 2020). Por ejemplo, la presencia de algunas interacciones (“vínculos prohibidos”) entre especies son impedidas por su abundancia, comportamiento, o rasgos (Jordano et al. 2002, Olesen et al. 2011) como en aquellas aves con un pico de pequeño tamaño que son incapaces de consumir frutos de gran

tamaño. Segundo, la extinción de las interacciones ocurre antes que la extinción de especies (Valiente-Banuet et al. 2015, Sellman et al. 2016) produciendo la pérdida funcional ecológica de las especies aunque sigan existiendo en las comunidades. Por ejemplo, los roedores del desierto pierden su papel funcional de afectar el destino de las semillas y moldear la vegetación en el desierto de Strzelecki en Australia cuando se vuelven poco abundantes (Gordon & Letnic 2016). Tercero, el rol funcional de las especies puede ser dinámico dentro y entre comunidades porque las especies reasignan interacciones en el tiempo y espacio (recableado de interacciones) en base a factores abióticos (ej., pH del medio) y bióticos (ej., presencia de otras especies) (CaraDonna et al. 2017, Tylianakis & Morris 2017). Por ejemplo, el tritón rayado (*Notophthalmus viridescens dorsalis*) cumple un papel clave en los estanques temporales de Carolina del Norte al consumir la especie de anuro más competitiva, permitiendo así la coexistencia de especie menos competitivas (Morin 1981). Sin embargo, en los estanques temporales de Carolina del Sur, con los cuáles comparten más del 90% de las especies, incluyendo a *N. v. dorsalis*, el papel clave es llevado a cabo por una salamandra (*Ambystoma talpoideum*) o una libélula (*Tramea carolina*) dependiendo el pH del estanque (Fauth 1999). De esta manera, enfocándonos en las interacciones entre especies podemos apreciar plenamente la función ecológica de una especie. Por lo tanto, las interacciones entre especies y su conservación son importantes para asegurar la funcionalidad de las especies y la integridad de la comunidad.

La importancia de las interacciones clave radica en su capacidad de generar efectos en cadena que se propagan a través de la comunidad, pudiendo impactar indirectamente a nivel ecosistema. En particular, las interacciones positivas (ej., facilitación e interacciones mutualistas) juegan un papel importante en aquellas comunidades sujetas a estrés o condiciones ambientales adversas (ej., limitación de recursos o condiciones abióticas extremas; Stachowicz 2001, Callaway et al. 2002), o en comunidades donde la reproducción de la mayoría de las plantas depende de pocas especies de animales (Wilcock & Neiland 2002, Pringle et al. 2013). Por ejemplo, la interacción mutualista obligada entre los higos (*Ficus* sp.) y las avispas que polinizan los higos proporciona indirectamente un servicio ecosistémico esencial en los bosques tropicales. Cuando las avispas ponen sus huevos dentro de la siconia (inflorescencia del higo), también polinizan sus flores. Los higos se consideran esenciales en muchos sistemas donde proveen una importante fuente de alimento durante todo el año para los vertebrados frugívoros, y sostienen sus poblaciones durante los períodos de escasez de frutas (Terborgh 1986, Shanahan et al. 2001, Díaz-Martin et al. 2014). Por lo tanto,

debido a la capacidad de estas interacciones claves y de sus participantes de generar efectos a nivel comunidad, es necesario su estudio a través de herramientas que incluyan el máximo nivel de organización posible.

En las dos últimas décadas, el estudio de las redes mutualistas ha sido fundamental para comprender la estructura y funcionalidad de las comunidades (Bascompte & Jordano 2007, Rohr et al. 2014). Las redes de interacciones ecológicas proporcionan una forma sistemática de representar, caracterizar y comparar la complejidad de las comunidades, en las que las especies están representadas por nodos y las interacciones por enlaces entre nodos (Fig. 1.2, Delmas et al. 2018). De esta manera, esta metodología permite investigar preguntas desde nivel de especie a nivel comunidad, dependiendo de los parámetros calculados (Poisot et al. 2016). Por un lado, índices a nivel de especie, como los índices de centralidad, permiten identificar aquellas especies más importantes en las comunidades (Martín González et al. 2010). Por otro lado, los índices a nivel comunidad (ej., anidamiento, modularidad), informan sobre la estructura de la red, determinada por la forma en que las especies interactúan entre sí dentro de la misma (Bascompte & Jordano 2013, Delmas et al. 2018). Por ejemplo, la estructura de la red permite inferir sobre la afinidad de ciertas especies para interactuar basados en su filogenia, fenología, y rasgos, o predecir cómo una comunidad podría responder a factores externos (Memmott et al. 2004, Morente-López et al. 2018). Éste último punto no es menor si se considera el creciente grado de amenaza que sufren los ecosistemas debido a un incremento de la actividad humana causado por el crecimiento poblacional y la globalización (Hulme 2009, Newbold et al. 2015, Díaz et al. 2019). Dentro de las principales amenazas que reducen la biodiversidad a nivel global se encuentran la introducción de especies no nativas, la sobreexplotación de recursos, la contaminación, entre otras. Por ejemplo, las especies no nativas pueden producir disturbios puntuales y afectar a una o pocas especies, o desencadenar efectos en cascada que pueden llevar a la extinción secundaria de muchas especies en las comunidades. Por lo tanto, las redes de interacciones son una herramienta óptima para abordar esta problemática al identificar especies e interacciones importantes a nivel comunidad y ayudar a comprender la vulnerabilidad de los ecosistemas frente a diferentes amenazas.

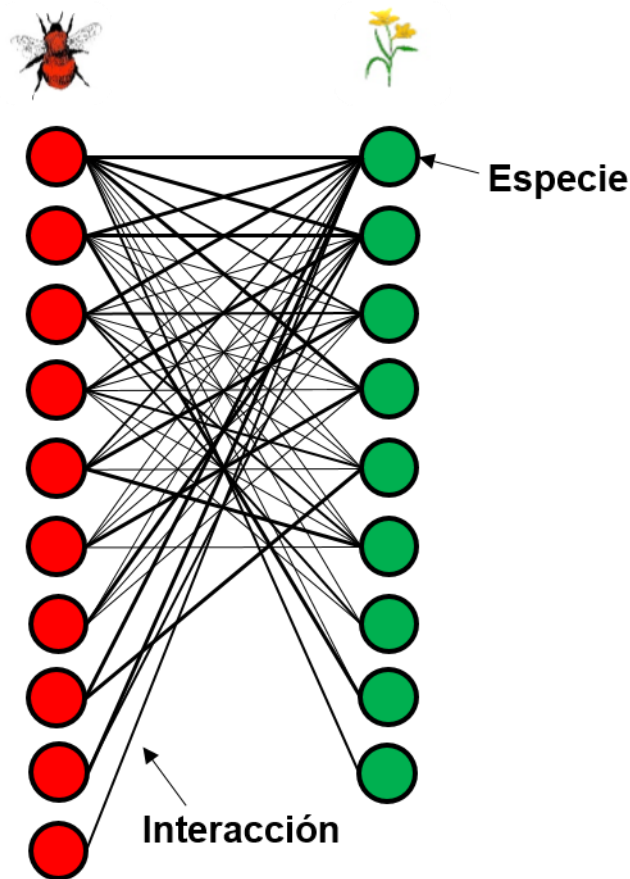


Figura 1.2. Red de interacción bimodal planta-polinizador. Para representar las interacciones mutualistas se utilizan redes bimodales que permiten visualizar las conexiones y la frecuencia de enlaces entre especies de diferentes grupos funcionales (ej., planta-polinizador). Los círculos (nodos) representan especies de polinizadores (círculos rojos) y plantas (círculos verdes). Los enlaces entre nodos indican interacciones entre especies. El grosor de los enlaces es proporcional a la frecuencia de interacciones entre especies.

1.2 Características del bosque templado patagónico.

El bosque templado patagónico pertenece a la región biogeográfica subantártica (Cabrera & Willink 1980). Esta región se extiende como una franja que oscila entre los 100 y 250 km de ancho sobre la porción oeste de Sudamérica desde los 37° hasta los 55°S (Cabrera & Willink 1980). El clima comprende dos estaciones bien diferenciadas: una estación seca en primavera-verano y una estación húmeda en otoño-invierno, con 1800 mm de precipitación media anual y 9°C de temperatura media anual (Mermoz & Martín 1986). El bosque templado de Patagonia es conocido por su alto grado de endemismo (Heywood & Watson 1995) y elevada proporción de especies vegetales que requieren animales mutualistas para la polinización y la dispersión de semillas (Aizen & Ezcurra 1998). Casi el 60% de las especies vegetales de este bosque requieren al menos una especie animal para la polinización (Riveros 1991) y casi el

50% de las plantas producen frutos carnosos que sugieren la dispersión de semillas por parte de animales (Armesto et al. 1987), lo que es comparable al nivel de mutualismo registrado en los bosques tropicales (Aizen & Vázquez 2002, Rodríguez-Cabal et al. 2009). Con respecto a su flora, estos bosques comprenden diferentes estratos de vegetación. El estrato arbóreo está dominado por el coihue (*Nothofagus dombeyi*) y el ciprés de la cordillera (*Austrocedrus chilensis*), que pueden alcanzar los 40 m de altura. Además, el sotobosque es dominado por arbustos como *Aristotelia chilensis*, cañas como *Chusquea culeou*, herbáceas y gramíneas (Mermoz & Martín 1986).

En la región norte del bosque templado de Patagonia ocurre una interacción mutualista que involucra a un colibrí (*Sephaniodes sephanioides*), un marsupial (*Dromiciops gliroides*), un muérdago (*Tristerix corymbosus*) y al principal hospedador del muérdago (*Aristotelia chilensis*) (Fig. 1.3). El néctar producido por el muérdago es el único recurso para el colibrí durante el invierno patagónico permitiendo generar poblaciones permanentes en estos bosques (Smith-Ramírez 1993, Aizen & Vázquez 2002), y también el colibrí es el polinizador más frecuente (casi exclusivo) del muérdago, permitiéndole alcanzar la máxima producción de semillas (Aizen 2003). A pesar de esto, el muérdago también tiene capacidad de autopolinizarse pero de manera limitada, produciendo una menor cantidad de semillas (cerca del 30% de la producción máxima) (Aizen 2003). Además, el colibrí poliniza casi el 20% de los géneros leñosos endémicos de estos bosques patagónicos en verano (Aizen & Ezcurra 1998). El marsupial proporciona un eficiente servicio de dispersión de semillas al dispersar al menos 25 especies de frutos carnosos, incluyendo frutos grandes (>11 mm) que no son dispersados por las aves nativas e incluyendo al principal hospedador del muérdago (Amico et al. 2009, Vazquez et al. 2022). Además, el muérdago depende del marsupial para su persistencia porque el paso por el tracto digestivo del marsupial es crucial para desencadenar la germinación de sus semillas y la mayoría de las semillas defecadas se pegan a las ramas debido a la pulpa pegajosa que rodea a la semilla de muérdago, produciendo un "collar" formado por hasta 20 semillas (Amico & Aizen 2000, Aizen & Vázquez 2002, Aizen 2003, Rodríguez-Cabal et al. 2007). A pesar de la importancia individual de estas especies, ningún estudio ha evaluado el potencial de esta interacción en conjunto para el mantenimiento y el funcionamiento de los bosques templados patagónicos.

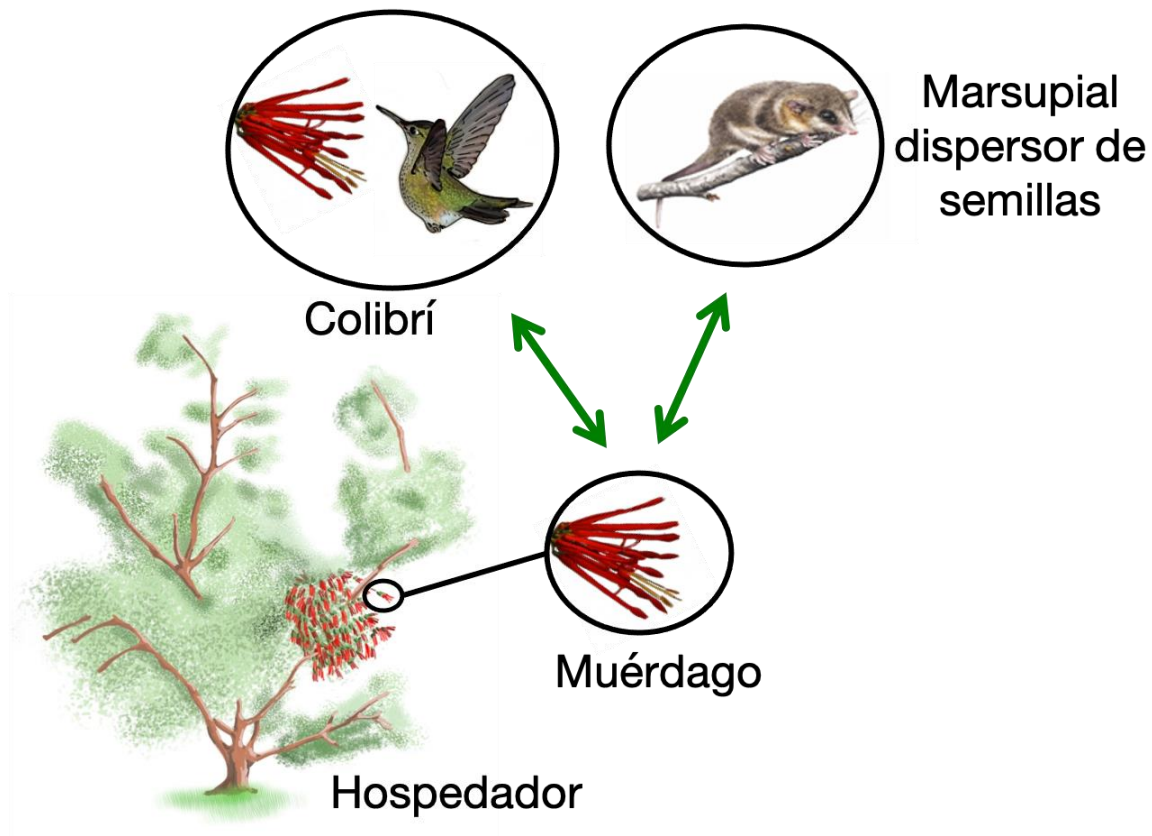


Figura 1.3. Mutualismo entre el colibrí-muérdago-marsupial y la interacción con el principal hospedador del muérdago, el arbusto *A. chilensis*. Los muérdagos, como *T. corymbosus*, son plantas hemiparásitas y requieren de un hospedador para obtener agua y minerales, y así completar su ciclo de vida (Watson 2001). Las flechas verdes representan interacciones mutualistas directas entre los miembros de esta red de interacciones.

1.3 Estructura de la tesis

La presente tesis tiene como objetivo principal evaluar la importancia del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial para el bosque templado patagónico y estudiar como su ruptura afecta diferentes propiedades a nivel de comunidad. Para ello, me centré en los mutualismos de polinización y dispersión de semillas, ambos son procesos ecológicos cruciales para el mantenimiento de la diversidad en las comunidades. Los objetivos fueron llevados a cabo mediante la construcción de redes de interacciones en diferentes tratamientos, su posterior análisis y comparación de a pares usando diferentes metodologías que serán detalladas en cada capítulo.

Capítulo 2

El objetivo de este capítulo es examinar la importancia del mutualismo entre el colibrí-muérdago-marsupial en el bosque templado patagónico y entender cómo su ruptura por

ungulados no nativos impacta en la complejidad y diversidad de las redes de polinización y dispersión de semillas. En particular, busco entender si la complejidad de las redes de polinización y dispersión de semillas es mayor en presencia de este mutualismo, y si es menor en sitios con presencia de ungulados no nativos que producen la ruptura de dicho mutualismo. Para alcanzar los objetivos, construí redes de polinización y dispersión de semillas en sitios de bosque intacto con y sin el mutualismo tripartito, y sitios con ungulados no nativos. Acorde a los objetivos particulares, comparé las redes entre sitios de bosque intacto con y sin el mutualismo tripartito y entre sitios de bosque intacto con el mutualismo y sitios con ungulados. Posteriormente, evalué la complejidad y diversidad de las redes mutualistas utilizando “motivos” (motifs), que son subredes compuestas por un pequeño número de especies que exhiben patrones particulares de interacciones y se obtienen al dividir la red completa.

Capítulo 3

En este capítulo, el objetivo es evaluar cómo la ruptura del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial por ungulados no nativos modifica la forma en que en las especies interactúan en la comunidad (estructura) y cómo eso afecta la vulnerabilidad de la comunidad a la extinción de especies. Para llevar a cabo el objetivo propuesto, utilicé una nueva metodología llamada “redes multicapa” (multilayer networks) que permite incorporar diferentes procesos ecológicos en un mismo análisis, logrando una perspectiva más holística de la comunidad. Primero, construí redes multicapas polinizador-planta-dispersor de semillas en sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito y sitios con ungulados no nativos. Luego, para cada red, calculé la conectividad entre los mutualismos de polinización y dispersión de semillas, la compartimentación de la red (número de módulos) y el rol de las especies en el mantenimiento de la estructura de la red. Luego, evalué como los cambios en la estructura afectaron la estabilidad de la comunidad. Para lograr esto, estimé la tolerancia de la red a la eliminación aleatoria de una sola especie (propagación de perturbaciones) y a la eliminación secuencial de especies (robustez) usando modelos estocásticos de extinción.

Capítulo 4

En este capítulo, el objetivo es evaluar el potencial del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial para disminuir el impacto de un abejorro invasor (*Bombus terrestris*) en la comunidad. En particular, busco entender si el impacto del polinizador invasor sobre los polinizadores nativos más importantes de la comunidad es menor en presencia del mutualismo

clave. Además, busco comprender si un mayor recableado de interacciones es el mecanismo por el cuál esto podría ocurrir. Al aumentar indirectamente la diversidad de especies, este mutualismo clave podría promover el recableado de interacciones de los polinizadores nativos, permitiéndoles asignar nuevas interacciones con plantas y escapar de la competencia con el polinizador invasor. Para lograr esto, utilicé datos recogidos en sitios antes de la invasión del abejorro *B. terrestris* y construí redes de polinización. Luego, comparé esas redes previas a la invasión con redes construidas 17 años después de la invasión en sitios con y sin el mutualismo clave. Para llevar a cabo el objetivo propuesto, utilicé los “motivos” de las redes para calcular el nicho de interacciones de los polinizadores más importantes de la comunidad. Además, apliqué dinámica de redes para estimar el recableado de interacciones de la comunidad dónde desarmé las redes de toda la temporada en subredes temporales de dos semanas.

Capítulo 5

En este capítulo, realicé una integración e interpretación de todos los resultados encontrados a lo largo de la tesis y discutí sobre las implicancias ecológicas y de conservación que el mutualismo entre el colibrí, muérdago y el marsupial tienen en el bosque templado patagónico. Además, discutí como el conocimiento generado en la presente tesis puede ser el punto de partida para futuros estudios y planes de conservación.



Capítulo 2 - La ruptura de la interacción colibrí-muérdago-marsupial erosiona las redes de polinización y dispersión de semillas del bosque templado patagónico

2.1 Introducción

La invasión de especies no nativas es uno de los principales procesos promotores del cambio global que genera impactos en la economía, el ambiente y la comunidad de especies donde invaden (Vitousek et al. 1997, Mack et al. 2000, Pejchar & Mooney 2009, Diagne et al. 2021). Sin embargo, no todas las especies que son introducidas en una comunidad fuera de su rango nativo son consideradas invasoras. Para ser consideradas invasoras, las especies no nativas deben superar ciertas barreras durante una serie de fases: introducción, establecimiento, propagación e impacto (Levine et al. 2004, Blackburn et al. 2011). De hecho, son pocas las especies que invaden una vez introducidas. Williamson y Fitter (1996) establecen la “regla del 10” donde 1 de cada 10 especies introducidas se establece y 1 de cada 10 especies establecidas se vuelve invasora (Williamson & Fitter 1996). No obstante, a pesar de su baja tasa de éxito, aquellas especies que logran invadir pueden reducir drásticamente los tamaños poblacionales de especies nativas mediante interacciones negativas (depredación, herbivoría y competencia) que, en última instancia, pueden dar lugar a extinciones locales (Mack et al. 2000).

Dentro de la gran variedad de especies que son introducidas, los ungulados no nativos representan una gran amenaza para la conservación de los ecosistemas (Spear & Chown 2009, Leopold & Hess 2017). Por un lado, los ungulados no nativos pueden modificar las comunidades de plantas al afectar directamente la supervivencia de ciertas especies, su crecimiento y éxito reproductivo a través del ramoneo y el pisoteo (Veblen et al. 1992, Vázquez 2002, Spear & Chown 2009). Además, los ungulados no nativos afectan ocasionalmente insectos y aves de manera directa por depredación accidental o ingesta de huevos (González-Megías et al. 2007, Cocquelet et al. 2019). Por otro lado, estas especies pueden afectar indirectamente la comunidad mediante la alteración de los ciclos de nutrientes, los regímenes de perturbación y la ruptura de mutualismos (Mack & D’Antonio 1998, Vázquez & Simberloff 2004, Rodríguez-Cabal et al. 2013, Traveset & Richardson 2014), ocasionando efectos en cascada sobre otros miembros de la comunidad (Mooney & Cleland 2001). Por ejemplo, el ramoneo selectivo de ungulados no nativos sobre plantas palatables con pocas o sin defensas (ej., espinas y toxinas) produce la dominancia de especies de plantas menos palatables en la comunidad, las cuales podrían invertir menos recursos en reproducción

(ej., número de flores), afectando a polinizadores y frugívoros (Herms & Mattson 1992, Wardle et al. 2001). Asimismo, la pérdida de ciertas especies y la ruptura de sus interacciones (ej., especies e interacciones clave) por ungulados no nativos podrían potenciar los efectos en cascada en las comunidades, aumentando la tasa de extinción de especies (Koh et al. 2004, Rodríguez-Cabal et al. 2013, Valiente-Banuet et al. 2015).

En los bosques templados patagónicos, el ganado bovino (*Bos taurus*) fue introducido por colonos europeos a finales del siglo XVIII (Veblen et al. 1992). En adición al ganado doméstico, el ciervo colorado (*Cervus elaphus*) y el ciervo dama (*Dama dama*) fueron introducidos en 1904 (Jaksic et al. 2002). Actualmente estos ungulados no nativos son los más abundantes en estos bosques, ocupando más del 50% de su superficie (Jaksic et al. 2002). En particular, se ha registrado que estas especies producen la ruptura del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial (ver capítulo 1 para más detalle de esta interacción, Rodríguez-Cabal et al. 2013). Los ungulados no nativos consumen preferentemente al principal hospedador del muérdago, *A. chilensis*, reduciendo 16 veces su abundancia en estos bosques y disminuyendo indirectamente 83 veces la densidad del muérdago (*T. corymbosus*) (Veblen et al. 1992, Rodríguez-Cabal et al. 2013). Además, la disminución en la densidad del muérdago reduce, por un lado, la densidad de colibríes (*S. sephaniodes*) durante el invierno. Por otro lado, al reducir la densidad del muérdago y al afectar la estructura de la vegetación, los ungulados no nativos producen la extinción ecológica del marsupial dispersor de semillas (*D. gliroides*). Esto se debe a que su abundancia está positivamente correlacionada con la abundancia del muérdago después de que se cumplen los requisitos mínimos del hábitat (cobertura de bambú *C. culeou* >10%, Rodríguez-Cabal & Branch 2011, Rodríguez-Cabal et al. 2013). Asimismo, debido al alto grado de asimetría de los mutualismos planta-animal del bosque templado patagónico, donde la mayoría de las plantas dependen sólo de unos pocos socios mutualistas (Aizen & Vázquez 2002), la pérdida de una especie mutualista podría desencadenar una cascada de eventos de extinción en toda la comunidad (Albrecht et al. 2014). Por esta razón, entender el rol que cumple este particular mutualismo entre especies nativas sobre la comunidad resulta fundamental.

El objetivo de este capítulo, fue examinar la importancia del mutualismo entre el colibrí-muérdago-marsupial en el bosque templado patagónico y como su ruptura por ungulados no nativos afecta la complejidad y diversidad de las redes de polinización y dispersión de semillas. Utilizando un escenario natural desencadenado por la introducción de ungulados no nativos, abordé las siguientes preguntas: (1) ¿Existe una asociación entre la

presencia del mutualismo tripartito y elevados niveles de complejidad y diversidad de redes mutualistas? Espero que la complejidad de las redes de polinización y dispersión de semillas sea mayor en sitios con dicha interacción que en sitios sin ella. (2) ¿La ruptura de dicho mutualismo por ungulados no nativos está asociado a una alteración de la complejidad de las redes mutualistas? Espero que la complejidad de las redes de polinización y dispersión de semillas sea menor en sitios con ungulados no nativos que en sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Área de estudio

El estudio se realizó en el Parque Nacional Nahuel Huapi y en la Reserva Municipal Llao Llao, en el noroeste de la Patagonia argentina. El área de estudio corresponde al bosque templado patagónico (ver capítulo 1 para mayor detalle).

En este estudio aproveché la distribución agrupada de las poblaciones de muérdago (*T. corymbosus*), producida por la actividad del marsupial (*D. gliroides*) y la estructura poblacional de su principal hospedador (*A. chilensis*) (García et al. 2009, Sasal et al. 2021), que me permitió comparar sitios con alta y baja densidad de muérdago. Seleccioné seis sitios de bosque nativo de 1 ha, separados por más de 2 km. Todos los sitios corresponden a bosque maduro mixto coihue–ciprés (*N. dombeyi* y *Austrocedrus chilensis*) con dos estratos diferenciados: dosel arbóreo y sotobosque que alcanzaban hasta los 40 y 5 metros de altura respectivamente. Para mayor descripción de la ubicación geográfica y composición de cada estrato en cada sitio ver Fig. 2.1 y Tabla 2.1. Cuatro sitios estaban ubicados en bosques bien conservados y sin ungulados no nativos: dos sitios con alta densidad de muérdagos (>400 individuos reproductivos por hectárea) y la presencia de *A. chilensis* (en adelante "sitios intactos con el mutualismo tripartito", indicados como "CMT" en tablas), y dos sitios con baja densidad de muérdagos (<20 individuos reproductivos por hectárea) y la presencia de *A. chilensis* (en adelante "sitios intactos sin el mutualismo tripartito", indicados como "SMT" en tablas). Los sitios de bosques intactos no presentan registros de herbivoría por parte de ungulados y presentan los factores ecológicos necesarios para sostener el mutualismo ya que se observan registros directos e indirectos de todos los miembros de esta interacción (Tabla 2.2 y 2.3). Los otros dos sitios se encuentran en bosques donde ungulados no nativos han sido introducidos, en adelante "sitios con ungulados" (indicados como "U" en tablas). Consideramos sitios con ungulados a aquellos con presencia de herbivoría de ungulados no

nativos (Tabla 2.3). En estos sitios, registros previos de *D. gliroides* (Martin 2010) y la presencia previa y actual de una baja densidad de muérdagos adultos evidencian la ocurrencia histórica de la interacción colibrí-muérdago-marsupial (Tabla 2.2; Vázquez 2002, Rodríguez-Cabal et al. 2013). Cada sitio fue elegido al azar de un conjunto de sitios posibles.

Para caracterizar los sitios de estudio, delimité tres transectas de 100m dentro de cada uno de ellos, separados entre sí por 25m. En cada transecta, establecí cinco parcelas circulares de 2m de radio donde evalué la riqueza vegetal, la abundancia de *A. chilensis* y *T. corymbosus* (considerando todas las especies hospedadas), la estructura de la vegetación y la cobertura del sotobosque y del bambú (*C. culeou*). Para estimar la estructura de la vegetación, conté el número de ramas (de 5-10 cm de diámetro y $\leq 45^\circ$ con respecto al suelo) que tocaban un poste vertical de 3 m situado en el centro de las parcelas. Para estimar la cobertura del sotobosque realicé cuatro mediciones con un densiómetro colocado en el centro de las parcelas. Por otro lado, para estimar la cobertura de bambú, estimé la proporción de suelo de la parcela cubierta por bambú. Además de las parcelas circulares, delimité cinco transectas de 100m x 2m en cada sitio y conté el número de flores de *T. corymbosus* durante su periodo de floración considerando todas las especies hospedadas. A nivel de sitio, los valores de riqueza vegetal, abundancias de *A. chilensis* y *T. corymbosus*, y el número de flores de *T. corymbosus* se acumularon considerando todas las parcelas y transectas. Por otro lado, los valores de la estructura de la vegetación y la cobertura del sotobosque y bambú por sitio se calcularon promediando los valores de las parcelas (Tabla 2.2).

Tabla 2.1. Datos de los sitios donde se colectaron los datos. Trat.: Tratamientos. CMT: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito; SMT: sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito; U: sitios con ungulados no nativos.

Trat.	Sitio	Ubicación (latitud y longitud)	Historia de disturbio	Composición dosel (especies más abundantes)	Composición sotobosque (especies más abundantes)
CMT	1	41°02'55.1"S 71°32'41.0"O	Introducción de especies exóticas (<i>Bombus terrestris</i> , <i>B. ruderatus</i>)	<i>Nothofagus dombeyi</i> , <i>Austrocedrus chilensis</i>	<i>A.chilensis</i> , <i>T. corymbosus</i> , <i>Luma apiculata</i> , <i>Berberis darwinii</i> , <i>Alstroemeria aurea</i>
	2	41°02'46.1"S 71°33'10.6"O	Introducción de especies exóticas (<i>Bombus terrestris</i> , <i>B. ruderatus</i>)	<i>N. dombeyi</i> , <i>Austrocedrus chilensis</i>	<i>A.chilensis</i> , <i>Azara microphylla</i> , <i>T. corymbosus</i> , <i>Alstroemeria aurea</i> , <i>B. darwinii</i>
SMT	1	41°02'54.7"S 71°32'56.0"O	Introducción de especies exóticas (<i>Bombus terrestris</i> , <i>B. ruderatus</i>)	<i>N. dombeyi</i> , <i>Austrocedrus chilensis</i>	<i>A.chilensis</i> , <i>Azara microphylla</i> , <i>L. apiculata</i> , <i>Alstroemeria aurea</i> , <i>B. darwinii</i>
	2	41°02'54.7"S 71°33'57.7"O	Introducción de especies exóticas (<i>Bombus terrestris</i> , <i>B. ruderatus</i>)	<i>N. dombeyi</i> , <i>Austrocedrus chilensis</i>	<i>A.chilensis</i> , <i>Maytenus boaria</i> , <i>Azara microphylla</i> , <i>Alstroemeria aurea</i> , <i>Osmorhiza chilensis</i>

U	1	40°57'45.4"S 71°31'51.4"O	Introducción de especies exóticas (<i>Bos taurus</i> , <i>Cervus elaphus</i> , <i>Bombus terrestris</i> , <i>B. ruderatus</i>)	<i>N. dombeyi</i> , <i>Austrocedrus chilensis</i>	<i>B. darwinii</i> , <i>Schinus patagonicus</i> , <i>Dashyphyllum diacanthoides</i> , <i>A. chilensis</i> , <i>L. apiculata</i>
	2	41°05'09.7"S 71°32'47.8"O	Introducción de especies exóticas (<i>Bos taurus</i> , <i>Cervus elaphus</i> , <i>Bombus terrestris</i> , <i>B. ruderatus</i>)	<i>N. dombeyi</i> , <i>Austrocedrus chilensis</i>	<i>S. patagonicus</i> , <i>Rosa eglanteria</i> , <i>O. chilensis</i> , <i>B. darwinii</i> , <i>A. chilensis</i>



Figura 2.1. Mapa del Parque Nacional Nahuel Huapi con ubicación de los sitios.

Tabla 2.2. Descripción de sitios donde se colectaron los datos. Trat.: Tratamientos. CMT: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito; SMT: sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito; U: sitios con ungulados no nativos. ¹Los valores representan la media \pm el error estándar. [@]N° ramas que tocaban poste vertical. *Proporción del densiómetro cubierto por vegetación. #Proporción de suelo cubierto por bambú.

Trat.	Sitio	Riqueza de plantas	Estructura de la vegetación ^{1,@}	Cobertura del sotobosque ^{1,*}	Cobertura bambú ^{1,#}	N° <i>A. chilensis</i> /ha	N° <i>T. corymbosus</i> /ha	N° flores <i>T. corymbosus</i> /ha
CMT	1	21	2.60 \pm 0,19	0,89 \pm 0,01	0,16 \pm 0,06	39	29	8830
	2	22	2.60 \pm 0,23	0,88 \pm 0,01	0,18 \pm 0,08	36	22	7220
SMT	1	11	1.13 \pm 0,19	0,90 \pm 0,01	0,24 \pm 0,1	25	2	350
	2	15	0,92 \pm 0,23	0,92 \pm 0,01	0,23 \pm 0,09	32	1	215
U	1	13	0,73 \pm 0,15	0,82 \pm 0,03	0,14 \pm 0,07	21	4	967
	2	16	0,60 \pm 0,16	0,89 \pm 0,01	0,15 \pm 0,1	19	3	1360

Para detectar ungulados no nativos, realicé un seguimiento con cámaras trampa en cada sitio de estudio. Las cámaras se colocaron a 1 m del suelo y se configuraron para grabar activadas por el movimiento 30 segundos cada dos minutos durante el día y la noche. Consideré un registro directo de ungulados no nativos cuando reconocí su identidad a partir de los videos. Además, estimé la proporción de vídeos de cámaras trampa que registraron ungulados en cada sitio como una medida cuantitativa de su ocupación. Para complementar la medición con cámaras trampas, estimé la herbivoría por ungulados no nativos en cada sitio comprobando presencia de daño en las hojas y ramas de 50 individuos de *A. chilensis* seleccionados al azar. Además, estimé el reclutamiento de *T. corymbosus* contando el número total de plántulas en 50 individuos de su principal huésped *A. chilensis* (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Presencia y herbivoría de ungulados no nativos y reclutamiento del muérdago en cada sitio. Trat.: tratamientos. CMT: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito; SMT: sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito; U: sitios con ungulados no nativos.

Trat.	Sitio	Porcentaje de videos que registraron ungulados no nativos	Porcentaje de <i>A. chilensis</i> dañados	Número de plántulas de <i>T. corymbosus</i> en 50 individuos de <i>A. chilensis</i>
CMT	1	0	0	42
	2	0	0	49
SMT	1	0	0	7
	2	0	0	4
U	1	54.5	98	0
	2	50	82	0

2.2.2 Colecta de datos

El trabajo de campo y la colecta de datos se realizaron durante dos primaveras y veranos australes consecutivos (2017-2018 y 2018-2019).

Redes ecológicas de polinización

Durante la temporada de floración (octubre-febrero) identifiqué todas las especies, nativas e introducidas, de plantas polinizadas por animales en cada sitio y estimé la tasa de visitas a las flores. Para ello, realicé censos de 10 minutos por planta en los cuales registré la identidad del polinizador, el número de visitas del polinizador y el número de flores por individuo o rama visitada (cuando la planta presentó un elevado número de flores). Registré una visita cuando el visitante entró en contacto la estructura reproductiva de la flor. Las especies de polinizadores que no pudieron ser identificadas en el campo fueron recogidas e identificadas en el laboratorio. Realicé los censos de 11:00 a 17:00 h en días soleados y no ventosos. Para colectar las muestras de polinización dividí el sitio en cuatro cuadrantes. Realicé censos de polinización en un cuadrante durante 1 hora y cambié a otro cuadrante seleccionado al azar hasta que todas las especies de plantas con flor del sitio fueron registradas. Aquellos cuadrantes con pocas flores por especie, presencia de un individuo en flor por especie, o sin plantas en flor fueron omitidos. En general, realicé ocho horas de censos por sitio en dos semanas; sin embargo, el esfuerzo de muestro varió según el pico de floración a lo largo de la temporada. Por ejemplo, si varias especies florecían conjuntamente en un sitio, se realizó un esfuerzo de muestreo adicional. De manera contraria, si en un sitio florecieron pocas especies,

el esfuerzo de muestreo fue menor. El esfuerzo de muestreo por especie vegetal fue estandarizado por medio del diseño de colecta de datos. En general, realicé el mismo número de censos para cada especie vegetal en todos los sitios. Por ejemplo, si realicé 20 y 30 censos de las especies de plantas A y B, respectivamente, en el sitio 1, entonces realicé 20 y 30 censos de las especies A y B en los sitios restantes. Sin embargo, cuando la abundancia relativa de la misma especie vegetal fue muy diferente entre sitios, realicé un mayor número de censos en los sitios donde presentaba mayor abundancia debido a que las especies más abundantes tienden a interactuar con más frecuencia que las especies raras (Vázquez et al. 2007). Realicé al menos 12 censos por especie vegetal por sitio, incluyendo al menos cinco individuos diferentes de cada especie. En total, realicé 1782 censos en 2017-2018 y 1738 censos en 2018-2019 (Tabla 2.4 y lista de especies en Apéndice 2: Tabla A2.1-2). Asimismo, evalué la robustez del esfuerzo de muestreo mediante curvas de acumulación suavizadas de la riqueza de interacción de especies planta-polinizador. En todos los sitios, las curvas sugieren un esfuerzo de muestreo robusto, ya que alcanzaron o estuvieron cerca de alcanzar la asíntota, lo que indica que se han detectado la mayoría de las interacciones por pares y que un mayor esfuerzo de muestreo no mejoraría sustancialmente la detección de interacciones nuevas o raras (Fig. 2.2).

Tabla 2.4: Esfuerzo de muestreo de las redes de polinización en cada sitio y temporada de muestreo. Trat.: tratamientos. CMT: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito; SMT: sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito; U: sitios con ungulados no nativos.

Trat.	Año	Sitio	Censos totales	Tiempo (h)	N° especies de plantas	N° especies de visitantes florales	N° enlaces	N° interacciones
CMT	2017- 2018	1	486	81	26	44	110	485
		2	361	60,2	18	39	93	622
	2018- 2019	1	442	73.7	24	54	138	1046
		2	306	51	16	47	88	681
SMT	2017- 2018	1	217	31.2	10	26	35	216
		2	183	30,5	7	16	17	73
	2018- 2019	1	206	34.3	12	28	46	252
		2	266	44.3	10	28	39	209
U	2017- 2018	1	211	35.2	11	35	63	486
		2	324	54	12	24	36	200
	2018- 2019	1	185	30,8	10	27	53	411
		2	333	55.5	13	29	50	420

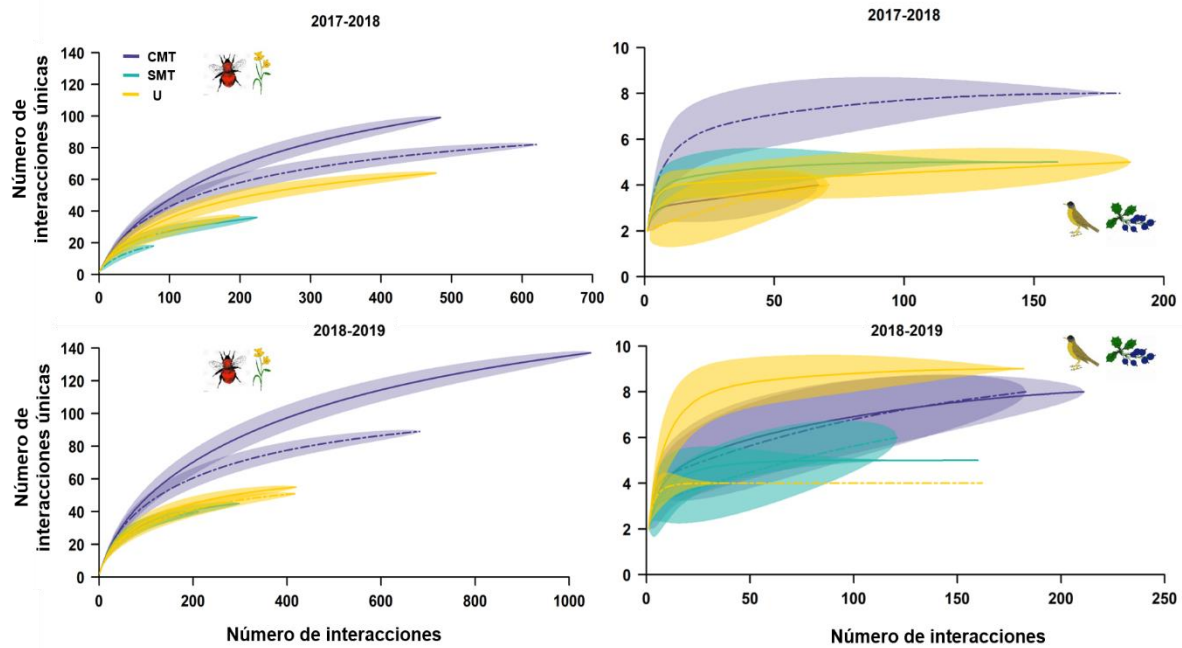


Figura 2.2. Curvas de acumulación suavizadas de la riqueza de interacciones entre especies según el número de interacciones registradas en cada sitio y temporada. El proceso de suavizado de las curvas de acumulación es apropiado para reducir el ruido estocástico producido por los sesgos temporales y espaciales en la distribución del esfuerzo de muestreo y para evitar el sesgo específico producido por el orden en que se realizaron los censos (Jiménez-Valverde 2000). Los paneles de la izquierda y la derecha representan las interacciones de las especies que visitan flores y las aves que remueven los frutos, respectivamente. El color de las líneas representa los tratamientos. CMT: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito; SMT: sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito; U: sitios con ungulados no nativos. Cada línea muestra la media de la riqueza de interacciones entre especies representada según el número de interacciones registradas. El área sombreada alrededor de cada curva indica el intervalo de confianza del 95% alrededor de la media.

Redes ecológicas de dispersión de semillas

Durante la temporada de fructificación (enero-abril) identifiqué todas las especies de plantas de fruto carnoso en cada sitio. Las interacciones entre los dispersores de semillas y las plantas se registraron utilizando diferentes metodologías según el animal dispersor de semillas (Donatti et al. 2011). En primer lugar, para cuantificar la dispersión de semillas por aves, realicé observaciones de una hora por individuo de planta y registré el número de frutos removidos por las aves. Del total de observaciones, descarté las interacciones que implicaban la depredación de semillas y el picoteo de la pulpa por aves porque dañan las semillas y se comen la pulpa del fruto sin tragar la semilla, respectivamente (Simmons et al. 2018). Los periodos de observación se realizaron de 6:30 a 10:30 h. Estandaricé el esfuerzo de muestreo

por especie de planta en el diseño de colecta de datos y realicé el mismo número de observaciones para cada especie de planta en todos los sitios. Además, el número de observaciones realizadas por especie vegetal fue proporcional a su abundancia relativa en cada sitio. Realicé al menos cinco periodos de observación por especie vegetal y por lugar, incluyendo al menos cinco individuos diferentes de cada especie. El número de periodos de observación de cada especie fue constante entre los sitios cuando la misma especie estaba presente. En total, realicé 125 periodos de observación en 2017-2018, y 155 periodos de observación en 2018-2019 (Tabla 2.5 y lista de especies en Apéndice 2: Tabla A2.1 y 3). Las curvas de acumulación suavizadas de la riqueza de interacciones planta-ave dispersora indica que con un mayor esfuerzo no se mejoraría sustancialmente la detección de nuevas interacciones (Fig. 2.2).

Tabla 2.5: Esfuerzo de muestreo de las redes de dispersión de semillas en cada sitio y temporada de muestreo. Trat.: tratamientos. CMT: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito; SMT: sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito; U: sitios con ungulados no nativos.

Trat.	Año	Sitio	Censos totales	Tiempo (h)	Cám. trampa (h)	Trampas Tomahawk (días)	N° sp. de plantas	N° sp. de dispersores	N° enlaces	N° int.
CMT	2017-2018	1	25	25	1440	8	6	2	8	294
		2	39	39	1440	8	7	3	10	299
	2018-2019	1	36	36	1944	8	8	3	10	374
		2	28	28	1680	8	7	3	12	291
SMT	2017-2018	1	19	19	1200	8	4	3	8	186
		2	-	-	240	8	-	-	-	-
	2018-2019	1	17	17	1200	8	4	4	7	240
		2	12	12	720	8	3	4	6	122
U	2017-2018	1	27	27	1200	8	4	2	5	201
		2	15	15	1200	8	2	2	3	71
	2018-2019	1	39	39	1200	8	6	4	9	213
		2	23	23	1200	8	4	1	4	191

En segundo lugar, para evaluar la dispersión de semillas por el marsupial endémico, recogí y analicé sus heces en cada sitio. Las heces se recogieron con una malla en la base de trampas Tomahawk (10 cm × 10 cm × 30 cm). Estas trampas de malla metálica están diseñadas para capturar eficazmente a este pequeño mamífero arborícola (Amico et al. 2009, Fontúrbel 2010). Coloqué 17 trampas Tomahawk a una altura de 1-2 m sobre el suelo en arbustos o árboles. Las trampas se dispusieron en una cuadrícula de estrellas, separadas entre sí por 15 m para cubrir un área efectiva de una hectárea. Controlé las trampas diariamente al amanecer durante cuatro días consecutivos en febrero y marzo (Amico and Aizen 2005), donde se detectan mayores capturas de *D. gliroides* correspondientes al período de

reclutamiento de juveniles (Celis-Diez et al. 2012). Todos los sitios fueron muestreados simultáneamente. Para determinar el número de frutos dispersados por *D. gliroides*, dividí el número de semillas de cada especie vegetal encontradas en la muestra (heces) por el número medio de semillas por fruto de la misma especie. El número medio de semillas por fruto de cada especie se estimó midiendo 12 frutos, recolectados al azar en el sitio de estudio. La corrección se realizó para homogeneizar las unidades de observación de aves y *D. gliroides* al número de frutos removidos. El esfuerzo de muestreo fue homogéneo entre los sitios porque asumí la presencia de *D. gliroides* en todos ellos, a pesar de la baja probabilidad de presencia en sitios con ungulados no nativos (Tabla 2.5). Al igual que en los casos anteriores, un mayor esfuerzo no mejoraría sustancialmente la capacidad de detectar nuevas interacciones que involucren al marsupial dispersor de semillas (Fig. 2.3).

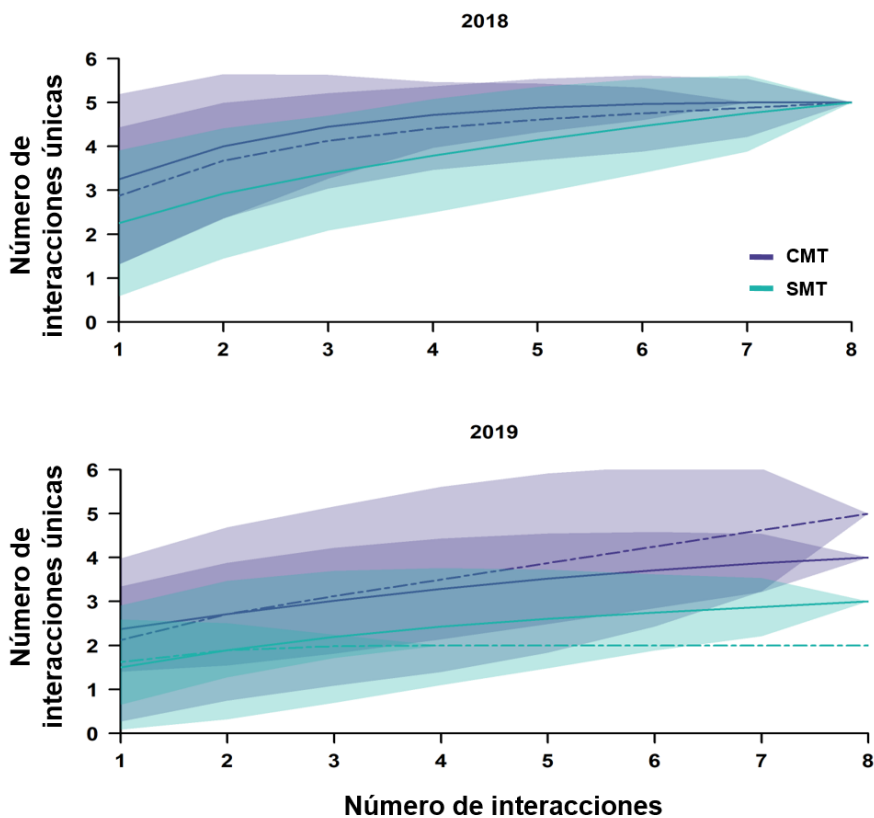


Figura 2.3. Curvas de acumulación suavizadas de la riqueza de interacciones registradas durante el muestreo del marsupial dispersor de semillas (*D. gliroides*) según el número de días de muestreo en cada sitio y temporada. El color de las líneas representa los tratamientos. CMT: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito; SMT: sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito. Las líneas continuas y discontinuas representan diferentes sitios. Cada línea muestra la media de la riqueza de interacción de especies representada según el número de días muestreados. El área sombreada

alrededor de cada curva indica el intervalo de confianza del 95% alrededor de la media. Se excluyeron los sitios sin registros de interacciones con *D. gliroides*.

Finalmente, usé cámaras trampa (Bushnell trophy cam) para mejorar la integridad del muestreo de especies e interacciones y acumular más horas de observación por especie de planta en cada sitio. Se colocaron cámaras enfocando ramas con frutos de cada especie vegetal durante 240 horas (Tabla 2.5). Configuré las cámaras para grabar 30 segundos cada dos minutos durante el día y la noche, activadas por el movimiento. A partir de los videos, documenté las mismas variables registradas que en los períodos de observación directa, considerando un evento de dispersión sólo cuando registré visualmente la remoción de frutos por parte del dispersor de semillas y reconocí su identidad. En total, 12 cámaras (dos por sitio) funcionaron simultáneamente en cada temporada de fructificación.

2.2.3 Análisis de datos

Para cada sitio construí una red planta-polinizador y una red planta-dispersor de semillas por temporada, obteniendo como resultado un total de 12 redes planta-polinizador y 11 redes planta-dispersor de semillas (es decir, cada combinación de sitio-año tiene su red correspondiente). La red planta-dispersor de semillas en 2017-2018 en uno de los sitios sin el mutualismo tripartito fue excluida del análisis porque varias especies de plantas no produjeron frutos. Para construir las redes de interacciones, representé las interacciones planta-polinizador y/o planta-dispersor de la comunidad utilizando matrices, donde las filas correspondieron a las especies de polinizadores o dispersores de semillas (según la interacción evaluada) y las columnas a especies de plantas. De esta manera, cuando dos especies interactuaban entre sí, les asigné un valor equivalente a la cantidad de interacciones registradas entre ellas en la celda correspondiente (redes cuantitativas). La lista de matrices utilizadas para construir las redes de interacciones están subidas al repositorio FigShare (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.15032136>). Utilicé modelos lineales generalizados de efectos mixtos (GLMM) para comprobar si el número de especies y las interacciones totales y únicas difieren en las redes de polinización y dispersión de semillas entre los sitios de bosque intacto con y sin el mutualismo tripartito (llamados sitios tripartitos de acá en adelante) y entre los sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito y los sitios con ungulados (llamados sitios amenazados de acá en adelante). Para ello, construí doce modelos, seis para las redes de polinización y seis para las redes de dispersión de semillas. Cada modelo incluyó una combinación de una variable respuesta (número de especies, número de interacciones totales o número de interacciones únicas) y un factor fijo (sitios tripartitos o sitios

amenazados). Incluí "Sitio" como factor aleatorio en los modelos para considerar las medidas repetidas en el mismo sitio. Utilicé la distribución Poisson con una función de enlace logarítmica porque las variables respuesta eran conteos, pero cuando encontré sobredispersión en los datos utilicé la distribución binomial negativa (Zuur et al. 2009). Todos los análisis fueron llevados a cabo con el paquete lme4 del programa R (Bates et al. 2014, R Core Team 2021).

El análisis de redes se centró en los "motivos" de las redes: subredes compuestas por un pequeño número de especies que exhiben patrones particulares de interacciones y que se obtienen al dividir la red completa (Fig. 2.4, Milo et al. 2002, Simmons et al. 2019a). Los motivos son herramientas valiosas para evaluar la estructura y la importancia ecológica de las especies en las redes porque tienen dos niveles estructurales de organización. En un nivel estructural, un motivo representa un patrón único de interacciones entre un subconjunto de especies dentro de una red (Milo et al. 2002, Simmons et al. 2019a, 2019b), en consecuencia, las redes con un mayor número de motivos diferentes tendrían una mayor diversidad de interacciones (Jácome-Flores et al. 2020). En el otro nivel, un motivo está compuesto por dos o más posiciones que pueden ser ocupadas por diferentes especies simultáneamente. Cada una de estas posiciones representa un patrón ecológico diferente con interacciones directas e indirectas (Baker et al. 2015, Simmons et al. 2019a). Por ejemplo, en los motivos compuestos por tres especies (motivos número 2 y 3), un polinizador puede visitar dos especies de plantas (posición número 4), visitar una planta y competir con otro polinizador (posición número 6) o hacer ambas cosas (posición 4 y 6 simultáneamente) (Fig. 2.5). Por lo tanto, la frecuencia de posiciones que ocupa una especie define su papel ecológico en la comunidad (Simmons et al. 2019a). Incluso si diferentes especies ocupan la misma posición, el motivo sigue conservando su función ecológica. Por ejemplo, en el motivo integrado por dos plantas y una especie polinizadora, las especies de plantas podrían ser "A y B" o "C y D", pero el motivo seguiría indicando competencia o facilitación entre las dos plantas. La ventaja de los motivos es que son significativamente más sensibles a los cambios en la estructura de la red que los índices de red comúnmente utilizados (ej., el anidamiento o la distribución de grado de la red) (Simmons et al. 2019a). Además, el análisis de motivos ocurre a nivel de mesoescala lo que permite considerar la existencia potencial de interacciones indirectas no detectadas por los índices de red a macroescala (es decir, anidamiento, conectividad) y que se pierden en los índices a nivel de especie, como la fuerza de las especies (Simmons et al. 2019a). La detección de interacciones indirectas en el análisis de redes es importante debido a su gran

influencia en los procesos de coextinción, coevolución, y coexistencia en las comunidades (Aschehoug & Callaway 2015, Guimarães et al. 2017, Pires et al. 2020).

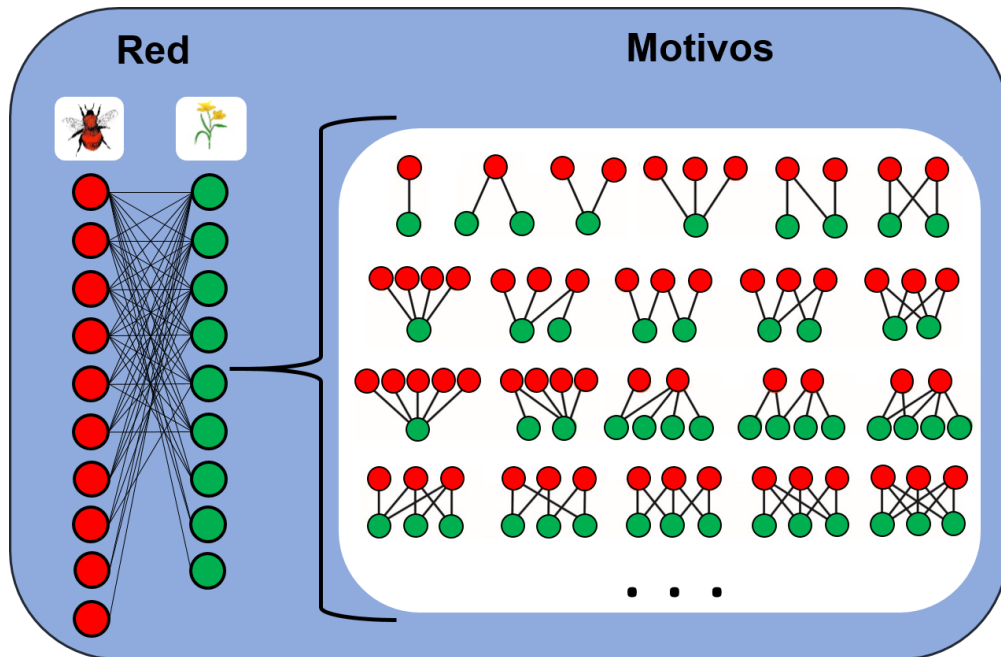


Figura 2.4. Ejemplo de motivos, subredes compuestas por un pequeño número de especies que exhiben patrones particulares de interacción, obtenidos al dividir una red completa de interacción planta – polinizador (izquierda). Los círculos representan especies de polinizadores (círculos rojos) y plantas (círculos verdes). Los enlaces entre círculos indican interacciones entre especies. Los tres puntos debajo de los motivos indican que la red de interacción puede estar integrada por un mayor número de motivos diferentes del que se observa en la figura.

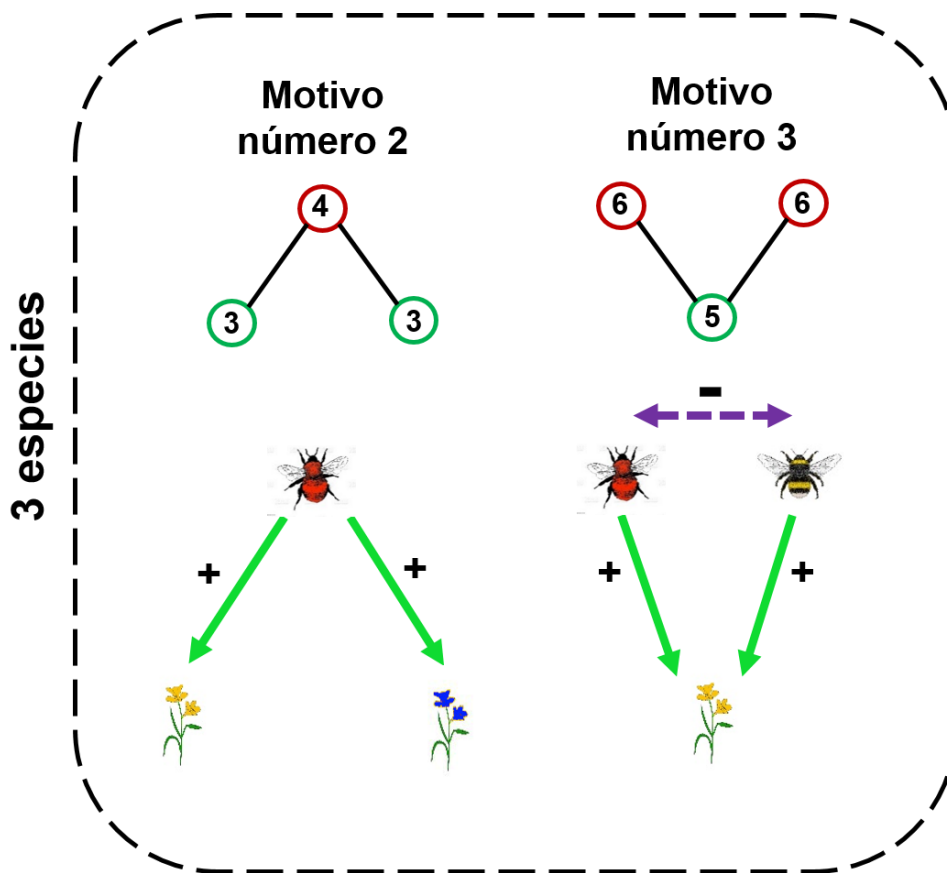


Figura 2.5. Ejemplo de posiciones que representan diferentes patrones ecológicos. En los motivos compuestos por tres especies, un polinizador puede visitar dos especies de plantas (posición número 4 en el motivo número 2) o/y visitar una planta y competir con otro polinizador (posición número 6 en el motivo número 3). Las flechas verdes indican las interacciones de polinización y las flechas moradas discontinuas indican la competencia entre polinizadores.

¿Existe una asociación entre la presencia del mutualismo tripartito y elevados niveles de complejidad y diversidad de redes mutualistas?

Para comprobarlo, comparé la complejidad de las redes y la importancia ecológica de los miembros del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial entre sitios de bosque intacto con y sin la interacción.

Complejidad de la red - La estructura de la red está influenciada por el número y frecuencia de motivos (Simmons et al. 2019b). Las redes compuestas por un mayor número de motivos diferentes forman estructuras más complejas porque albergan más interacciones ecológicas directas e indirectas diferentes (Milo et al. 2002, Simmons et al. 2019a, Jácome-Flores et al. 2020). Asimismo, la complejidad de la red aumenta con la frecuencia de los motivos de mayor tamaño (aquellos compuestos por seis especies) porque involucran más interacciones que los motivos más pequeños (Fig. 2.6). Para estimar la complejidad de la red, describí su

estructura utilizando las frecuencias de los motivos que contenían entre dos y seis especies, lo que dio como resultado 44 posibles combinaciones de motivos (lista completa de motivos en Apéndice 2: Fig. A2.1). Calculé las frecuencias de motivos para cada red de polinización y dispersión de semillas utilizando el paquete bmotif del programa R (Simmons et al. 2019b, R Core Team 2021). Los recuentos de motivos fueron normalizados para controlar por el tamaño de la red. Para ello, estimé la frecuencia de motivos utilizando el método “normalize_sum”, que expresa los recuentos como la proporción de motivos en la red y considera si las especies están más involucradas en motivos más pequeños o más grandes (Simmons et al. 2019b, R Core Team 2021).

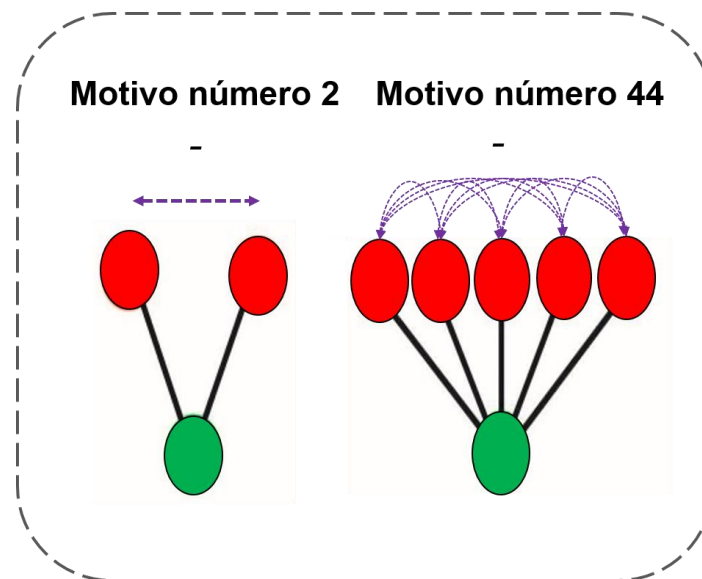


Figura 2.6. Ejemplo del número de interacciones directas e indirectas potenciales detectadas en motivos de diferente tamaño. Los motivos de mayor tamaño (compuestos por seis especies) suelen implicar más interacciones que los motivos de menor tamaño. Por ejemplo, el motivo número 2 implica tres interacciones (dos directas y una potencial indirecta) frente a las 15 interacciones que contiene el motivo número 44 (cinco directas y diez potenciales indirectas). Las líneas negras continuas indican interacciones directas y las flechas moradas discontinuas indican interacciones indirectas entre especies.

Para evaluar la disimilitud en las frecuencias de los motivos entre los sitios tripartitos, utilicé un análisis multivariado no paramétrico de la varianza (PERMANOVA). Este método permite comparar la disimilitud entre los grupos y dentro de ellos utilizando un pseudoestadístico F (Anderson 2001). Para cuantificar las diferencias entre las estructuras de red, utilicé la disimilitud de Bray-Curtis porque es una medida robusta de disimilitud para múltiples propiedades ecológicas, incluyendo los motivos (Anderson 2001, Baker et al. 2015,

Simmons et al. 2019a). Realicé una prueba PERMANOVA considerando los sitios tripartitos como factor fijo, estratificado por sitio para tener en cuenta las medidas repetidas. El test PERMANOVA fue llevado a cabo con la función `adonis2` del paquete `vegan` del programa R (Oksanen et al. 2013, R Core Team 2021), y utilizando 9999 permutaciones para generar la distribución nula. Por último, validé los resultados de la prueba PERMANOVA estimando la dispersión en los datos utilizando la función `betadisp` del paquete `vegan` y probando con un ANOVA de una vía si la dispersión variaba entre los sitios tripartitos utilizando el paquete `lme4` del programa R (Bates et al. 2014). No encontré diferencias significativas entre los valores de dispersión, lo que indica que los resultados del PERMANOVA no se deben a una dispersión heterogénea de los datos.

Importancia ecológica de los miembros de la interacción colibrí-muérdago-marsupial -

Como consecuencia de la estrecha relación entre colibrí-muérdago-marsupial, la reducción de la abundancia o la alteración del comportamiento de cualquiera de ellos podría interrumpir este mutualismo tripartito. Por lo tanto, espero que la importancia ecológica de estas especies (es decir, una combinación del número de interacciones y las posiciones que ocupan en los motivos) cambie entre los sitios de bosque intacto.

En primer lugar, para cada miembro del mutualismo tripartito, comprobé si el número de interacciones y el número de especies que interactuaban con ellos difería entre los sitios tripartitos. Para el colibrí y el marsupial, construí dos modelos de regresión utilizando las variables anteriores como variables respuestas y los sitios tripartitos como factor fijo. En cambio, para el muérdago, construí tres modelos de regresión porque dicha especie está involucrada en las interacciones de polinización y dispersión de semillas. Además, utilicé Poisson o binomial negativa como distribución de la variable respuesta e incluí "Sitio" como factor aleatorio en los modelos.

En segundo lugar, calculé el número de posiciones ocupadas por el colibrí, el muérdago y el marsupial utilizando el paquete `bmotif`. Como las posiciones de los motivos representan diferentes efectos directos e indirectos y tienen diferentes significados ecológicos (Baker et al. 2015, Simmons et al. 2019a), cuanto mayor sea la variedad de posiciones que ocupa una especie, mayor será su participación en diferentes vías que regulan la estructura y la funcionalidad de la red (Sun et al. 2020). El número de posiciones ocupadas por el colibrí y el marsupial se calculó a partir de las redes de polinización y dispersión de semillas, respectivamente, mientras que el número de posiciones ocupadas por el muérdago se calculó a

partir de ambas redes. Además, los datos fueron normalizados mediante el método "sum" para controlar la tendencia a que las especies con más interacciones ocupen más posiciones que aquellas con menos interacciones. Este método expresa los recuentos de posiciones como la proporción del total de ocurrencias de una especie en cualquier posición. Para comprobar la diferencia entre los sitios tripartitos construí modelos de regresión para cada especie con el número de posiciones como variable respuesta y los sitios tripartitos como factor fijo. Utilicé Poisson o binomial negativa como distribución de la variable respuesta e incorporé "Sitio" como factor aleatorio en los modelos.

¿La ruptura de dicho mutualismo por ungulados no nativos está asociado a una alteración de la complejidad de las redes mutualistas?

Para comprobar si los ungulados no nativos producen efectos en cascada en la comunidad al alterar el mutualismo tripartito, comparamos la complejidad de la red y la importancia ecológica de los miembros del mutualismo tripartito entre los sitios de bosque intacto con el mutualismo y los sitios con ungulados no nativos. La complejidad de la red y la importancia ecológica de los miembros del mutualismo tripartito se estimaron utilizando la misma metodología explicada anteriormente.

2.3 Resultados

Descripción general de las redes – En general, los sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito presentaron 2 y 1,3 veces más especies que en los sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito (Tabla 2.6; $z = 5,88$, $P < 0,001$; $z = 1,07$, $P = 0,285$, respectivamente) y al menos 1,6 y 1,5 veces más especies que en los sitios con ungulados no nativos (Tabla 2.6; $z = -5,11$, $P < 0,001$; $z = -1,736$, $P = 0,082$, respectivamente). Similarmente, los sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito presentaron 3,8 y 1,7 veces más interacciones de polinización y dispersión de semillas que los sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito (Tabla 2.6; $z = 5,16$, $P < 0,001$; $z = 5,72$, $P < 0,001$, respectivamente) y casi 2 veces más interacciones que en sitios con ungulados (Tabla 2.6; $z = -2,94$, $P < 0,05$; $z = -2,45$, $P < 0,05$, respectivamente). Del total de 5101 interacciones de polinización registradas, la mayoría de ellas (56%) se registraron en sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito, mientras que sólo el 15% se registró en sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito, y el 29% en sitios con ungulados no nativos. Del mismo modo, gran parte de las 2482 interacciones de dispersión de semillas se registraron en sitios con el mutualismo tripartito (51%), en

comparación con el 22% registradas en sitios sin el mutualismo tripartito y el 27% en sitios con ungulados. Además, en los sitios con el mutualismo tripartito se registraron 3,1 y 1,5 veces más interacciones únicas de polinización y dispersión de semillas que en los sitios sin dicha interacción (Tabla 2.6; $z = 6,47$, $P = < 0,001$; $z = 1,45$, $P = 0,147$, respectivamente) y al menos 2,1 y 1,9 veces más interacciones únicas que en los sitios con ungulados (Tabla 2.6; $z = -4,81$, $P = < 0,001$; $z = -2,39$, $P = 0,016$, respectivamente; Fig. 2.7).

Tabla 2.6. Parámetros de la red de polinización y dispersión de semillas para cada sitio. CMT: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito; SMT: sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito; U: sitios con ungulados no nativos.

Tratamiento	Red	Variable	Valor (media \pm desvío estándar)
CMT	Polinización	N° de especies	67 \pm 4.5 (21 \pm 2.4 plantas, 46 \pm 3.1 pol.)
		N° de interacciones	708.5 \pm 119.8
		N° de interacciones únicas	107.3 \pm 11.3
	Dispersión de semillas	N° de especies	9.75 \pm 0,60 (7 \pm 0,4 plantas, 2.8 \pm 0,2 disp.)
		N° de interacciones	315 \pm 19.9
		N° de interacciones únicas	10 \pm 0,8
SMT	Polinización	N° de especies	34.25 \pm 8.6 (9.8 \pm 1 plantas, 24.5 \pm 2.9 pol.)
		N° de interacciones	187.5 \pm 39.3
		N° de interacciones únicas	34.3 \pm 6.2
	Dispersión de semillas	N° de especies	7.3 \pm 0,3 (3.7 \pm 0,3 plantas, 3.7 \pm 0,3 disp.)
		N° de interacciones	182.7 \pm 34.1
		N° de interacciones únicas	7 \pm 0,3
U	Polinización	N° de especies	40,25 \pm 2.3 (11.5 \pm 0,6 plantas, 28.8 \pm 2.3 pol.)
		N° de interacciones	379.3 \pm 62
		N° de interacciones únicas	50,5 \pm 5.6
	Dispersión de semillas	N° de especies	6.25 \pm 1.3 (4 \pm 0,3 plantas, 2.25 \pm 0,6 disp.)
		N° de interacciones	169 \pm 33
		N° de interacciones únicas	5.25 \pm 1.3

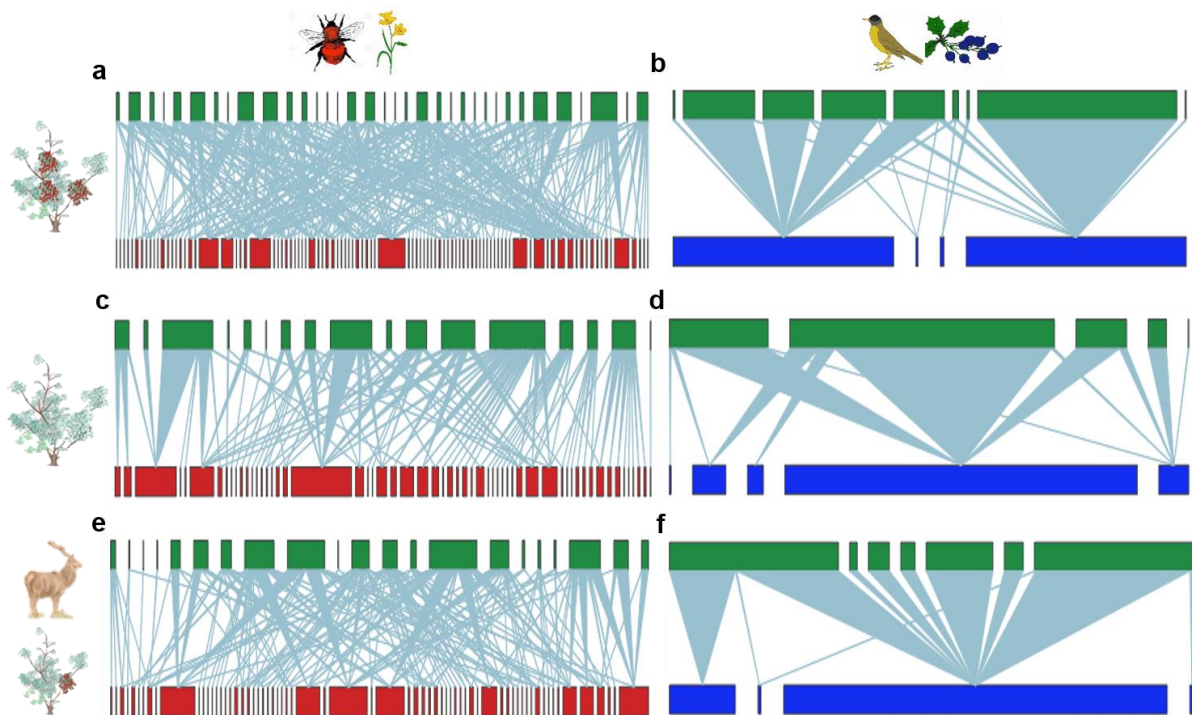


Figura 2.7. Los sitios con el mutualismo tripartito registraron más interacciones individuales en las redes de polinización y dispersión de semillas. Sitios de arriba a abajo: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito (a-b), sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito (c-d), y sitios con ungulados no nativos (e-f). Los paneles de la izquierda y la derecha corresponden a las redes de polinización y dispersión de semillas, respectivamente. En cada panel, las cajas representan las especies de plantas (verde), los polinizadores (rojo) y los dispersores de semillas (azul). Las líneas representan las interacciones ecológicas entre especies. El ancho de las cajas es proporcional al número de interacciones.

¿Existe una asociación entre la presencia del mutualismo tripartito y elevados niveles de complejidad y diversidad de redes mutualistas?

Complejidad de la red - La complejidad de las redes de polinización y de dispersión de semillas difirió entre los sitios tripartitos (pseudo- $F_{1,7} = 7,021$, $P = 0,029$; pseudo- $F_{1,6} = 4,794$, $P = 0,028$). En los sitios con el mutualismo tripartito, tanto las redes de polinización como las de dispersión de semillas presentaron un 35% y un 47% más de motivos distintos respectivamente, y tuvieron mayores interacciones ecológicas directas e indirectas que las redes en sitios sin dicha interacción (Fig. 2.8a y 2.8c). Además, en los sitios con el mutualismo tripartito, las redes de polinización y de dispersión de semillas presentaron un 29% y un 12% más frecuencia de motivos de mayor tamaño que en los sitios sin el

mutualismo tripartito (Fig. 2.8b y 2.8d), lo que sugiere una mayor proporción de motivos de interacciones complejas que sustentan estas redes.

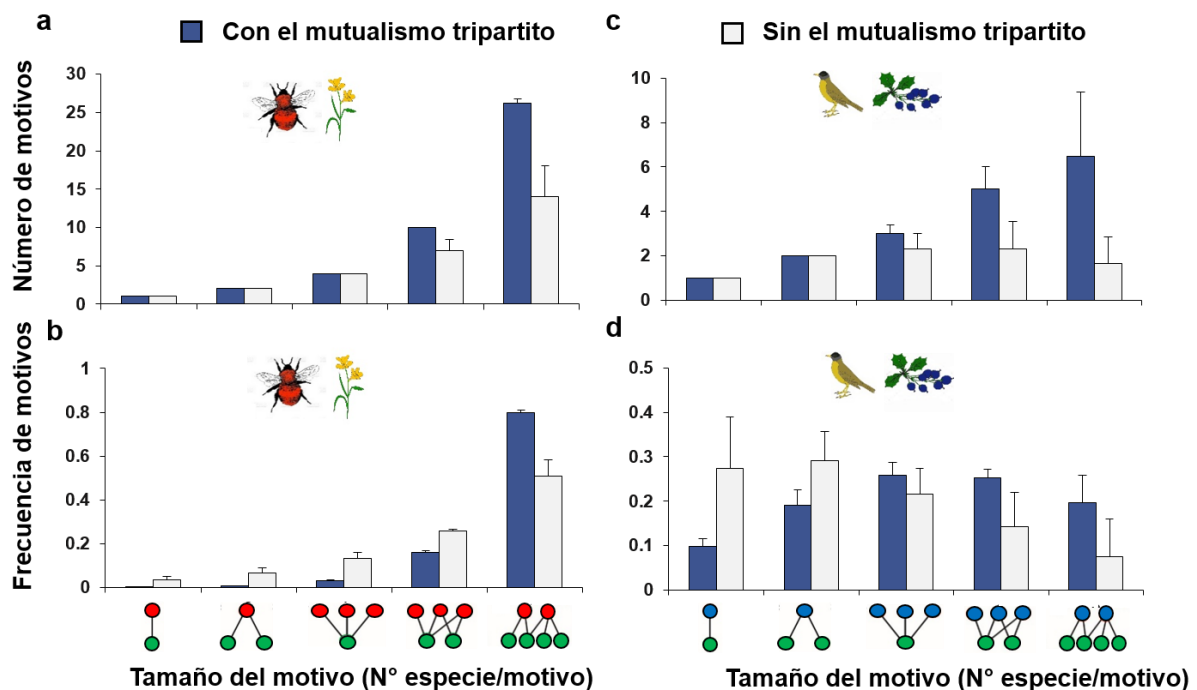


Figura 2.8. La complejidad de las redes de polinización y dispersión de semillas fue mayor en los sitios de bosques intactos con el mutualismo tripartito. Número y frecuencia relativa de motivos relacionados con su tamaño (número de nodos-especies-por motivo) para las redes de polinización (a y b) y de dispersión de semillas (c y d). De izquierda a derecha: motivos integrados por dos, tres, cuatro, cinco y seis especies. El color de las barras representa los sitios: sitios de bosque intacto con (violeta) y sin (blanco) el mutualismo tripartito. Las barras representan la media \pm el error estándar.

Importancia ecológica de los miembros de la interacción colibrí-muérdago-marsupial - El número de interacciones del muérdago, el número de especies que interactúan con él y su número de posiciones ocupadas en las redes de polinización difirió entre los sitios tripartitos ($z = 6,923$, $P < 0,001$; $z = 2,17$, $P < 0,05$; $z = 3,452$, $P < 0,001$, respectivamente). En cambio, en las redes de dispersión de semillas, el número de interacciones del muérdago difirió entre los sitios tripartitos ($z = 3,21$, $P < 0,001$) pero no su número de posiciones ocupadas ($z = 1,154$, $P = 0,248$). En los sitios con el mutualismo tripartito, el muérdago tuvo 9,6 y 17,5 veces más número de interacciones de polinización y dispersión de semillas (Fig. 2.9a), interactuó con 3 veces más número de especies ($3,75 \pm 0,63$, $8 \pm 1,3\%$ de todas las especies) y ocupó 10 y 1,76 veces más número de posiciones de polinización y dispersión de semillas (Fig. 2.9b) que en los sitios sin este mutualismo tripartito ($1,25 \pm 0,5$ especies, $5 \pm 1,8\%$ de

todas las especies). El colibrí registró 11,9 veces más número de interacciones (Fig. 2.9a) y ocupó 29 veces más número de posiciones (Fig. 2.9b) en los sitios con el mutualismo tripartito que en los sitios sin dicho mutualismo ($z = 6,810, P < 0,001$; $z = 4,270, P < 0,001$). Además, el marsupial estuvo involucrado en 15 veces más interacciones en los sitios con el mutualismo tripartito que en sitios sin este mutualismo (Fig. 2.9a; $z = 2,958, P < 0,05$), mientras que el número de especies con las que interactuó ($3,5 \pm 0,60$ especies, $52 \pm 11,9\%$ de todas las especies en sitios con el mutualismo tripartito; $1,5 \pm 0,6$ especies, $39,5 \pm 15,7\%$ de todas las especies en sitios sin el mutualismo tripartito; $z = 1,736, P = 0,082$) y su número de posiciones ocupadas no difirió entre estos sitios (Fig. 2.9b; $z = 1,480, P = 0,139$). Estos resultados sugieren una mayor importancia ecológica del muérdago y del colibrí en presencia del mutualismo tripartito porque ejercen más interacciones ecológicas directas e indirectas en la comunidad.

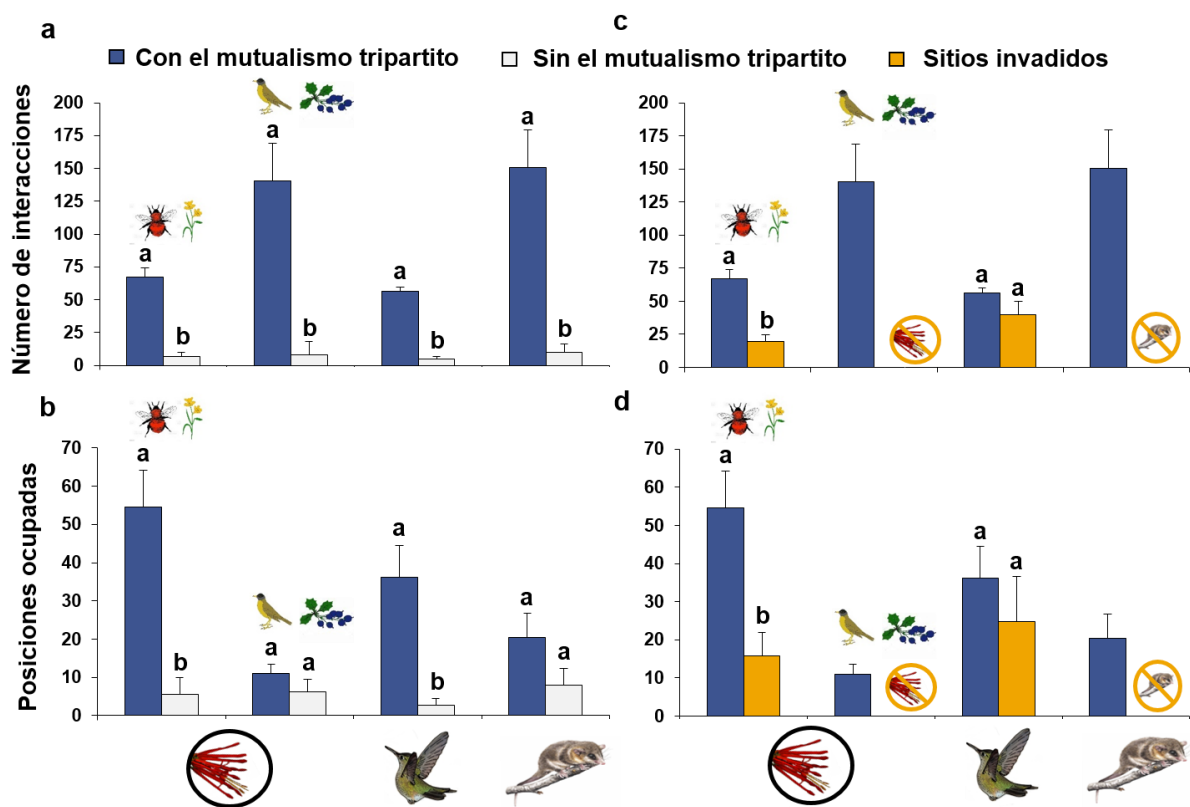


Figura 2.9. La importancia ecológica -número de interacciones y número de posiciones ocupadas en la red- del muérdago, el colibrí y el marsupial fue mayor en los sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito que en los sitios sin dicho mutualismo (a-b) y que en los sitios con ungulados no nativos (c-d). El color de la barra representa los sitios: sitios de bosque intacto con (violeta) y sin (blanco) el mutualismo tripartito y sitios con ungulados no nativos (naranja). De izquierda a derecha:

muérdago (polinización y dispersión de semillas), colibrí, y marsupial. Las letras significan una diferencia significativa entre sitios. Las barras representan la media \pm el error estándar.

¿La ruptura de dicho mutualismo por ungulados no nativos está asociado a una alteración de la complejidad de las redes mutualistas?

Complejidad de la red - La complejidad de las redes de polinización difirió entre los sitios intactos con el mutualismo y sitios con ungulados no nativos (pseudo- $F_{1,7} = 5,032$, $P = 0,027$), mientras que las diferencias en complejidad de las redes de dispersión de semillas sólo fueron marginales entre dichos sitios (pseudo- $F_{1,7} = 3,849$, $P = 0,094$). En los sitios con el mutualismo tripartito las redes de polinización y dispersión de semillas presentaron un 23% y 59% más motivos respectivamente, que las redes en los sitios con ungulados, y, en consecuencia, más interacciones ecológicas directas e indirectas que sustentan a la comunidad (Fig. 2.10a y 2.10c). Además, tanto las redes de polinización como las de dispersión de semillas exhiben un 12% y un 11% más de frecuencia de motivos de mayor tamaño que incluyen seis especies en los sitios con el mutualismo tripartito que en los sitios con ungulados no nativos (Fig. 2.10b y 2.10d).

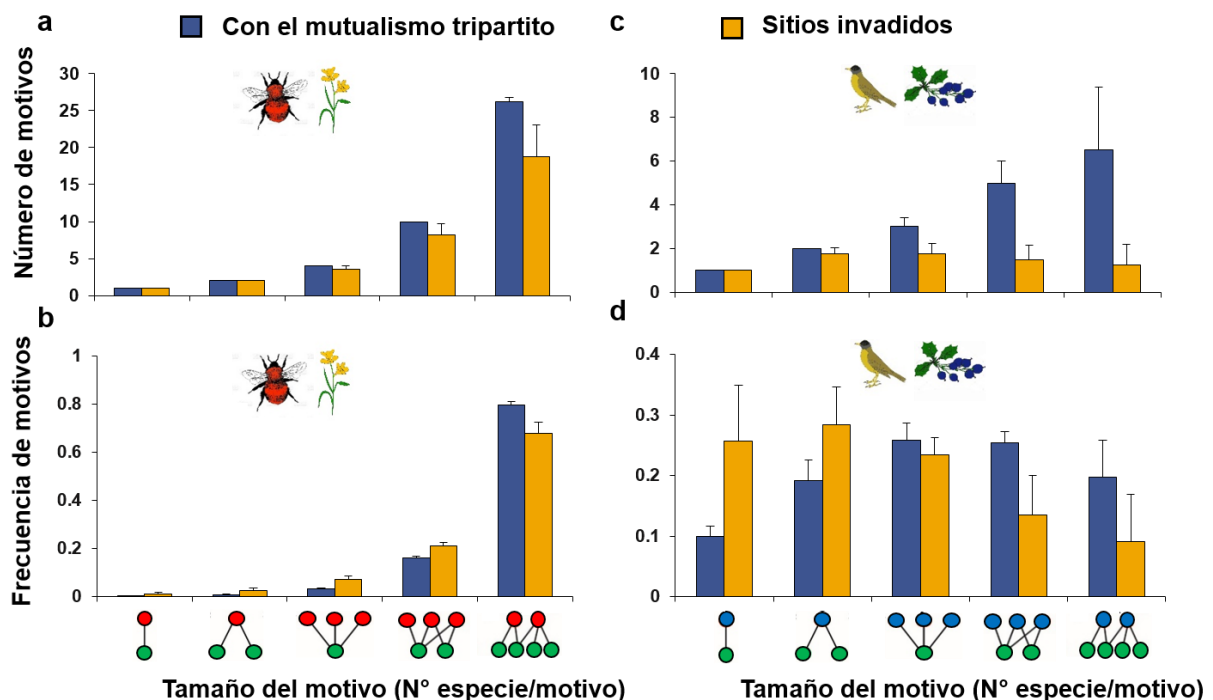


Figura 2.10. La complejidad de las redes de polinización y dispersión de semillas fue mayor en los sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito que en los sitios con ungulados no nativos. Número y frecuencia relativa de motivos relacionados con su tamaño (número de nodos-especies-por motivo) para las redes de polinización (a y b) y de dispersión de semillas (c y d). De izquierda a

derecha: motivos integrados por dos, tres, cuatro, cinco y seis especies. El color de las barras representa los sitios: sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito (violeta) y sitios con ungulados no nativos (naranja). Las barras representan la media \pm el error estándar.

Importancia ecológica de los miembros de la interacción colibrí-muérdago-marsupial - El número de interacciones del muérdago y su número de posiciones ocupadas en las redes de polinización difirió entre los sitios intactos con el mutualismo tripartito y los sitios con ungulados no nativos ($z = -5,55$, $P < 0,001$; $z = -2,998$, $P = 0,002$), mientras que el número de especies con las que interactuó no difirió entre dichos sitios ($1,5 \pm 0,3$ especies, $5,25 \pm 1,3\%$ de todas las especies en los sitios con ungulados; $z = 1,897$, $P = 0,057$). En los sitios con el mutualismo tripartito, el muérdago presentó 3,4 veces más interacciones de polinización (Fig. 2.9c) y ocupó al menos 3,5 veces más posiciones que en los sitios con ungulados (Fig. 2.9d), lo que sugiere una mayor importancia ecológica de esta especie en las redes de polinización. Además, el colibrí presentó 1,4 veces más número de interacciones en los sitios con el mutualismo tripartito que en los sitios con ungulados (Fig. 2.9c; $z = -1,66$, $P = 0,095$). Por otro lado, el número de posiciones ocupadas por el colibrí no cambió entre los sitios con el mutualismo tripartito y los sitios con ungulados (Fig. 2.9d; $z = 0,258$, $P = 0,796$; $z = -0,891$, $P = 0,373$). Además, no capturé individuos de *D. gliroides* en ninguna temporada de campo en los sitios con ungulados, lo que indica que el marsupial puede estar ecológicamente extinto en estos sitios (Rodríguez-Cabal & Branch 2011). En consecuencia, no pude evaluar estadísticamente la importancia ecológica del marsupial y del muérdago en las redes de dispersión de semillas entre los sitios intactos y sitios con ungulados.

2.4 Discusión

Los ecosistemas de todo el mundo están ganando y perdiendo especies, por lo tanto, entender cómo ambos procesos afectan simultáneamente al funcionamiento del ecosistema es crucial para determinar su respuesta frente a las actividades humanas actuales y futuras. Los resultados del presente capítulo sugieren que el mutualismo colibrí-muérdago-marsupial podría incrementar la diversidad de especies y la diversidad de interacciones de las redes de polinización y dispersión de semillas en los bosques templados de Patagonia debido al papel ecológico clave que desempeñan sus miembros. Además, los resultados indican que la introducción de ungulados no nativos y la pérdida de este mutualismo tripartito podrían dar lugar a diversos efectos directos e indirectos que conducen al desmontaje nodo a nodo de las redes de polinización y dispersión de semillas en el bosque templado de Patagonia. Esta

pérdida de mutualismos clave debido a la introducción de especies puede desencadenar efectos en cascada que producen coextinciones de especies y el desensamble de las redes mutualistas. Finalmente, los resultados enfatizan cómo las estrategias a largo plazo para conservar la biodiversidad deben centrarse no sólo en el mantenimiento de los elementos que forman la biodiversidad, sino también en las interacciones entre estos elementos, como las interacciones interespecíficas, las redes tróficas, y las redes ecológicas (Memmott et al. 2007).

¿Existe una asociación entre la presencia del mutualismo tripartito y elevados niveles de complejidad y diversidad de redes mutualistas?

Las redes de polinización y dispersión de semillas fueron más complejas en los sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito que en los sitios de bosque intacto sin dicho mutualismo. La diversidad de motivos y la frecuencia de los motivos más grandes sugieren que las redes son más complejas en presencia de la interacción colibrí-muérdago-marsupial, con un rango más amplio y un mayor número de interacciones directas e indirectas (Milo et al. 2002, Simmons et al. 2019b). Esta evidencia asocia la presencia del mutualismo tripartito no sólo con un aumento en la riqueza de especies de la comunidad, sino que la gran diversidad de tipos de interacciones encontradas podría alterar la dinámica de propagación de disturbios, probablemente alterando la vulnerabilidad de las especies a las perturbaciones (Vieira & Almeida-Neto 2015, Pires et al. 2020). Sin embargo, esto depende en última instancia de la manera en que se distribuyen dichas interacciones en la red. Además de potencialmente afectar la persistencia de las especies y la estabilidad de la comunidad, la diversidad de interacciones podría estar influyendo en los procesos evolutivos. Las interacciones ecológicas directas y, principalmente las indirectas, desempeñan un papel esencial en la selección de rasgos en los mutualismos que presentan socios múltiples, como las interacciones de polinización y dispersión de semillas (Guimarães et al. 2011, 2017). De esta manera, se podría especular que en los bosques intactos con el mutualismo colibrí-muérdago-marsupial, es probable que el alto número de vías indirectas desencadene tasas más lentas de evolución de los rasgos que en los sitios sin este mutualismo (Guimarães et al. 2011, 2017). En consecuencia, las especies de los sitios de bosque intacto con el mutualismo tripartito podrían tener una menor capacidad de adaptación de sus rasgos y, por lo tanto, podrían ser más vulnerables a los cambios ambientales rápidos que aquellas especies de los sitios sin el mutualismo tripartito. Por otro lado, la baja vulnerabilidad de las especies a los cambios ambientales rápidos en los sitios sin mutualismo tripartito, desencadenado por un

menor número de interacciones indirectas, podría reflejar la previa extinción local de las especies más susceptibles, siendo las especies restantes aquellas que representan el núcleo de la red (Aizen et al. 2012).

Cuando el muérdago se encuentra en alta abundancia, el muérdago y el colibrí son miembros clave de la comunidad porque ocupan un elevado número de posiciones y están involucradas en muchas interacciones directas e indirectas. El aumento de su importancia ecológica puede ser inducido por la distribución espacial del muérdago y la historia coevolutiva entre ellos. Dado que la población de muérdago tiene una distribución agrupada (García et al. 2009, Sasal et al. 2021), la alta abundancia de muérdago en ciertos parches puede aumentar su probabilidad de interactuar directa e indirectamente con otras especies (Vázquez et al. 2009). Además, la interacción muérdago-colibrí es más exclusiva y especializada en invierno porque las flores de muérdago son el único recurso de néctar disponible para el colibrí, promoviendo su permanencia en parches con alta abundancia de muérdago (Smith-Ramírez 1993, Rodríguez-Cabal et al. 2013). Por el contrario, el papel de dispersor de semillas del marsupial fue similar en sitios con y sin el mutualismo tripartito a pesar de las diferencias en su número de interacciones. Su amplia dieta de insectos, huevos de aves y frutos carnosos (Fontúrbel et al. 2012) puede permitir al marsupial mantener una población estable sin consumir gran cantidad de frutos de muérdago en aquellos sitios con baja densidad de muérdago. Sin embargo, cuando se cumplen los requisitos mínimos del hábitat adecuados para su supervivencia, la abundancia del marsupial incrementa junto con la abundancia de plantas de muérdago, aumentando el número de interacciones entre ambas especies (Rodríguez-Cabal & Branch 2011). De hecho, la presencia del marsupial y del muérdago en estos lugares puede indicar una fuente potencial de la distribución contagiosa del muérdago (García et al. 2009, Amico et al. 2011).

¿La ruptura de dicho mutualismo por ungulados no nativos está asociado a una alteración de la complejidad de las redes mutualistas?

Los ungulados no nativos fueron asociados a efectos en cascada en las redes de polinización e impactos marginales en las redes de dispersión de semillas al interrumpir el mutualismo tripartito. Los resultados sugieren que al ramonear preferentemente sobre *A. chilensis*, los ungulados no nativos afectan indirectamente a la persistencia del muérdago provocando la extinción ecológica del marsupial, creando un bucle de retroalimentación negativa que impide el reclutamiento del muérdago (Tabla 2.3) y reduciendo así su importancia ecológica en las

redes de polinización y dispersión de semillas. A pesar de no encontrar una reducción significativa de la importancia ecológica del colibrí en los sitios con ungulados, la ausencia de regeneración de la población de muérdago podría afectar sin duda la permanencia de esta ave migratoria en el futuro. Las redes de polinización fueron más simples en los sitios con ungulados que en los sitios con el mutualismo tripartito, presumiblemente porque estos sitios soportan menos interacciones directas e indirectas. Por ejemplo, la erosión total de los motivos número "17" y "44" de las redes en los sitios con ungulados, que representan especies de polinizadores que visitan cuatro y cinco especies de plantas respectivamente, indica una reducción potencial de interacciones de polinizadores generalistas y una reducción potencial de competencia entre plantas especialistas. Además, la baja diversidad de interacciones encontrada en los sitios con ungulados concentra el flujo de energía en pocas vías, lo que podría modificar la capacidad de respuesta de la comunidad a perturbaciones (Vieira & Almeida-Neto 2015, Pires et al. 2020). Asimismo, la simplificación de las redes ecológicas se ha demostrado para otras perturbaciones humanas (ej., fragmentación y cambios en el uso del suelo) e interacciones ecológicas (depredación, parasitismo y polinización) (Fenoglio et al. 2012, Weiner et al. 2014, Galiana et al. 2014). Por otro lado, los resultados no sugieren efectos en cascada en las redes de dispersión de semillas, a pesar de la alta vulnerabilidad de este bosque a la pérdida de interacciones mutualistas. El impacto de los ungulados no nativos en las redes de dispersión de semillas puede verse atenuado por la fuerte presencia del fío fío (*Elaenia albiceps*), el ave más generalista y dispersora de semillas de estos bosques (Amico & Aizen 2005). Esta ave migratoria es abundante en verano, coincidiendo con la maduración de los frutos y jugando un papel crítico en la regeneración del bosque (Bravo et al. 2015). A pesar de la importancia de esta ave, el marsupial consume frutos que no pueden ser detectados o ingeridos por las aves debido a su color o al tamaño de sus semillas e incluso aumenta la tasa de germinación de las semillas (Amico et al. 2009, 2011).

Uno de los patrones más interesantes encontrados en este capítulo es la presencia de valores intermedios de complejidad en los sitios con ungulados no nativos en comparación con los sitios de bosque intacto con y sin el mutualismo tripartito. Estos resultados podrían brindar sustento a que el muérdago se encontraba en alta densidad y había elevada frecuencia la interacción clave previamente en los sitios con ungulados. De esta manera, los valores intermedios de complejidad podrían deberse a un efecto de legado causado por la ruptura de la interacción clave. Por otro lado, debido a que el estado natural del bosque está históricamente relacionado con la distribución agrupada del muérdago, entonces los estados forestales de alta

y baja complejidad serían el patrón natural en ausencia de un escenario de perturbación. Esto último sugiere que los ungulados no nativos están homogeneizando el bosque hacia el estado más simple; sin embargo, su impacto en parches forestales más simples sin este mutualismo tripartito sigue siendo desconocido. La comparación entre sitios de bosque intacto sin el mutualismo tripartito y sitios de bosque con ungulados no nativos sin el mutualismo tripartito (donde no hubiese registros de que previamente se encontraba el muérdago en alta densidad), permitiría entender si los ungulados están llevando el bosque a un estado aún más simple de complejidad.

El presente estudio es el primero en evaluar los impactos de especies no nativas en las interacciones mutualistas combinando dos procesos ecológicos mediante un enfoque de red y detectando posibles efectos indirectos. Sin embargo, a pesar del elevado esfuerzo de muestreo realizado para representar dos procesos ecológicos a escala de red, sería deseable un mayor número de réplicas para mejorar la precisión de los análisis estadísticos. Desafortunadamente, al igual que este estudio, otros trabajos que consideran diferentes interacciones ecológicas suelen contar con un número bajo de réplicas (Correia et al. 2018, de Oliveira Lima et al. 2020). Por otro lado, el diseño experimental del presente capítulo no permite atribuir una relación de total causalidad entre los resultados encontrados con la presencia y ruptura del mutualismo clave. De esta manera, los resultados encontrados podrían ser debido a combinación de factores como la ruptura de la interacción clave y la herbivoría de ungulados sobre otras plantas del sotobosque. La presencia de un tratamiento donde se excluyan los miembros del mutualismo tripartito sería ideal para demostrar el papel clave del mutualismo, sin embargo, es imposible realizar este tipo de experimentos por cuestiones éticas, burocráticas y logísticas.

En este capítulo se demuestra el papel clave de un mutualismo entre un colibrí, un muérdago y un marsupial en el bosque templado patagónico. Reconocer los mutualismos claves es esencial para lograr la conservación de las comunidades debido a su papel en el mantenimiento de la estructura y la funcionalidad de las mismas, especialmente teniendo en cuenta las tasas actuales de pérdida de biodiversidad global y la propagación de especies invasoras (Díaz et al. 2019). Futuros estudios son necesarios para entender cómo los efectos de los mutualismos clave en la complejidad de las redes mutualistas afectan a otras propiedades de la comunidad. Por ejemplo, los cambios en la complejidad producidos por la ruptura de este mutualismo tripartito podrían afectar la estructura y, por ende, la forma en que

la comunidad responde a los disturbios. Asimismo, este mutualismo podría reducir el impacto de polinizadores no nativos en la comunidad al aumentar los socios potenciales con los que los polinizadores nativos asignan nuevas interacciones (Kaiser-Bunbury et al. 2010). Ambos objetivos, entender los efectos de la ruptura del mutualismo clave en la estructura y estabilidad de la comunidad y entender su rol en reducir el impacto de polinizadores no nativos, serán abordados en los capítulos 3 y 4 respectivamente. Además, la incorporación de los efectos indirectos en los estudios ecológicos es necesaria para aumentar el realismo de los impactos causados por el cambio global en las comunidades, ampliamente subestimado cuando sólo se consideran los efectos directos.



Capítulo 3 – Redes multicapa revelan efectos en cascada en la estructura y estabilidad de la comunidad tras la ruptura de la interacción colibrí-muérdago-marsupial

3.1 Introducción

Las interacciones ecológicas desempeñan un papel fundamental en la estructura y la dinámica de las comunidades (Pires et al. 2020, Guimarães 2020). Por lo tanto, comprender los mecanismos que perturban las interacciones entre especies y sus consecuencias en las propiedades de las comunidades es fundamental para hacer frente al cambio global. Esto es particularmente cierto en el caso de la polinización y la dispersión de semillas, dos tipos de interacciones mutualistas esenciales para el mantenimiento de la biodiversidad, la integridad de los ecosistemas y el bienestar humano (Bronstein 2001, Klein et al. 2007). En las últimas décadas, las actividades antrópicas están causando la ganancia y pérdida de especies en las comunidades que conllevan a un cambio en las interacciones entre especies (Wardle et al. 2011, Fricke & Svenning 2020). Como introduje en los capítulos anteriores, las especies no nativas pueden ocasionar la ruptura de los mutualismos y producir efectos en cascada sobre otras especies de la comunidad (Aslan et al. 2013, Traveset & Richardson 2014, Vanbergen et al. 2018). Sin embargo, a pesar de la extensa investigación en el campo de la ecología de las especies no nativas, todavía existe una comprensión limitada de los efectos de las especies no nativas en las propiedades de las comunidades ensambladas por interacciones mutualistas multitróficas.

Las redes de interacciones ecológicas son una herramienta imprescindible para abordar problemáticas a nivel comunidad. Sin embargo, aunque la mayoría de los estudios de redes ecológicas incluyen un solo tipo de interacción interespecífica (por ejemplo, planta-polinizador), llamadas “redes monocapa” (monolayer networks); recientes estudios han empezado a integrar dos o más interacciones ecológicas cuando ensamblan redes de interacciones (es decir, “redes multicapa” – multilayer networks –, Fig. 3.1; Pilosof et al. 2017, Timóteo et al. 2018, Hervías-Parejo et al. 2020). De esta manera, las redes multicapa están integradas por dos o más capas que representan diferentes interacciones ecológicas entre especies. En las redes multicapa, los nodos (especies en el presente caso) pueden estar conectados por enlaces dentro de una misma capa (es decir, “enlaces intracapa” – intralayer links –) o a través de enlaces entre capas (es decir, “enlaces entrecapa” – interlayer links –). Por consiguiente, al conectar especies de diferentes grupos tróficos, las redes multicapa proveen una perspectiva mejor integrada de las interacciones ecológicas que operan a nivel

comunidad (Pilosof et al. 2017). Esta metodología adquiere mayor importancia cuando se evalúan procesos estrechamente conectados, como lo son la polinización y la dispersión de semillas (Albrecht et al. 2014). Por ejemplo, disturbios que reduzcan la tasa de visita de polinizadores a plantas, podrían reducir la producción de frutos y, por lo tanto, la frugivoría por aves (Moegenburg & Levey 2003, Traveset & Richardson 2006). Estos efectos en cascada, es decir, aquellos efectos que se propagan en la comunidad tras afectar una especie, pueden ser mejor estudiados al evaluar de manera conjunta ambos tipos de interacciones ecológicas.

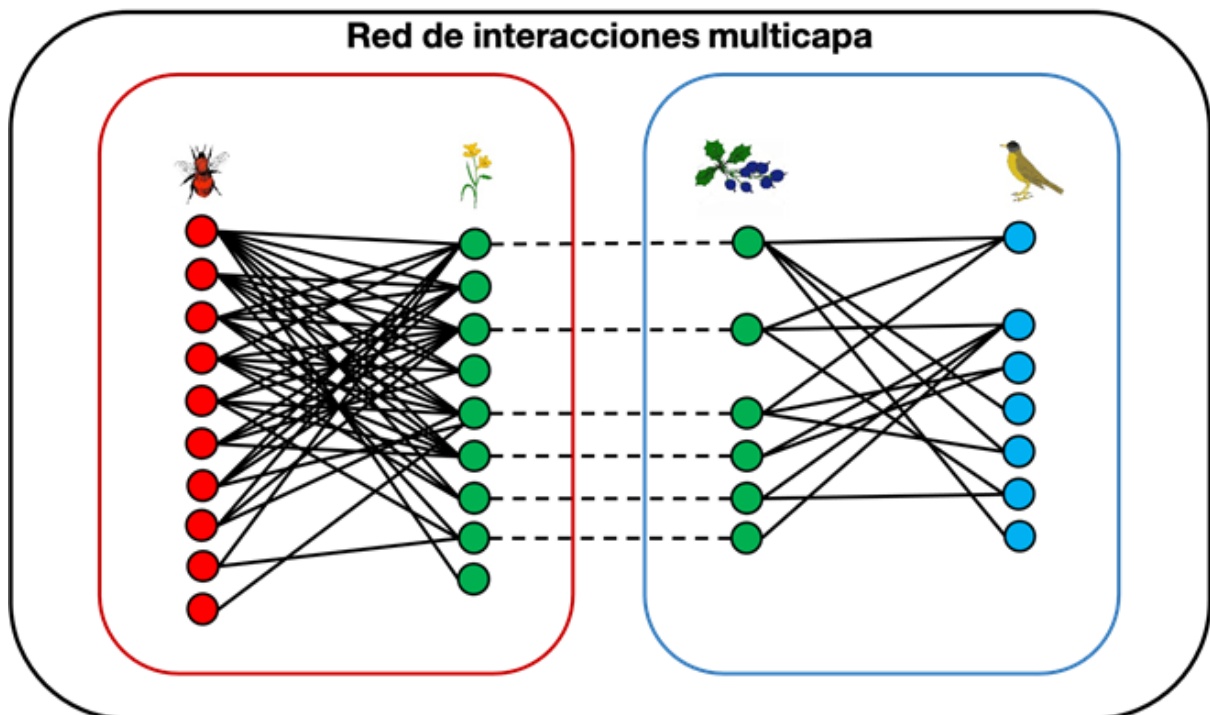


Figura 3.1. Ejemplo de una red de interacciones ecológicas multicapa. Los rectángulos rojo y azul indican diferentes capas de la red y representan interacciones de polinización y dispersión de semillas, respectivamente. Cada capa contiene en su interior enlaces intracapa (líneas sólidas) que representan interacciones entre polinizadores y plantas (círculos rojos y verdes), y entre plantas y dispersores de semillas (círculos verdes y celestes). Además, ambas capas están conectadas por enlaces entrecapa (líneas punteadas). En este caso, el enlace entrecapa surge cuando una planta es polinizada y dispersada por un animal.

Los efectos en cascada y la consecuente extinción secundaria de especies varían de acuerdo a la forma en que las especies interactúan entre sí en la comunidad (es decir, la estructura; Bascompte 2009, Thébault & Fontaine 2010). Principalmente, tres atributos estructurales son importantes para inferir sobre la dinámica de perturbaciones en una

comunidad: la conectividad, la modularidad, y el rol estructural de las especies. En primer lugar, una alta conectividad entre especies puede incrementar la probabilidad de efectos en cascada entre ellas (Vieira & Almeida-Neto 2015). De esta manera, la propagación de disturbios entre mutualismos podría ser mayor a medida que aumentan las interacciones entre especies mutualistas. En segundo lugar, ciertas especies forman módulos dentro de la comunidad cuando interactúan más frecuentemente entre ellas que con otras especies. Los módulos previenen que los disturbios se propaguen a lo largo de la comunidad y, por lo tanto, incrementa su tolerancia al colapso después de la extinción de especies (es decir, “robustez” – robustness –; Memmott et al. 2004, Pocock et al. 2012, Grilli et al. 2016, Gilarranz et al. 2017; pero vean Dormann et al. 2017). Finalmente, las especies desempeñan diferentes roles estructurales según la distribución de sus interacciones con especies dentro y entre módulos, lo que influye en la cohesión de la red y, por lo tanto, en la dinámica de los efectos en cascada (Olesen et al. 2007, Santamaría et al. 2014, Ramos-Robles et al. 2018). Por ejemplo, una alta proporción de especies que conectan módulos (es decir, especies conectoras) puede favorecer la propagación de perturbaciones entre módulos.

Adicionalmente, las propiedades de las comunidades pueden variar cuando la ruptura de interacciones esenciales ocurre (es decir, interacciones clave; Helfield & Naiman 2006, Valiente-Banuet et al. 2015) debido a su aporte a la estructura y la funcionalidad de las comunidades (Helfield & Naiman 2006, Valiente-Banuet et al. 2015, Prior & Palmer 2018, Clark et al. 2019). En el capítulo 2, encontré que la ruptura del mutualismo clave entre un colibrí, un muérdago y un marsupial por ungulados no nativos podría estar asociado a una pérdida en la diversidad de especies e interacciones directas e indirectas en las redes de polinización y dispersión de semillas. Sin embargo, cómo esta pérdida en diversidad de especies e interacciones afecta la manera en la cual polinizadores, plantas y dispersores de semillas interactúan y, por consiguiente, influyen los eventos de extinción de especies y efectos en cascada es aún desconocido.

En el presente capítulo, evalué como la introducción de ungulados no nativos y la subsiguiente pérdida del mutualismo clave colibrí-muérdago-marsupial afectan la estructura y la estabilidad de la comunidad (Fig. 3.2). Para entender mejor los efectos de la ruptura de este mutualismo, construí redes multicapa que incluyeron la polinización y dispersión de semillas entre especies como capas (red multicapa polinizador-planta-dispersor de semillas, Fig. 3.1). Particularmente, me pregunté: (1) ¿Los ungulados no nativos alteran la estructura de la red

polinizador-planta-dispersor de semillas? Espero que la conectividad entre mutualismos y el número de módulos sean mayores en la red correspondiente al bosque intacto con la interacción clave que en la red de bosque con ungulados no nativos. Además, espero que las especies cambien su rol estructural entre la red intacta y la red con ungulados. Evaluar la conectividad entre los mutualismos, la modularidad y el papel estructural de las especies me permitirá cuantificar el grado en que los polinizadores y los dispersores de semillas están indirectamente vinculados y el grado en que la comunidad está subdividida en compartimentos (módulos) y la cohesión entre ellos. (2) ¿Los ungulados no nativos alteran la dinámica de las cascadas multitróficas y, por lo tanto, la estabilidad de la red? Espero que los cambios en la estructura mencionados anteriormente produzcan cambios en la estabilidad. Para evaluar esto, estimé la tolerancia de la red a la remoción de una sola especie (propagación de disturbios) y a la remoción secuencial de especies (robustez) usando modelos estocásticos de coextinción porque ambas variables capturan diferentes aspectos de la estabilidad (Morán-López et al. 2020). En particular, espero una menor tolerancia de la red a la remoción de una especie seleccionada al azar (es decir, una mayor propagación de las perturbaciones) y a la remoción secuencial de especies (es decir, una menor robustez de la red) en el sitio con ungulados que en el sitio intacto.

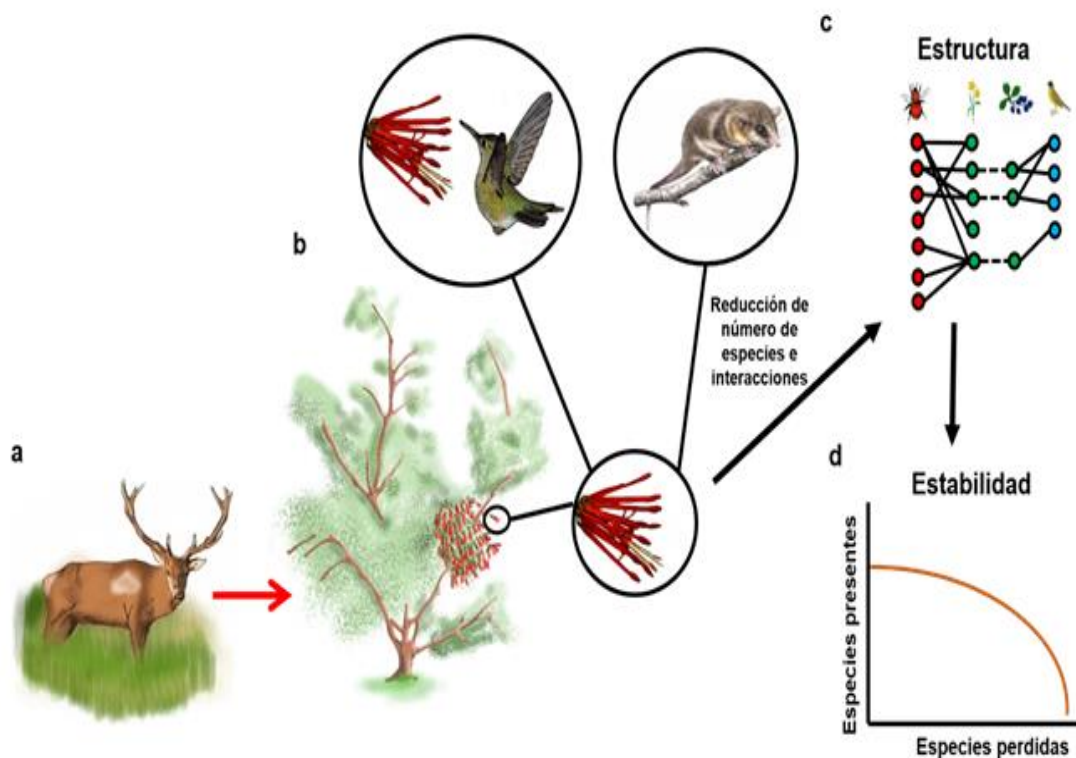


Figura. 3.2. Los ungulados no nativos (a) causan la ruptura (flecha roja) de la interacción clave colibrí-muérdago-marsupial al consumir el principal huésped del muérdago (b). La ruptura de esta interacción clave produce efectos en cascada y reduce el número de especies e interacciones en las redes de polinización y dispersión de semillas (Vitali et al. 2021). Sin embargo, su efecto sobre la distribución de los enlaces entre especies sigue siendo desconocido. En este capítulo evalué si los ungulados no nativos alteran la estructura de la red multicapa polinizador-planta-dispersor de semillas (c), afectando la estabilidad de la comunidad (d). Los paneles a-b de la figura fueron adaptados de Rodríguez-Cabal y colaboradores (2013).

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Área de estudio

El trabajo de campo se realizó en el Parque Nacional Nahuel Huapi y en la Reserva Municipal Llao Llao, en el noroeste de la Patagonia argentina.

En el presente capítulo tomé ventaja del actual escenario de especies introducidas en el bosque templado patagónico (ver capítulo 1 y 2 para más detalle) para comparar sitios intactos con el mutualismo clave y sitios con ungulados no nativos con registros históricos del mutualismo clave. Ambos sitios corresponden a los “sitios intactos con el mutualismo tripartito” y “sitios con ungulados” detallados en el capítulo 2.

3.2.2 Colecta de datos

En cada sitio, registré las interacciones planta-polinizador y planta-frugívoro de todas las especies de plantas en floración y fructificación durante dos temporadas consecutivas (2017 - 2018). Los métodos de recolección de datos y el esfuerzo de muestreo realizado están detallados en el capítulo 2.

3.2.3 Análisis de datos

Para cada tratamiento (“sitios intactos con el mutualismo clave” y “sitios con ungulados”), construí una red multicapa polinizador-planta-dispersor de semillas al agrupar los datos de aquellos sitios sujetos al mismo tratamiento (Fig. 3.1, Hervías-Parejo et al., 2020; Timóteo et al., 2018). Esto me permitió representar mejor el efecto del tratamiento en la comunidad al incorporar la variabilidad entre sitios y temporadas, y capturar el mayor número de interacciones por tratamiento. Cada red presentó: (i) tres grupos de nodos que representaron especies de polinizadores, plantas y dispersores de semillas, (ii) dos capas que representaron los mutualismos de polinización (α) y dispersión de semillas (β), (iii) enlaces intracapa ponderados que conectan especies de polinizadores y plantas (planta j con el polinizador i) y especies de plantas y dispersores de semillas (planta j con el dispersor de semillas k) dentro de las capas α y β respectivamente, y (iv) enlaces entrecapa ponderados que conectan especies de plantas de una capa con su contraparte en la otra capa cuando fueron tanto polinizadas como dispersadas por animales. El peso del enlace intracapa entre la planta j y el polinizador i o el dispersor k en las capas de polinización y dispersión de semillas fue definido como:

$$w_{ij}^{\alpha} = \frac{f_{ij}}{N^{\alpha}} \text{ y } w_{kj}^{\beta} = \frac{f_{kj}}{N^{\beta}}$$

donde f_{ij} and f_{kj} indica el número de visitas entre la planta j y el polinizador i o el dispersor de semillas k ; y N^{α} y N^{β} representan el número total de visitas registradas en las capas α y β respectivamente.

Por otro lado, los enlaces entrecapa representaron interacciones indirectas entre polinizadores y dispersores de semillas mediadas por plantas (Fig. 3.3). El peso del enlace entrecapa que conecta la planta j de la capa α con su contraparte en la capa β fue definido como:

$$w_j^{\alpha\beta} = \frac{n_j}{N_{tot}}$$

donde n_j es el número de interacciones indirectas entre polinizadores y dispersores de semillas mediados por la planta j , y N_{tot} es el número de interacciones indirectas estimado al conectar todos los polinizadores y dispersores de semillas. Valores elevados de enlaces entrecapa indican plantas que intervienen más en el flujo de energía entre los mutualismos de polinización y dispersión de semillas. El peso de ambos enlaces intracapa e entrecapa varían entre 0 y 1. Esto ubica a los dos tipos de enlaces en la misma escala, asegurando que las propiedades de la red no estén sesgadas a priori hacia ninguno de estos (Pilosof et al. 2017, Hutchinson et al. 2019).

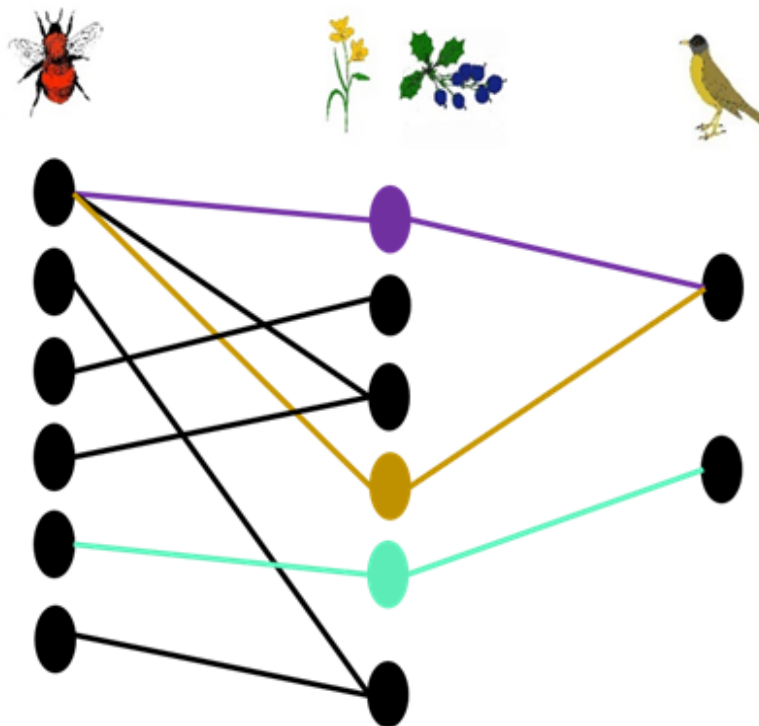


Figura 3.3. Ejemplos de interacciones indirectas que conectan los mutualismos de polinización y dispersión de semillas. Los círculos de izquierda a derecha representan especies de polinizadores, plantas y dispersores de semillas. Las líneas violeta, marrón y celeste representan tres interacciones indirectas. Cada interacción indirecta surge cuando una planta es polinizada y dispersada por animales. Dos interacciones indirectas mediadas por una especie de planta se consideraron diferentes cuando al menos la especie polinizadora o dispersora de semillas de la interacción indirecta difirió. Por ejemplo, si una planta es polinizada por tres especies y dispersada por dos especies, la planta estará involucrada en seis interacciones indirectas diferentes.

Conectividad entre la polinización y dispersión de semillas – Realicé dos análisis para estimar la conectividad entre los mutualismos de polinización y dispersión de semillas. En primer lugar, registré la presencia de especies de plantas j que conectaban ambos mutualismos y

estimé su capacidad para conectar capas a través de enlaces entrecapas ($w_j^{\alpha\beta}$). Para ello, utilicé dos modelos generalizados de efectos mixtos (GLMM) para comprobar si la presencia y la capacidad de las plantas en conectar ambos mutualismos diferían entre la red intacta y la red con ungulados. En cada modelo, utilicé una combinación de una variable respuesta (presencia/ausencia de plantas que conectaban capas y peso de enlace entrecapa) y el tipo de red (intacta vs. con ungulados) como factor fijo. Además, incluí "Especie" como factor aleatorio para controlar las diferencias entre especies. Utilicé las distribuciones binomial y gamma con una función de enlace inversa porque las variables respuesta fueron binarias y presentaron valores continuos positivos que no estuvieron distribuidos normalmente, respectivamente (Zuur et al. 2009). Los análisis se realizaron utilizando los paquetes lme4 y glmmTMB del programa R (Bates et al. 2014, Brooks et al. 2017, R Core Team 2021).

En segundo lugar, evalué si los ungulados no nativos cambian la conexión entre polinizadores y dispersores de semillas. Para ello, construí una matriz binaria para la red intacta y con ungulados, codificando la existencia de al menos un enlace indirecto entre especies de ambos grupos tróficos. En la matriz, asigné la presencia de interacción indirecta entre un polinizador (fila) y un dispersor de semillas (columna) cuando ambos visitaron la misma planta (celdas que contienen "1" in Fig. 3.4). Por el contrario, asigné la ausencia de interacción indirecta entre un polinizador y un dispersor de semillas cuando no fueron registrados visitando la misma planta (celdas blancas y celdas que contienen "0" in Fig. 3.4). Usé una matriz binaria porque pocas especies de polinizadores y dispersores de semillas comparten más de una especie de planta. Una vez construida la matriz, calculé la proporción de interacciones indirectas por especie de polinizador como el número de interacciones indirectas de la especie sobre el número total de interacciones indirectas donde podría estar involucrada (suma marginal de la fila/número total de dispersores de semillas). Para las especies dispersoras de semillas, calculé la proporción de interacciones indirectas de forma análoga. Luego, realicé un GLMM para cada grupo trófico (polinizador y dispersor de semillas) usando la proporción de interacciones indirectas por especie como variable respuesta y el tipo de red (intacta vs. con ungulados) como factor fijo. Además, incorporé "Especies" como factor aleatorio y usé la distribución gamma con una función de enlace inversa para la variable respuesta. Por último, estimé la disimilitud en las identidades de las interacciones indirectas entre la red intacta y con ungulados utilizando la distancia de Jaccard. Este índice es una medida de disimilitud entre dos conjuntos de datos que se calcula restándole a 1 la relación entre el número de elementos compartidos entre ambos conjuntos y

el número total de elementos considerando ambos conjuntos. En el presente caso, el índice indica el porcentaje de interacciones indirectas que no son compartidas entre la red intacta y con ungulados. Valores cercanos a 1 o 0 indican elevada o baja disimilitud de interacciones indirectas respectivamente. Para hacer todos los análisis use los paquetes lme4 y vegan del programa R (Oksanen et al. 2013, Bates et al. 2014, R Core Team 2021).

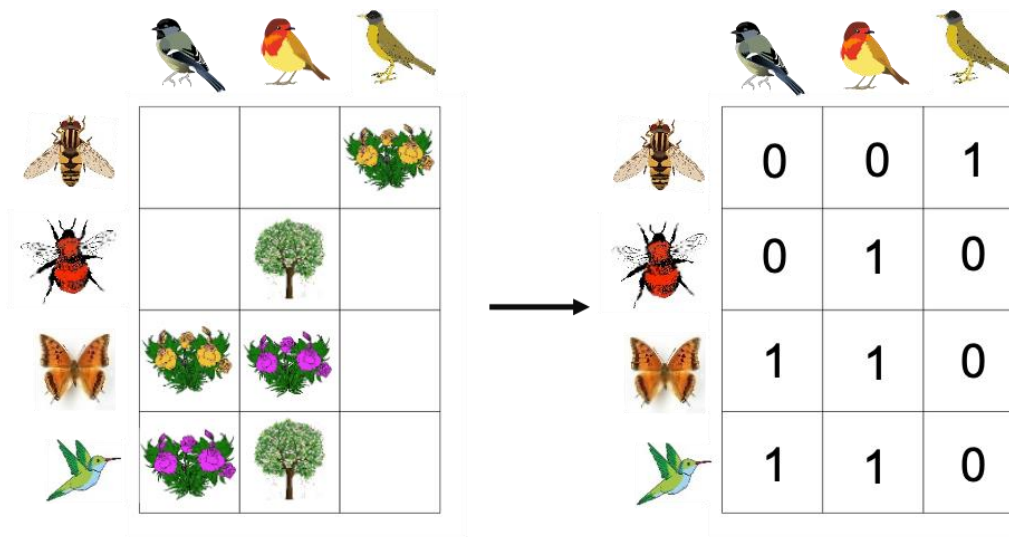


Figura 3.4. Ejemplo de matriz que representa interacciones indirectas entre polinizadores y dispersores de semillas. En la matriz, asigné presencia (celdas que contienen “1”) o ausencia (celdas que contienen “0”) de interacciones indirectas entre especies cuando los polinizadores y dispersores de semillas visitaban o no la misma planta respectivamente.

Modularidad de la red y rol estructural de las especies – Para evaluar el grado de fragmentación de la red, identifiqué el número de módulos y el rol de las especies en ensamblar la estructura de la red. Primero, identifiqué grupos de especies estrechamente conectadas (módulos) con un análisis de modularidad usando el paquete Infomap de R (R Core Team 2021, Farage et al. 2021). Infomap detecta la partición óptima de la red en función del movimiento de una “caminata aleatoria” (random walk) en la misma y está diseñado específicamente para redes multicapas. Brevemente, para cualquier partición dada de la red, el caminante aleatorio se mueve a través de los nodos (especies) en proporción al peso de los enlaces (interacciones entre especies). La cantidad de información necesaria para describir la caminata se cuantifica usando la función objetivo L llamada ecuación de mapa. La partición óptima de la red es aquella que minimiza L (ver Rosvall & Bergstrom 2008, De Domenico et al. 2015, Farage et al. 2021 para más detalles). Una vez calculado el número de módulos, para la red intacta y con ungulados, comparé dicho valor observado con los valores generados al

reordenar aleatoriamente las interacciones de la red con un modelo nulo. Esto me permitió evaluar si la estructura de la red observada es el resultado de procesos aleatorios. Para aleatorizar las redes, usé el algoritmo `r2dtable` con el paquete `vegan` de R (Oksanen et al. 2013, R Core Team 2021), modificado para considerar la naturaleza de la red multicapa. El algoritmo reordena aleatoriamente las interacciones individuales dentro de cada capa, al tiempo que conserva el número total de interacciones por especie (sumas marginales de cada fila y columna). Dicho proceso se realizó 1000 veces. Luego, calculé un valor *p* basado en la proporción de los valores barajados que son mayores o menores que el valor observado usando una prueba *t* de dos colas. Resultados significativos indican que la estructura observada en cada tipo de red no es aleatoria.

En segundo lugar, utilicé los resultados de modularidad para evaluar el papel que desempeñan las especies en la fragmentación de la red y estimar el grado en que la introducción de ungulados no nativos cambió dicho papel. De acuerdo con Olesen (2007), el rol estructural de una especie se definió por su grado (es decir, número de enlaces) estandarizado dentro del módulo “*z*” (es decir, que tan bien la especie está conectada con especies dentro del mismo módulo) y su conectividad entre módulos “*c*” (es decir, qué tan bien la especie conecta especies de diferentes módulos):

$$z = \frac{k_{is} - \bar{k}_s}{SD_{k_s}}$$

$$c = 1 - \sum_{t=1}^{N_M} \left(\frac{k_{it}}{k_i} \right)^2$$

En *z*, k_{is} es el número de enlaces de la especie *i* con otras especies dentro de su propio módulo *s*, \bar{k}_s and SD_{k_s} es el promedio y el desvío estándar del número de enlaces de las especies dentro del módulo *s*. En *c*, k_{it} es el número de enlaces entre la especie *i* y las especies en el módulo *t*, k_i es el número de enlaces de la especie *i*, y N_M es el número total de módulos.

Por medio de los valores de *z* y *c*, clasifiqué a todas las especies (plantas, polinizadores y dispersores de semillas) en diferentes roles estructurales: periférica, conectora, central del módulo y central de la red. Una especie periférica tiene pocos enlaces y en su mayoría dentro del mismo módulo (bajos valores de *z* y *c*, $z \leq 2.5$ y $c \leq 0.62$, círculos celestes en la Fig. 3.5). Una especie conectora tiene pocos enlaces pero conecta varios

módulos (bajo valor de z y alto valor de c , $z \leq 2.5$ y $c > 0.62$), siendo importante para la cohesión de la red porque une los módulos (círculos rosados en la Fig. 3.5). Una especie central de módulo presenta varios enlaces dentro del mismo módulo (alto valor de z y bajo valor de c , $z > 2.5$ $c \leq 0.62$) y es importante para la integridad de su propio módulo (círculos violetas en la Fig. 3.5). Por último, una especie central de la red tiene varios enlaces dentro del mismo módulo y entre especies de diferentes módulos (valores de z y c altos, $z > 2.5$ y $c > 0.62$), siendo importante para la integridad de la red (círculo naranja en Fig. 3.5). Los roles estructurales fueron asignados a cada especie en cada capa, de esta manera, las plantas presentes en ambas capas tuvieron dos roles estructurales. Finalmente, para aquellas especies presentes ambos tipos de redes, registré cambios en el rol estructural, por ejemplo, un polinizador que era un conector en la red intacta pero periférico en la red con ungulados.

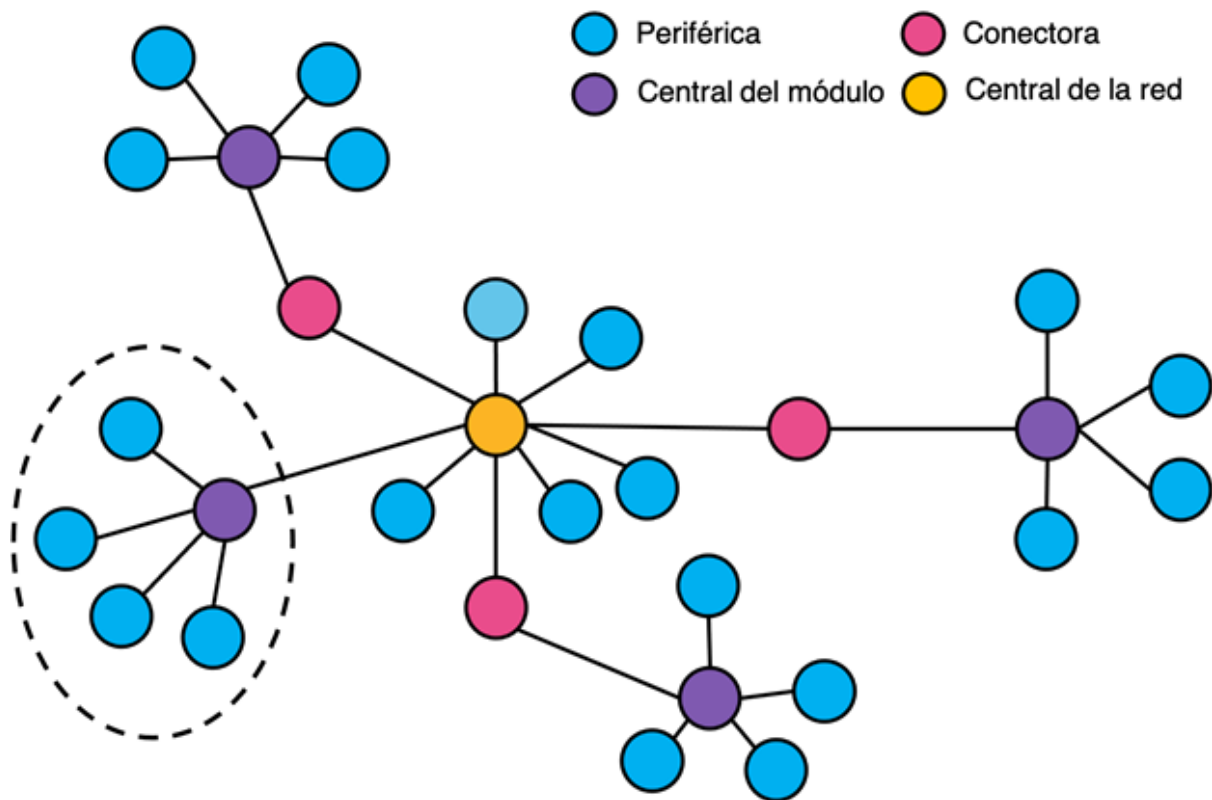


Figura 3.5. Ejemplo de clasificación de especies según su rol estructural. Los círculos y las líneas representan las especies y los enlaces entre ellas, respectivamente. El color de los círculos indica el rol estructural: especie periférica (celeste), conectora (rosa), central del módulo (violeta), central de la red (naranja). Las líneas de puntos delimitan un módulo.

Estabilidad de la red a la extinción de especies – Para capturar diferentes aspectos de la estabilidad en las redes intactas y con ungulados, evalué su tolerancia a la remoción única y secuencial de especies (Memcott et al. 2004, Vieira & Almeida-Neto 2015, Morán-López et al. 2020). El primer tipo de extinción me permite estimar la propagación después de un evento de disturbio particular (por ejemplo, la extinción de una especie), mientras que el segundo estima la tolerancia de la red a perturbaciones continuas antes de colapsar. Para simular ambos tipos de extinciones, utilicé un modelo de coextinción estocástica, elaborado por Vieira y Almeida- Nieto (2015), que modifiqué para incluir los tres grupos tróficos diferentes (polinizador, planta y dispersor de semillas). Este tipo de modelo es óptimo para evaluar las extinciones en cascada porque consideran la dependencia demográfica intrínseca de cada especie de los mutualismos e incorpora la variación de la dependencia mutua de cada especie con sus socios mutualistas (Vieira & Almeida-Neto 2015). En el modelo modificado, la simulación comienza con una extinción primaria que puede producir eventos de coextinción de otras especies. Entonces, la probabilidad de que la especie y se extinga tras la eliminación de su socio mutualista x es:

$$P_{yx} = d_{yx} * R_y$$

Donde el primer componente, d_{yx} , es un estimador de cuánto depende ecológicamente en términos de frecuencia de visitas la especie y de x (Bascompte et al. 2006). Este componente se define como el número de visitas registradas entre y e x dividido por el número total de interacciones que presenta la especie y con especies del mismo grupo trófico que x en la red. Por ejemplo, la dependencia ecológica del polinizador y y de la planta x está determinada por la frecuencia en que el polinizador y visita la planta x en relación a otras plantas. Entonces, la d_{yx} cambia según los grupos tróficos de ambas especies involucradas en la cadena de extinción. El segundo componente es R_y , una constante que indica la dependencia demográfica intrínseca de la especie y y del mutualismo al que pertenece la especie x . Debido a que las especies de plantas pueden interactuar con polinizadores y dispersores de semillas, las mismas presentan dos valores de R de acuerdo con su dependencia demográfica de la polinización y la dispersión de semillas por parte de los animales, respectivamente. Para asignar los valores de R me centré en los rasgos y/o en la dieta de las especies (ver Apéndice 3 para más detalles). Volviendo a la fórmula P_{yx} , cuando ocurre un evento de coextinción, cada especie restante en el otro grupo trófico presenta una probabilidad de extinción siempre que $P_{yx} > 0$. En cada paso de la cadena de extinción, se recalculan las dependencias entre las

especies y e x (d_{yx}). A continuación, desarrollo las fórmulas de probabilidad de extinción según los grupos tróficos de las especies involucradas:

- Si x es una especie polinizadora, la probabilidad de extinción de una planta y es:

$$P_{yx} = d_{yx} * R_y^\alpha \text{ y } d_{yx} = \frac{W_{yx}}{\sum W_y^\alpha},$$
donde R_y^α indica cuánto depende la planta y de la polinización por animales, W_{yx} es el número de interacciones entre y e x , y $\sum W_y^\alpha$ es el número total de interacciones de la planta y con polinizadores.
- Si x es un dispersor de semillas, la probabilidad de extinción de una planta y es:

$$P_{yx} = d_{yx} * R_y^\beta \text{ y } d_{yx} = \frac{W_{yx}}{\sum W_y^\beta},$$
donde R_y^β indica cuánto depende la planta y de la dispersión de semillas por animales, W_{yx} es el número de interacciones entre y e x , y $\sum W_y^\beta$ es el número total de interacciones de la planta y con dispersores de semillas.
- Si x es una planta, la probabilidad de extinción de un polinizador o dispersor de semillas y es: $P_{yx} = d_{yx} * R_y$ y $d_{yx} = \frac{W_{yx}}{\sum W_y}$, donde R_y indica cuánto depende el polinizador o dispersor de semillas y de los recursos provistos por las plantas (ej., néctar para polinizadores y frutos para dispersores de semillas), W_{yx} es el número de interacciones entre y e x , y $\sum W_y$ es el número total de interacciones del polinizador o dispersor de semillas y con especies de plantas.

Primero, para estimar la propagación de un disturbio simulé la remoción de una sola especie a la vez para cada red. En cada simulación, consideré que la comunidad alcanzó el equilibrio cuando las coextinciones no se propagaron más después de remover la especie objetivo, es decir, cuando no se produjeron extinciones adicionales (Vieira & Almeida-Neto 2015). Una vez alcanzado el equilibrio, calculé el porcentaje total de especies extintas. Valores más altos de porcentaje de especies extintas indican una mayor propagación de perturbaciones en la red. Debido a que el modelo incluye procesos aleatorios, simulé 1000 veces la remoción de cada especie para cada red y usé el valor promedio de la variable anteriormente mencionadas. Luego, utilicé un modelo mixto lineal generalizado (GLMM) para testear si el porcentaje total de especies extintas cambió según el tipo de red y el rol estructural de la especie removida. En el modelo, seleccioné el porcentaje total de especies

extintas como variable de respuesta y la interacción entre tipo de sitio (intacto vs con ungulados) y el rol estructural de las especies removidas (periférica, conectora, central del módulo y central de la red) como factores fijos. Además, incluí “Especies” como un factor aleatorio y asumí una distribución gamma en los modelos (Zuur et al. 2009). Finalmente, para comparar entre diferentes niveles de los factores fijos, realicé una prueba de comparación múltiple. Los análisis se realizaron con paquetes lme4, multcomp y lsmeans del programa R (R Core Team 2021).

En segundo lugar, para cada red, removí especies secuencialmente bajo tres escenarios, de acuerdo con su función estructural, que es una estimación de la capacidad de la especie para mantener la cohesión de la red: (i) remoción de especies con roles estructurales más importantes primero (orden: centrales de la red, centrales del módulo, conectoras, periféricas); (ii) remoción de especies con roles estructurales menos importantes primero (orden: periféricas, conectoras, centrales del módulo, centrales de la red); y (iii) remoción aleatoria. Para lograr esto, usé el modelo de extinción anteriormente explicado pero esta vez, en cada escenario, removí la primera especie y una vez que la comunidad alcanzó el equilibrio, removí la siguiente especie, y así sucesivamente hasta que todas las especies de la red se extinguieron. Luego, calculé la robustez de la red frente a la extinción de especies como el área debajo la curva (AUC) de las especies perdidas frente a las especies presentes en la red. Valores más altos de AUC sugieren una mayor tolerancia a la pérdida secuencial de especies (Burgos et al. 2007). Para cada red y escenario, realicé 1000 simulaciones donde calculé el AUC utilizando el programa R (R Core Team 2021). Además, evalué si la robustez cambió según el tipo de sitio y el orden de remoción de las especies mediante un modelo GLM. Para ello, incluí AUC como variable de respuesta, asumiendo la distribución gamma y la interacción entre tipo de sitio (intacto vs con ungulados) y el escenario (i, ii y iii, anteriormente mencionado) como factores fijos. Finalmente, realicé una prueba de comparación múltiple para comparar entre diferentes niveles de los factores fijos. Todos los análisis se realizaron con los paquetes lme4 y lsmeans del programa R (Benjamini & Hochberg 1995, Bates et al. 2014, Lenth 2016, R Core Team 2021).

Chequeo y control del modelo de extinción – Para comprobar si los patrones encontrados en los modelos de extinción se debían a la dependencia del mutualismo (R) asignado a las especies y si variaban según el tamaño de la red realicé un análisis de sensibilidad y controlé por el tamaño de la red. Para llevar a cabo el análisis de sensibilidad, creé escenarios en los

que reduje y aumenté los valores asignados de R de cada especie en 0,1 hasta que todas las especies no dependieron o dependieron totalmente de los mutualismos. Por un lado, en un escenario extremo, las especies no tienen dependencia del mutualismo ($R = 0$) y la remoción de una especie no producirá efectos en cascada. Por otro lado, en el escenario opuesto, todas las especies presentan total dependencia del mutualismo ($R = 1$). Este último escenario representa un caso típico de modelo de extinción donde no se incorpora la dependencia de las especies de los mutualismos porque la probabilidad de extinción de las especies ($P_{yx} = d_{yx} * R_y$) solo dependerá de las interacciones entre ellas (d_{yx}). Para cada escenario, ejecuté las mismas simulaciones explicadas anteriormente y estimé el porcentaje total de especies extintas y AUC después de la remoción de una sola especie y la remoción secuencial de especies según su rol estructural, respectivamente.

Segundo, realicé los mismos análisis de simulación anteriormente explicados pero esta vez controlando por el tamaño de la red. Esto lo hice porque el tamaño de la red está correlacionado con otras propiedades, como la modularidad (Delmas et al. 2018), y por lo tanto podría afectar los resultados del modelo de simulación (porcentaje total de extinción y AUC). Para hacer esto, realicé un bootstrap de la red más grande (red intacta) para obtener en cada grupo trófico el mismo número de especies que en los grupos tróficos homólogos de la red más pequeña (red con ungulados). Este proceso se realizó 300 veces. Luego, para cada red simulada, calculé el porcentaje total de especies extintas tras la remoción de una sola especie y AUC tras la remoción secuencial de especies según su función estructural. Finalmente, evalué si estas variables cambiaban entre la red intacta controlada por el tamaño y la red intacta sin controlar el tamaño utilizando dos modelos. El primer modelo consistió en un GLMM, donde seleccioné el porcentaje total de especies extintas como variable de respuesta y el tratamiento (red controlada frente a red no controlada) como factor fijo, e incluí “Especies” como factor aleatorio. El segundo modelo consistió en un GLM, donde seleccioné el área debajo de la curva (AUC) como variable respuesta y el tratamiento (red controlada frente a red no controlada) como factor fijo. En ambos modelos asumí una distribución gamma de la variable respuesta (Zuur et al. 2009). Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete lme4 del programa R (R Core Team 2021).

3.3 Resultados

Conectividad entre la polinización y dispersión de semillas – La presencia de especies de plantas que conectan los mutualismos de polinización y dispersión de semillas fue casi el

doble en la red intacta (8 especies) que en la red con ungulados (5 especies) ($z = 2,617$, $P < 0,01$); sin embargo, representaron casi la misma proporción de especies (22% y 21% del total de especies, respectivamente). Además, no encontré diferencias en el peso de los enlaces entrecapas de plantas entre la red intacta y la red con ungulados ($z = 0,358$, $P = 0,721$), lo que sugiere que la habilidad de las plantas para conectar entre niveles tróficos es similar, independientemente de la presencia de ungulados no nativos. Por el contrario, la proporción de interacciones indirectas por especie polinizadora ($z = 5,642$, $P < 0,001$) y dispersora de semillas ($z = 0,79$, $P = 0,42$) fue mayor en la red intacta (aunque solo fue significativo para los polinizadores), indicando una mayor conexión entre ambos grupos tróficos. En la red intacta, los polinizadores y los dispersores de semillas registraron un 56% y un 59% más de interacciones indirectas (pol. = $2,75 \pm 0,14$; disp. = $34,25 \pm 6,8$) que en la red con ungulados (pol. = $1,76 \pm 0,17$; disp. = $21,6 \pm 6,7$). Además, la identidad de las interacciones indirectas entre los polinizadores y los dispersores de semillas fue muy diferente entre los tipos de red (distancia de Jaccard = 0,82). Las redes de interacciones de los sitios intacto y con ungulados están representadas en el Figura A3.1 del apéndice 3.

Modularidad de la red y rol estructural de las especies – El número observado de módulos fue diferente al de las redes aleatorizadas en las redes intactas y con ungulados ($t_{999} = -159,8$, $P < 0,001$; $t_{999} = -112$, $P < 0,001$; Fig. 3.6), lo que indica que la estructura modular no es aleatoria. La red intacta presentó un 63% más de módulos que la red con ungulados (18 frente a 11). Del número total de módulos, cinco (28%) y tres módulos (27%) contenían simultáneamente especies de polinizadores, plantas y dispersores de semillas en la red intacta y con ungulados, respectivamente (Fig. 3.7).

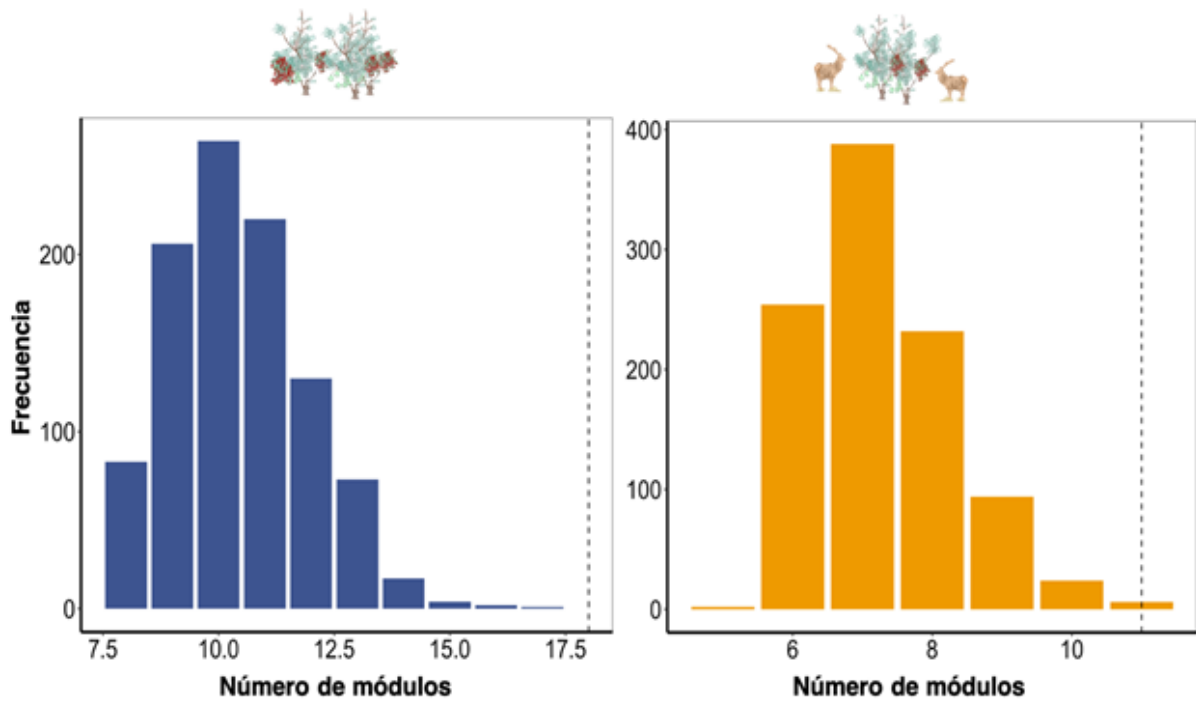


Figura 3.6. Comparación del número observado de módulos con los valores generados al reordenar aleatoriamente las interacciones para ambos tipos de redes. La línea vertical de puntos indica el número observado de módulos en la red empírica. Los paneles izquierdo y derecho indican la red intacta y con ungulados, respectivamente.

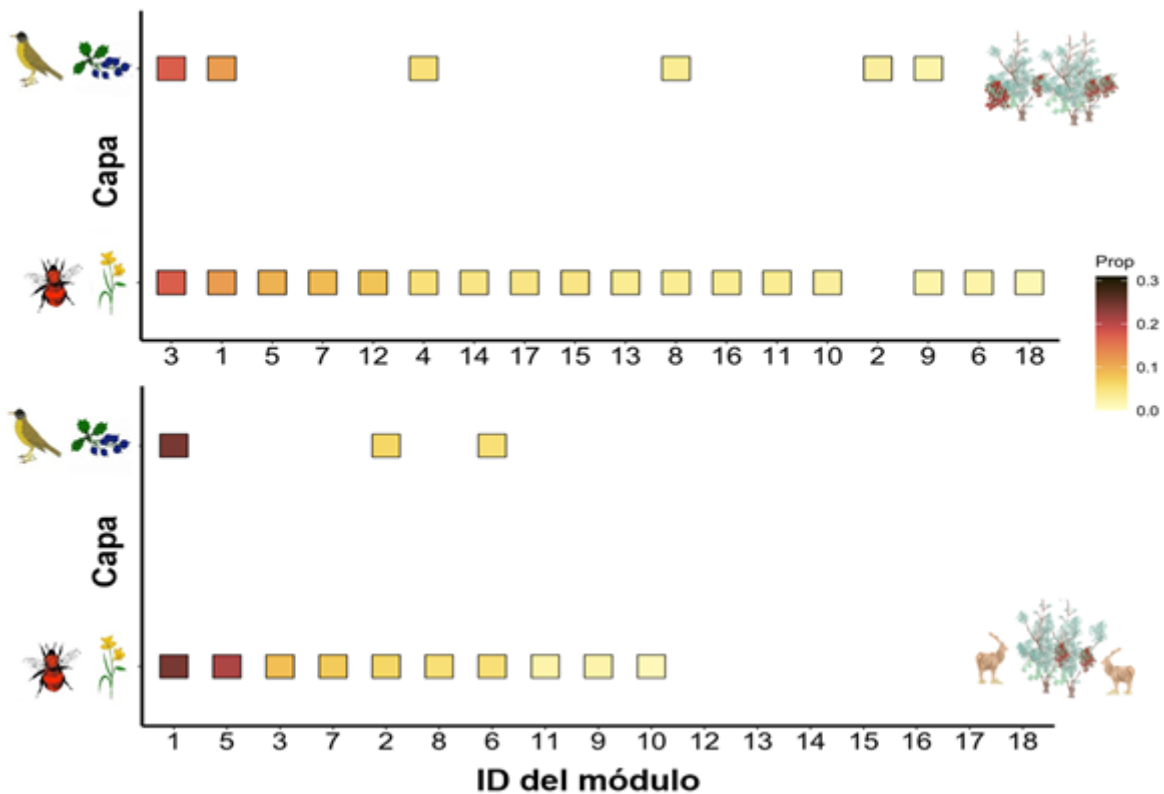


Figura 3.7. Combinaciones de módulos y capas en la red intacta (panel superior) y la red con ungulados no nativos (panel inferior). Los módulos pueden abarcar varias capas y cada cuadrado representa la aparición de un módulo específico en una capa. Mientras que la mayoría de los módulos se limitaron a una sola capa, unos pocos abarcaron ambas capas (por ejemplo, el módulo 1 en ambas redes). El color del cuadrado representa la proporción de especies en la red que fueron asignadas al módulo. Los módulos están ordenados de mayor a menor proporción de tamaño (de izquierda a derecha). El ID del módulo se asigna al azar y los ID de los módulos entre las redes son independientes.

La mayoría de las especies, y principalmente los polinizadores, fueron clasificadas como periféricas en ambas redes; sin embargo, el porcentaje de especies periféricas fue menor en la red intacta que en la red con ungulados (57 % y 71 %, respectivamente; Fig. 3.8). Por el contrario, el porcentaje de especies conectoras fue mayor en la red intacta (41%) que en la red con ungulados (27%), lo que indica una menor conexión entre módulos y, por lo tanto, una red más fragmentada en presencia de ungulados no nativos. En particular, dos especies de dispersores de semillas actuaron como conectores en la red intacta (*D. gliroides* y el ave generalista *Elaenia albiceps*), pero ningún dispersor de semillas fue conector en la red con ungulados. Además, solo las plantas actuaron como centrales de módulos tanto en la red

intacta como en la red con ungulados; sin embargo, también detecté especies centrales de la red solo en la red intacta: las plantas *Alstroemeria aurea* y *Schinus patagonicus*.

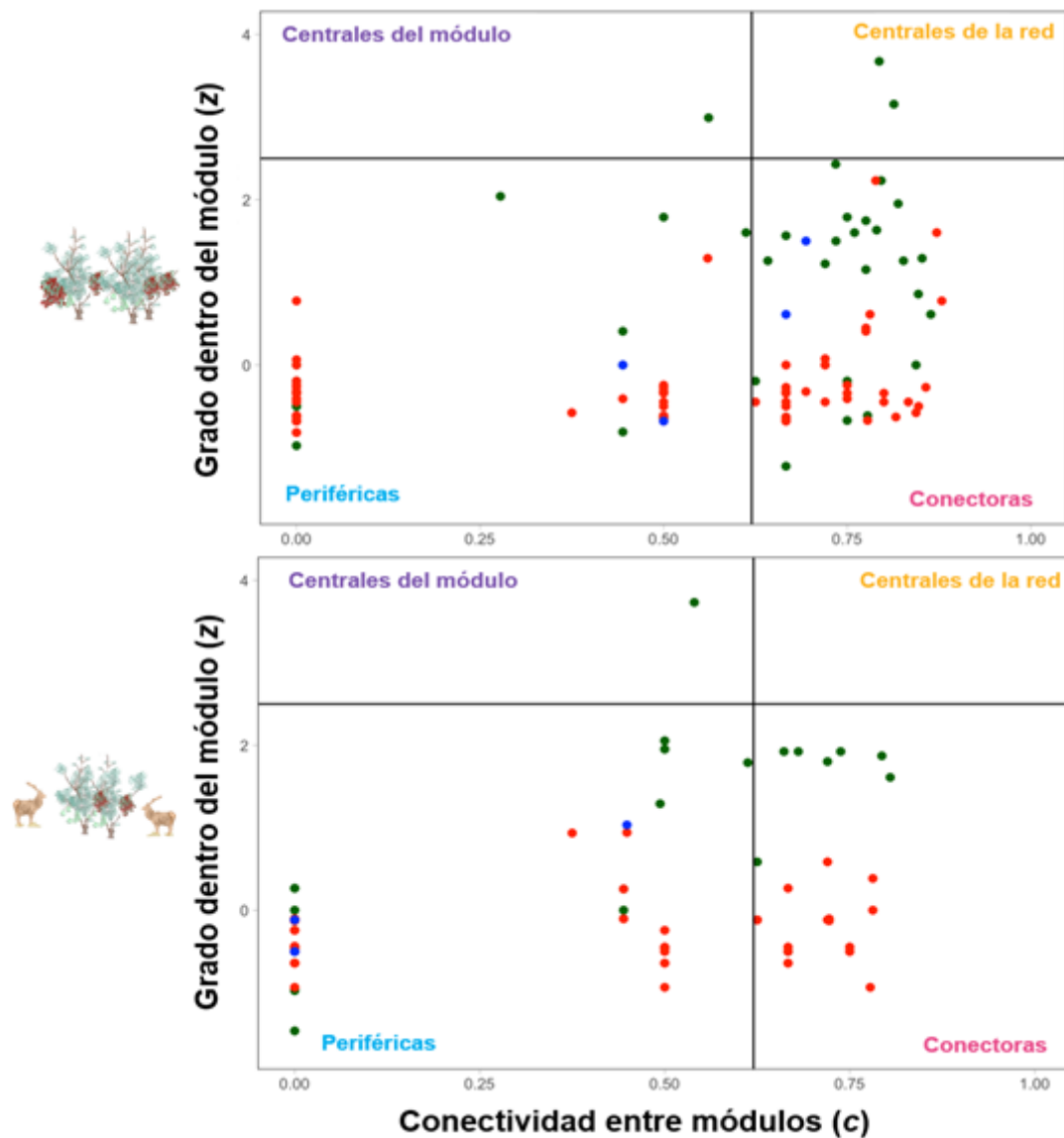


Figura 3.8. Distribución de especies según su rol estructural en la red intacta (panel superior) y con ungulados (panel inferior). Cada punto representa una especie y su color indica su grupo trófico: polinizador (rojo), planta (verde) y dispersor de semillas (azul).

Los ungulados no nativos cambiaron el rol estructural del 36% las especies compartidas entre sitios intactos y con ungulados. Del total, el 46% correspondió a plantas en la capa de polinización, el 35% a polinizadores y el 33% a dispersores de semillas; sin embargo, los ungulados no cambiaron el rol estructural de las plantas en la capa de dispersión de semillas. Además, la mayoría de las especies cambiaron su rol de conectoras a periféricas (73% de las especies), pero también de centrales de la red a conectoras (4% de las especies) y

a centrales del módulo (4% de las especies) tras la introducción de ungulados no nativos (Fig. 3.9).

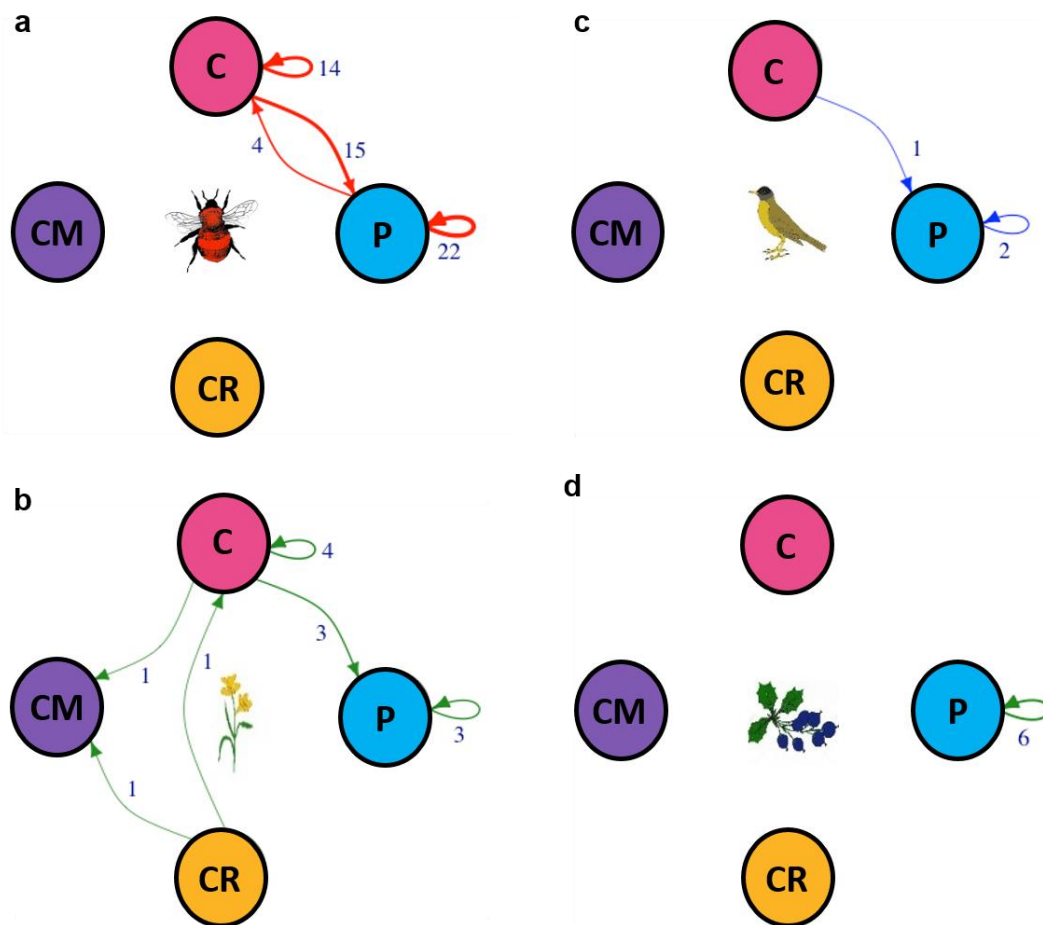


Figura 3.9. Cambios en el rol estructural de las especies compartidas entre la red intacta y con ungulados. Los círculos indican los roles estructurales de las especies: P = periférica (celeste), C = conectora (rosa), CM = central del módulo (violeta), CR = central de la red (naranja). Los cambios en el rol estructural se representan con flechas. El origen y el final de las flechas representan el rol de las especies en la red intacta ("desde") y en la red con ungulados ("hacia"), respectivamente. La flecha autodirigida indica que no hay cambios en el rol estructural. Los valores de cada flecha indican el número de especies que sufrieron (o no) cambios en su rol estructural. Los paneles representan diferentes grupos tróficos: polinizadores (a), plantas en la capa de polinización (b), dispersores de semillas (c) y plantas en la capa de dispersión de semillas (d).

Estabilidad de la red a la extinción de especies – La propagación de las perturbaciones a través de la red fue afectada por la interacción entre los tipos de red y el rol estructural de las especies removidas ($X^2_{2, 231} = 27,28$, $P < 0,01$, Fig. 3.10). En la red intacta, la remoción de especies centrales de la red y del módulo produjeron la extinción de 6.9 y 4.5 más especies

que la remoción de especies periféricas ($z = -8,700$, $P < 0,01$; $z = -6,300$, $P < 0,01$). Similarmente, la remoción de especies centrales del módulo produjo un porcentaje de extinción de especies 4 y 4,7 veces mayor que la remoción de especies conectoras y periféricas en la red con ungulados ($z = -4,867$, $P < 0,01$; $z = -5,200$, $P < 0,01$). Por otro lado, la remoción de especies conectoras no produjo una mayor extinción de especies que las especies periféricas tanto en la red intacta ($z = -0,86$, $P = 0,32$) como en la red con ungulados ($z = -0,83$, $P = 0,36$). Además, en promedio, la propagación de las perturbaciones tras la remoción de una sola especie fue mayor en la red con ungulados, produciendo 1,5 veces más porcentaje de extinción de especies que en la red intacta.

La robustez de las comunidades fue afectada por la interacción entre los tipos de red y el orden de remoción de las especies ($\chi^2_{2, 6000} = 245,9$, $P < 0,001$, Fig. 3.10). La red intacta fue más robusta que la red con ungulados cuando el orden de remoción de las especies según su importancia estructural fue de menor a mayor ($t = 23,16$, $P < 0,001$) y de mayor a menor ($t = 5,16$, $P < 0,001$), pero no cuando el orden de remoción fue al azar ($t = 0,67$, $P = 0,984$). Además, la robustez fue menor cuando se removieron primeramente las especies con un papel estructural más importante en ambos tipos de redes.

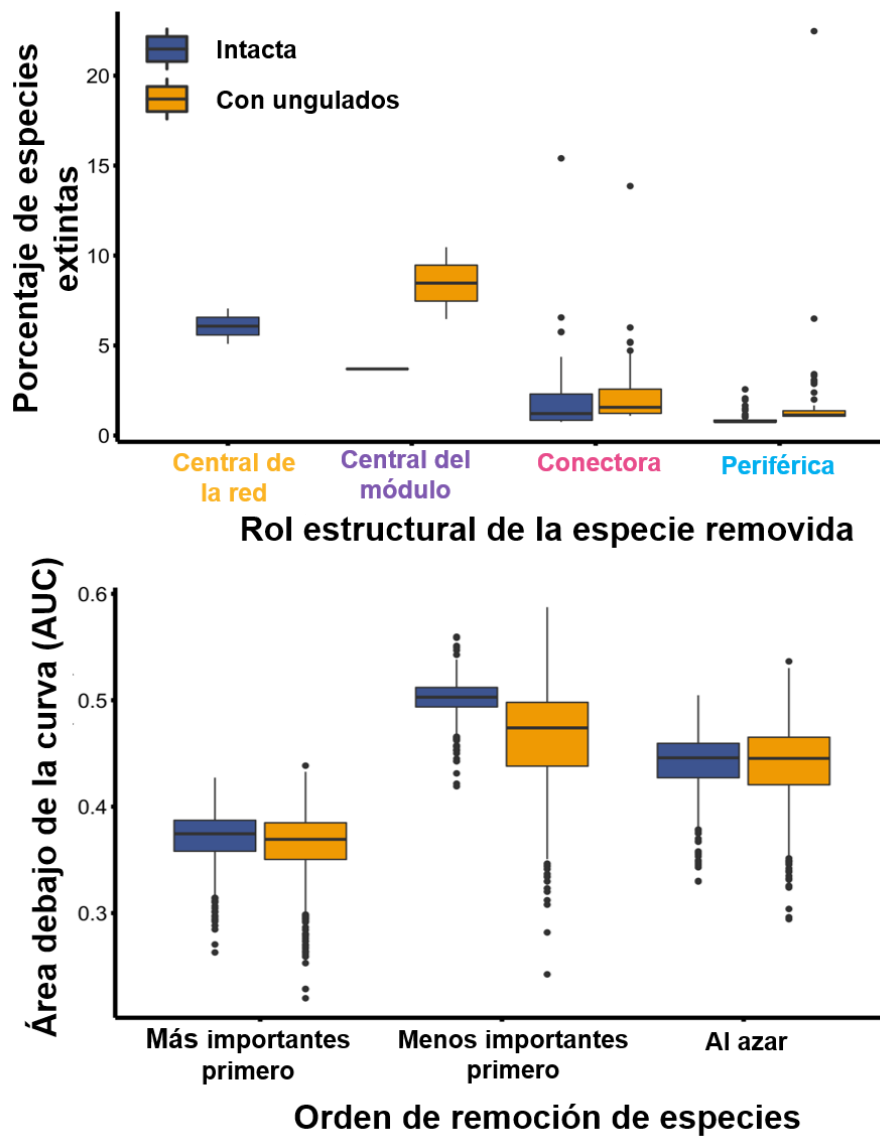


Figura 3.10. La propagación de perturbaciones fue mayor (panel superior) y la robustez menor (panel inferior) en la red con ungulados no nativos. En el panel superior, se detalla la propagación de perturbaciones (medida como el porcentaje de especies extintas calculada en equilibrio luego de la remoción de una especie) en función de los tipos de red y el rol estructural de las especies removidas. En total, hubo siete combinaciones entre los roles estructurales de las especies removidas y los tipos de red porque no se registró especies centrales de red en la red con ungulados. En el panel inferior, la robustez, medida como área debajo de la curva (AUC), en función de los tipos de red y el orden de remoción de especies. Valores más altos de AUC sugieren una mayor tolerancia a la pérdida secuencial de especies (Burgos et al. 2007). El eje horizontal representa los tres escenarios de remoción de especies: remoción de especies con roles estructurales más importantes primero (orden: centrales de la red, centrales del módulo, conectoras, periféricas); remoción de especies con roles estructurales menos importantes primero (orden: periféricas, conectoras, centrales del módulo, centrales de la red); y (iii) remoción aleatoria.

Chequeo y control del modelo de extinción – Los resultados de los modelos de extinción (porcentaje total de especies extintas y AUC) difirieron cuantitativamente cuando se cambiaron los valores de dependencia del mutualismo (R) asignados a las especies. Sin embargo, los patrones de los resultados no difirieron cualitativamente (Fig. 3.11 y 3.12). Esto significa que el efecto de los roles de las especies sobre el porcentaje de especies extintas y AUC sigue el mismo patrón al cambiar los valores de R (las líneas de las Fig. 3.11 y 3.12 nunca se cruzan).

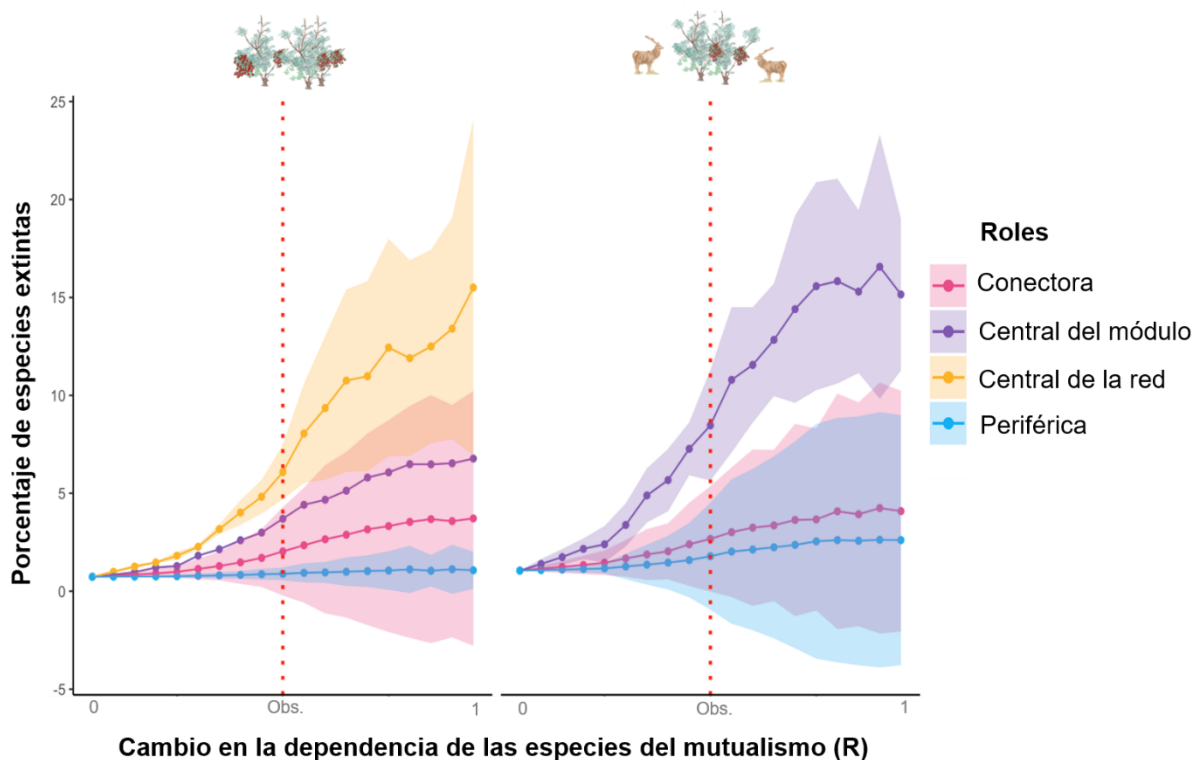


Figura 3.11. Porcentaje de especies extintas según cambios en la dependencia de las especies de los mutualismos (R) y el rol estructural de las especies removidas. Los valores cercanos a 0 y 1 en el eje horizontal indican dependencia nula y total de las interacciones mutualistas por parte de las especies. Cada línea indica el porcentaje de especies extintas tras remover una especie central de la red (naranja), central del módulo (violeta), conectora (rosa) y periférica (azul claro). El área sombreada alrededor de cada línea indica el intervalo de confianza del 95% alrededor de la media. La línea roja vertical de puntos indica el porcentaje observado de especies extintas estimado por los valores de R asignados a cada especie en el presente capítulo. Los paneles izquierdo y derecho representan la red intacta y con ungulados, respectivamente.

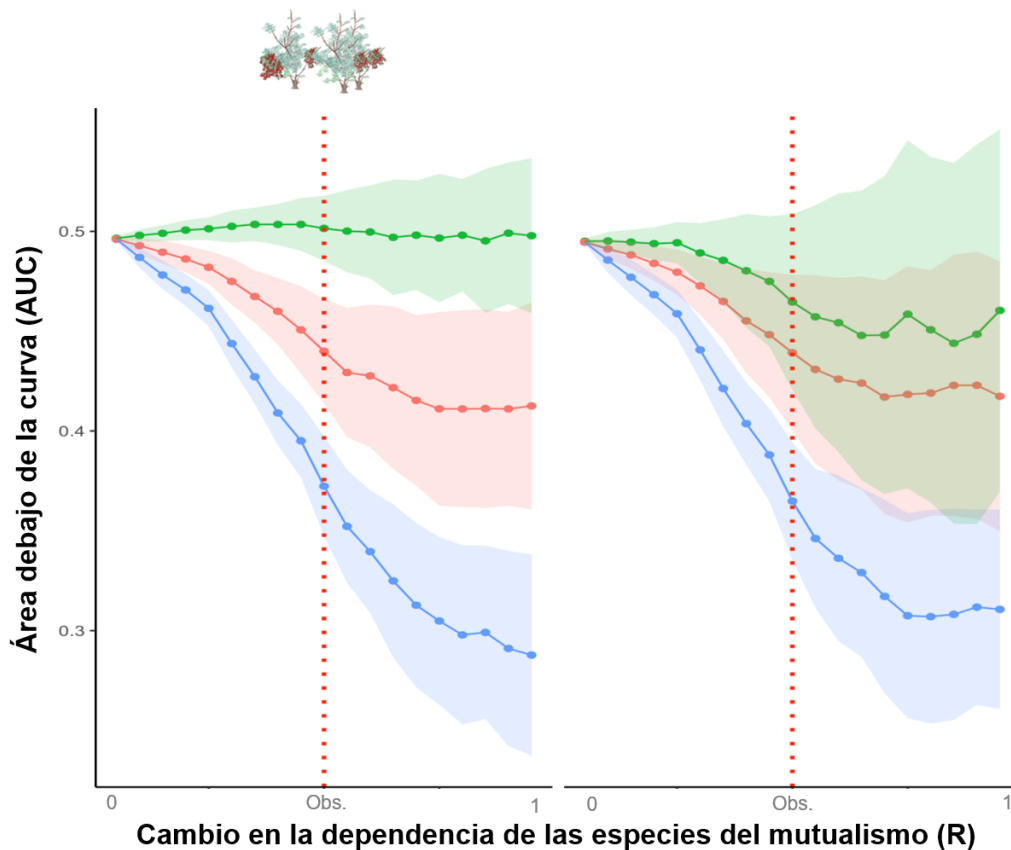


Figura 3.12. Área debajo la curva (AUC, proxy de robustez) según cambios en la dependencia de las especies de los mutualismos (R) y el orden de remoción de las especies. Los valores cercanos a 0 y 1 en el eje horizontal indican dependencia nula y total de las interacciones mutualistas por parte de las especies. Cada línea indica la robustez de la comunidad después de remover secuencialmente todas las especies con roles estructurales más importantes primero (azul, orden: centrales de la red, centrales del módulo, conectoras, periféricas), especies con roles estructurales menos importantes primero (verde, orden: periféricas, conectoras, centrales del módulo, centrales de la red), y al azar (rojo claro). El área sombreada alrededor de cada línea indica el intervalo de confianza del 95% alrededor de la media. La línea roja vertical punteada indica la robustez observada estimada por los valores de R asignados a cada especie en el presente capítulo. Los paneles izquierdo y derecho representan la red intacta y con ungulados no nativos.

Además, el porcentaje total de especies extintas en la red intacta difirió según el tamaño de la red ($F = 35,18$, $P < 0,001$; Fig. 3.13) pero no la robustez ($F = 0,26$, $P = 0,61$; Fig. 3.13). Después de controlar la red intacta por el tamaño de la red con ungulados, el porcentaje total de especies extintas aumentó 1,4 veces, indicando que, si la red intacta hubiera tenido un tamaño similar al de la red con ungulados, la propagación de extinciones hubiese sido mayor (Fig. 3.13).

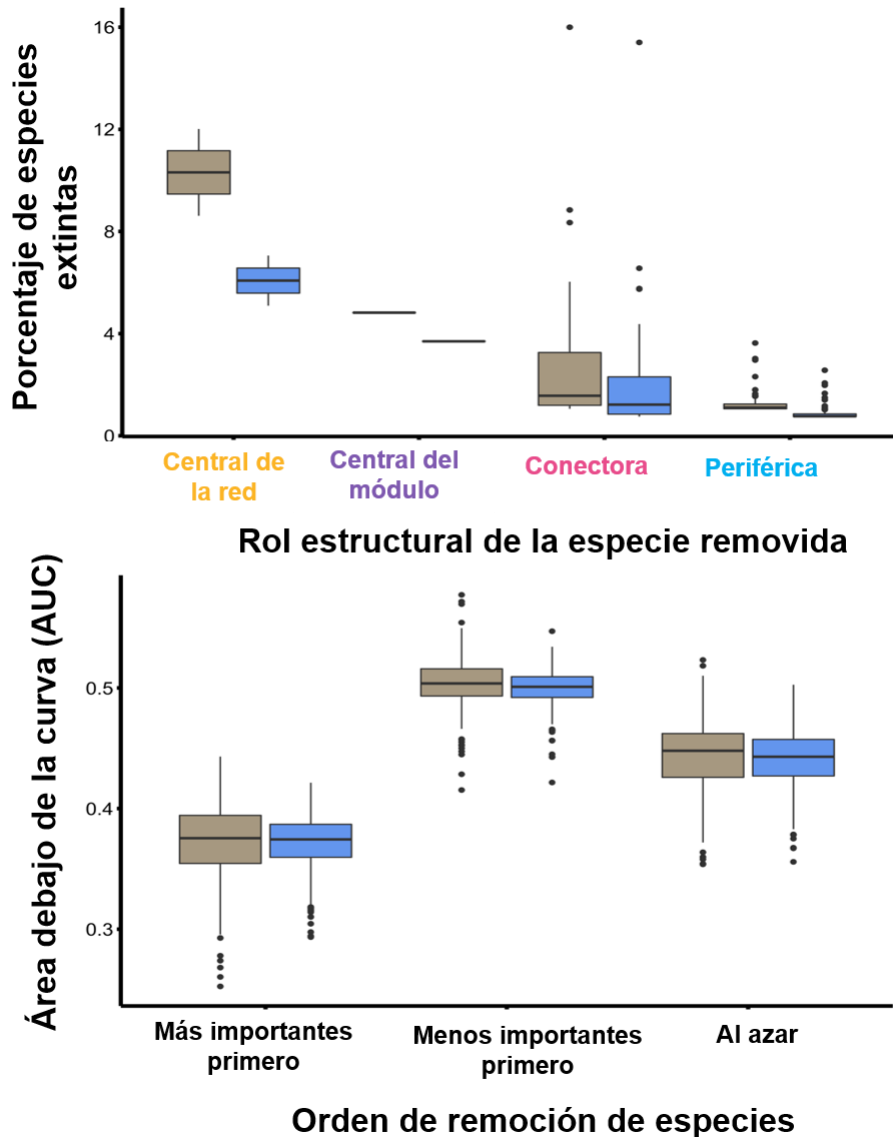


Figura 3.13. Porcentaje de especies extintas, según el rol estructural de la especie removida (panel superior), y área debajo de la curva (AUC), según el orden de especies removidas secuencialmente (panel inferior), del sitio intacto después de controlar por el tamaño de la red con ungulados. El color de las cajas representa: la red intacta controlada por el tamaño (gris) y la red intacta sin controlar el tamaño (azul claro). En el panel inferior, el eje horizontal representa los tres escenarios de remoción de especies: remoción de especies con roles estructurales más importantes primero (orden: centrales de la red, centrales del módulo, conectoras, periféricas); remoción de especies con roles estructurales menos importantes primero (orden: periféricas, conectoras, centrales del módulo, centrales de la red); y (iii) remoción aleatoria.

3.4 Discusión

Los resultados del presente capítulo resaltan la vulnerabilidad de las comunidades multitróficas a la pérdida de interacciones clave debido a la presencia de ungulados no nativos. Entender cómo la estructura de las comunidades se ve afectada por la ganancia y la pérdida de especies y cómo esto altera la capacidad de las comunidades para responder a perturbaciones es esencial debido a las altas tasas de cambio global (Wardle et al. 2011, Díaz et al. 2019). En el presente capítulo demostré por primera vez cómo los ungulados no nativos alteran, directa e indirectamente, la estructura y estabilidad de una red multitrófica al interrumpir una interacción clave. Los ungulados no nativos redujeron la conectividad entre el mutualismo de polinización y dispersión de semillas, y crearon una red menos compartimentada. Además, provocaron la fragmentación de la red al producir cambios en los roles estructurales de las especies hacia roles más periféricos. Estos cambios estructurales alteraron la dinámica de los efectos en cascada, aumentando la propagación de las perturbaciones y reduciendo la robustez de la red con ungulados.

Los ungulados no nativos alteraron las interacciones indirectas entre polinizadores y dispersores de semillas y cambiaron la estructura de la red. Los cambios en la identidad de las interacciones indirectas podrían deberse al recambio de especies y/o al recableado de las interacciones entre animales y plantas en la comunidad (Poisot et al. 2012). Ambos son mecanismos bien documentados en animales para hacer frente a la fluctuación en la disponibilidad de recursos (Quitíán et al. 2019, Morán-López et al. 2022). Además, la introducción de ungulados no nativos produjo un menor número de módulos con tamaño desiguales (algunos módulos con una alta proporción de especies y otros módulos con pocas especies). Un mecanismo plausible para el menor número de módulos registrado es la reducción del número de especies e interacciones, ya que las redes con menor tamaño tienden a contener un menor número de módulos (Olesen et al. 2011, Weltri & Joern 2015, Delmas et al. 2018). En el presente caso, la reducción del número de especies pudo producirse por la interrupción de la interacción clave y por cambios en la vegetación debido a los ungulados no nativos (Vázquez 2002, Vitali et al. 2021). Por último, las especies tendieron a cambiar su rol estructural de conectoras a periféricas tras la introducción de ungulados, reduciendo así los "puentes" entre módulos y aumentando así el aislamiento de los mismos (Olesen et al. 2007). Asimismo, otros estudios han demostrado que el rol estructural de las especies cambia en respuesta a perturbaciones, como incendios y pérdida de hábitat, en comunidades de

pastizales y dunas (Traveset et al. 2018, da Silva Goldas et al. 2022). Por lo tanto, considerando todos estos cambios, la red muestra una reorganización de la estructura después de la introducción de ungulados no nativos.

Los cambios en la estructura de la red alteraron la respuesta de la comunidad a las perturbaciones. En particular, la propagación de las perturbaciones fue mayor en presencia de ungulados no nativos. Una explicación plausible es la presencia de unos pocos módulos grandes y aislados que contienen un elevado número de especies periféricas. Esta organización concentra la propagación dentro de los módulos y probablemente produce un alto porcentaje de extinción de especies después de la pérdida de una especie central del módulo (Prado & Lewinsohn 2004, Olesen et al. 2007, Tylianakis et al. 2010), colapsando el módulo entero. Por el contrario, el gran número de módulos conectados que contienen una baja proporción de especies en la red intacta puede promover la propagación de las perturbaciones entre módulos (Olesen et al. 2007) y causar una menor tasa de extinción de especies, pero en toda la red. Además, encontré que el alto número de especies en la red intacta con la interacción clave redujo la propagación de las perturbaciones al controlar por el tamaño de la red. De manera similar, Suweis y colaboradores (2015) mostraron que la propagación de las perturbaciones disminuye con el número de especies en las redes mutualistas. Además, encontré que la robustez a la remoción secuencial de especies fue mayor en presencia de la interacción clave. Esto es coherente con la literatura que muestra que un mayor número de módulos ralentiza los efectos en cascada a través de la red en diferentes sistemas ecológicos, aumentando la tolerancia de la red al colapso (Ramos-Robles et al. 2018, Gaiarsa & Guimarães 2019). Particularmente, la elevada robustez a la remoción secuencial de especies periféricas en presencia de la interacción clave indica una mayor tolerancia de la comunidad a escenarios de perturbación comunes como la fragmentación del hábitat y el cambio climático, que afectan principalmente a las especies raras y especialistas (Davies et al. 2004, Vincent et al. 2020).

El presente capítulo evidencia por primera vez cómo la interrupción de una interacción clave por parte de especies introducidas desencadena cambios en la estructura de una red mutualista multicapa, afectando las extinciones multitróficas en cascada. A pesar de los novedosos resultados, en la presente tesis muestro el efecto de los ungulados no nativos después de 100 años de su introducción; sin embargo, las especies exóticas interactúan de manera diferente con las especies de la nueva comunidad en el tiempo (Blackburn et al. 2011,

Gallien & Carboni 2017). Por lo tanto, futuros estudios podrían enfocarse en cómo las especies exóticas cambian la estructura y afectan a la estabilidad de las comunidades a lo largo de las diferentes etapas de invasión utilizando redes temporales. Esto podría ayudarnos a entender con más detalle el efecto de las especies invasoras en las comunidades desde su introducción. Por otro lado, el presente estudio aumenta el realismo al considerar la dependencia de las especies de las interacciones mutualistas en el modelo de extinción (el parámetro R) (Vieira & Almeida-Neto 2015). A pesar de esto, el modelo estocástico de coextinción es una simplificación de la realidad que no incorpora todos los procesos ecológicos que ocurren en los sistemas naturales (Timóteo et al. 2016, Vizentin-Bugoni et al. 2020). Por ejemplo, la estimación de la propagación de disturbios podría mejorarse al incluir la habilidad de las especies para recablear interacciones (Vizentin-Bugoni et al. 2020). Finalmente, los resultados del presente capítulo destacan la importancia de considerar la naturaleza multitrófica de las comunidades ecológicas. El uso de redes multicapa como una herramienta para vincular diferentes componentes de sistemas ecológicos complejos es necesario para comprender la respuesta de las comunidades a los procesos promotores del cambio global.



Capítulo 4 - El mutualismo colibrí-muérdago-marsupial reduce el impacto de polinizadores invasores en la comunidad

4.1 Introducción

Las actividades humanas y la globalización producen que las comunidades ganen rápidamente especies no nativas y pierdan especies nativas, lo que conduce al desensamble de la comunidad y a la pérdida tanto de funciones como de servicios ecosistémicos (Sanders et al. 2003, Tylianakis et al. 2008, Bellard et al. 2016). En particular, los polinizadores invasores reducen la abundancia de los polinizadores nativos por interferencia directa (por ejemplo, agresión entre individuos) e indirectamente por el consumo de recursos compartidos (Balfour et al. 2015, Vanbergen et al. 2018). La pérdida de polinizadores nativos puede afectar al éxito reproductivo de las plantas (Dohzono & Yokoyama 2010), perturbar la estructura y la funcionalidad de las redes de polinización (Traveset & Richardson 2014, Valido et al. 2019) y alterar los procesos evolutivos (Vanbergen et al. 2018). Sin embargo, los polinizadores generalistas nativos pueden responder a la creciente competencia con las especies invasoras interactuando más frecuentemente con aquellas especies de plantas que no interactúan con éstas últimas (Montero-Castaño & Vilà 2017, CaraDonna et al. 2017). Así, el impacto de los polinizadores invasores en las comunidades depende no solo de sus rasgos (por ejemplo, la eficiencia de forrajeo) sino también de las propiedades de la comunidad invadida (por ejemplo, el número de especies) que aumentan el conjunto de especies con las que los polinizadores nativos pueden interactuar y escapar de la competencia (Dafni et al. 2010, Kaiser-Bunbury et al. 2010, Valdovinos et al. 2018).

Varios estudios han demostrado que sólo unas pocas especies y sus interacciones pueden ser esenciales para mantener la estructura de la comunidad y los procesos del ecosistema (ej., las especies e interacciones clave), aunque muchas más especies coexistan e interactúan en ellas (Ellison et al. 2005, Rodríguez-Cabal et al. 2013, Valiente-Banuet et al. 2015). En particular, las interacciones mutualistas donde las plantas proveen recursos a animales generalistas pueden favorecer indirectamente la persistencia de varias especies en la comunidad (es decir, hospedador clave y mutualista clave, Mills et al. 1993). Sin embargo, a pesar de la creciente literatura que aborda la importancia de estas interacciones clave y mutualismos en el mantenimiento de las comunidades (Sato et al. 2012, Diaz-Martin et al. 2014, Clark et al. 2019, Vitali et al. 2021), la manera en que estas interacciones afectan el impacto de especies no nativas en la comunidad ha sido poco estudiada. Debido a que la

diversidad de especies en las comunidades dificulta el establecimiento y la propagación, y reduce los impactos de las especies no nativas (Levine et al. 2004, Rius et al. 2014, Elton 2020); entonces, si los mutualismos e interacciones clave aumentan la biodiversidad, podrían hacer que las comunidades locales sean resistentes a los impactos de las especies no nativas. Por el contrario, si los mutualismos e interacciones clave reducen la diversidad de especies locales, las comunidades podrían ser más susceptibles a los impactos de especies no nativas.

Las especies forman parte de redes ecológicas. Por un lado, la mayoría de las redes mutualistas están formadas por un núcleo de especies generalistas centrales que interactúan con otras especies generalistas y especialistas, y por especies especialistas periféricas que sólo interactúan con especies generalistas (Bascompte et al. 2003). En general, las especies generalistas presentan una gran importancia ecológica para otras especies dentro de la red (es decir, “fuerza de la especie” – species strength –). Por ejemplo, un polinizador con elevada fuerza de especie es importante para la polinización de las plantas, ya que gran parte de las plantas con las que interactúa dependen en gran medida de éste en término de frecuencia de visitas (ver definición de dependencia de las especies en el capítulo 3; Bascompte et al. 2006). Además de las interacciones directas, las especies centrales presentan mayor número de interacciones indirectas con otras especies debido a su elevada abundancia (Vázquez et al. 2009). En conjunto, la elevada frecuencia de interacciones directas e indirectas otorgan a las especies centrales una fuerte influencia en la persistencia y evolución de otras especies de la comunidad (Thébault & Fontaine 2008, Martín González et al. 2010, Kaiser-Bunbury et al. 2010). Por otra parte, la forma en que las especies interactúan en las comunidades no son estáticas, sino que varían a lo largo del tiempo, produciendo cambios en la estructura de las redes ecológicas. La estructura de la red puede cambiar a lo largo de la temporada por dos razones: debido a cambios en la composición de las especies (es decir, recambio de especies) o debido a la reagrupación de las interacciones entre el mismo conjunto de especies (es decir, recableado de interacciones, Fig. 4.1) (Poisot et al. 2012, CaraDonna et al. 2017). El recableado de interacciones suele depender de la diversidad de especies en la comunidad: cuando la diversidad aumenta, también lo hace el recableado debido a la presencia de más socios potenciales con los que las especies podrían interactuar (Thébault & Fontaine 2008, Martín González et al. 2010, Kaiser-Bunbury et al. 2010); por el contrario, el recableado disminuye a medida que la diversidad de especies disminuye. De esta manera, incorporar el proceso de recableado de interacciones debería ayudar a entender cómo las especies responden de forma diferente a la misma amenaza en escenarios dispares.

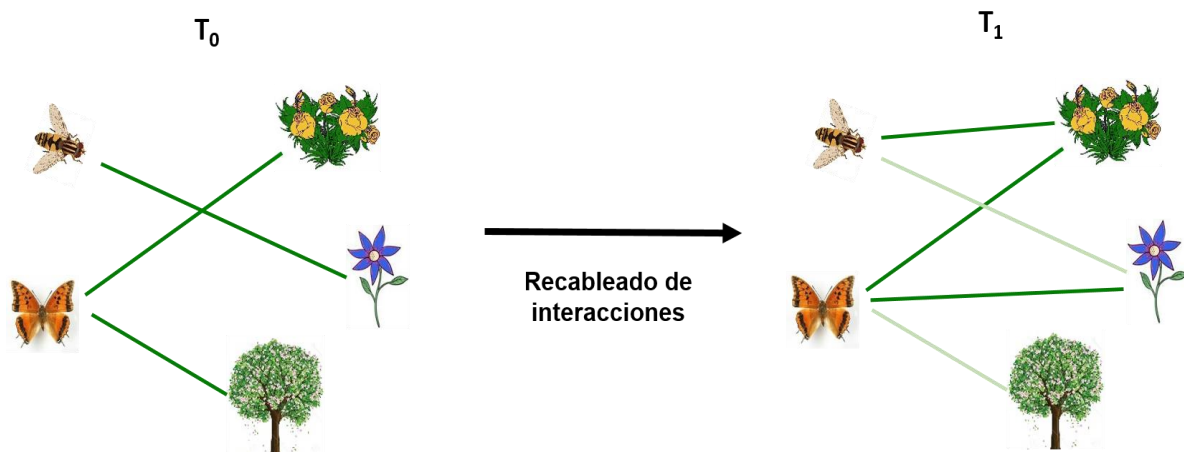


Figura 4.1. Diagrama conceptual que explica el recableado de interacciones de una comunidad a lo largo del tiempo. Durante este proceso las especies reagrupan sus interacciones con especies que anteriormente estaban en la comunidad, pero con las cuales no interactuaban. De esta manera, el recableado de interacciones junto con el recambio de especies, producen un cambio en la estructura de las redes de interacciones a lo largo del tiempo. T_0 y T_1 indican momentos consecutivos en una comunidad. Las líneas verdes representan interacciones entre polinizadores y plantas, mientras que las líneas grises indican la pérdida de interacción entre especies con respecto al tiempo anterior.

La introducción de abejorros no nativos es considerada una amenaza en diversas regiones geográficas (Kenta et al. 2007, Aizen et al. 2019). Particularmente, el abejorro invasor de cola blanca, nativo de Eurasia, *Bombus terrestris*, es ampliamente introducido en muchos países para mejorar la productividad de los cultivos y reducir sus costos de producción a través de su servicio de polinización (Velthuis & van Doorn 2006, Dafni et al. 2010). Sin embargo, varias características de esta especie, como su elevada habilidad de dispersión, hábitos de forrajeo generalista, amplia tolerancia de condiciones ambientales y flexibilidad para anidar, la convierten en una especie con potencial de invasión (Dafni et al. 2010). En los bosques templados de Patagonia, este abejorro se ha extendido rápidamente desde su primer registro en 2006, y actualmente su distribución abarca toda la región, causando impactos negativos en la flora, la fauna y la economía (Torretta et al. 2006, Geslin & Morales 2015, Aizen et al. 2019, Chalcoff et al. 2022). Sin embargo, la presencia de la interacción clave entre el colibrí-muérdago-marsupial en la comunidad podría afectar la forma en que este abejorro impacta en la misma. Por ejemplo, como se observó anteriormente en el capítulo 2, este mutualismo clave está asociado a un aumento en la complejidad de las redes de polinización y dispersión de semillas (Vitali et al. 2021), y además, a la riqueza y abundancia de artrópodos del follaje y plantas (Rodríguez-Cabal et al. 2019). Al aumentar indirectamente la diversidad de especies (Rodríguez-Cabal et al. 2019, Vitali et al. 2021), este

mutualismo clave podría reducir los impactos de los abejorros no nativos en la comunidad al promover el recableado de interacciones de los polinizadores nativos.

En este capítulo, utilicé datos recogidos en cuatro sitios en 1999-2000, antes de la invasión del abejorro *B. terrestris*, para construir redes de polinización (Vázquez & Simberloff 2002). Comparé esas redes previas a la invasión con las redes construidas 11 años después de la invasión para evaluar cómo *B. terrestris* afecta la importancia ecológica de los polinizadores centrales en el bosque templado de Patagonia. Además, evalué si el mutualismo clave colibrí-muérdago-marsupial reduce el impacto de *B. terrestris* construyendo redes de interacción en sitios con y sin este mutualismo clave. En particular, las preguntas abordadas fueron: (1) ¿Afecta el abejorro no nativo *B. terrestris* a los polinizadores centrales en estas redes? Espero que en los sitios anteriores a la invasión las plantas dependan más de los polinizadores centrales (fuerza de las especies) y que esas especies centrales presenten mayores frecuencias de interacciones directas e indirectas únicas (nicho de interacción) que en sitios posteriores a la invasión. (2) ¿El mutualismo clave colibrí-muérdago-marsupial disminuye los impactos del abejorro invasor *B. terrestris* en la comunidad nativa? Espero que en los sitios post-invasión con el mutualismo clave las plantas dependan más de los polinizadores centrales (fuerza de las especies) y que esas especies centrales presenten mayores frecuencias de interacciones directas e indirectas únicas (nicho de interacción) que en sitios post-invasión sin dicho mutualismo. (3) ¿Es el recableado de interacciones el mecanismo por el cual se produce una reducción en el impacto del polinizador invasor? Espero que el mutualismo clave aumente la diversidad de especies en la comunidad, promoviendo el recableado de interacciones y reduciendo los impactos del abejorro no nativo *B. terrestris* sobre las especies centrales. Propongo que el recableado de interacciones será mayor en los sitios con el mutualismo clave que en los sitios sin él.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Área de estudio

El estudio se realizó en el Parque Nacional Nahuel Huapi y en el Parque Municipal Llao Llao, en el noroeste de Patagonia, Argentina.

Para realizar el presente estudio, se seleccionaron ocho sitios con una comunidad vegetal nativa típica del bosque templado patagónico (ver capítulo 1 para más información). Cuatro sitios fueron evaluados en 1999-2000 antes de la introducción de *B. terrestris*; llamados en adelante "sitios pre-invasión". Los datos utilizados para representar estos sitios

proviene de un estudio publicado por Vázquez y Simberloff (2002) donde el muestreo se realizó durante una temporada. Al igual que los sitios de la presente tesis, estos presentan dos estratos bien diferenciados: dosel arboreo mixto dominado por coihue (*N. dombeyi*) y acompañado por ciprés (*Austrocedrus chilensis*), y sotobosque dominado por arbustos de gran tamaño y herbáceas que son mayormente polinizadas por animales (*A. chilensis* y *Alstroemeria aurea*). Además, es importante destacar que estos sitios no presentaban el mutualismo tripartito. Para mayor detalle de la ubicación geográfica de los sitios ver la Fig. 4.2. A pesar de que en Vázquez y Simberloff (2002) se evaluaron ocho sitios, en este estudio sólo se incluyeron aquellos cuatro sitios que no tenían ganado porque su presencia tiene múltiples efectos sobre la comunidad, incluyendo sobre los polinizadores (Vázquez 2002), lo que podría generar confusión al estimar los efectos del abejorro no nativo. Por otro lado, más de 11 años después del primer registro de este polinizador no nativo, estudié cuatro sitios en 2017-2018 y 2018-2019. Dos de los nuevos sitios presentaban una elevada densidad de muérdagos, y dos sitios baja densidad de muérdagos. Ambos sitios corresponden a los “sitios intactos con el mutualismo tripartito” y “sitios intactos sin el mutualismo tripartito”, detallados en el capítulo 2 (Tabla 2.1 y 2.2). De ahora en adelante, estos sitios serán llamados “sitios post-invasión con el mutualismo clave” y “sitios post-invasión sin el mutualismo clave” para facilitar la comprensión de los tratamientos con respecto al abejorro invasor *B. terrestris*.

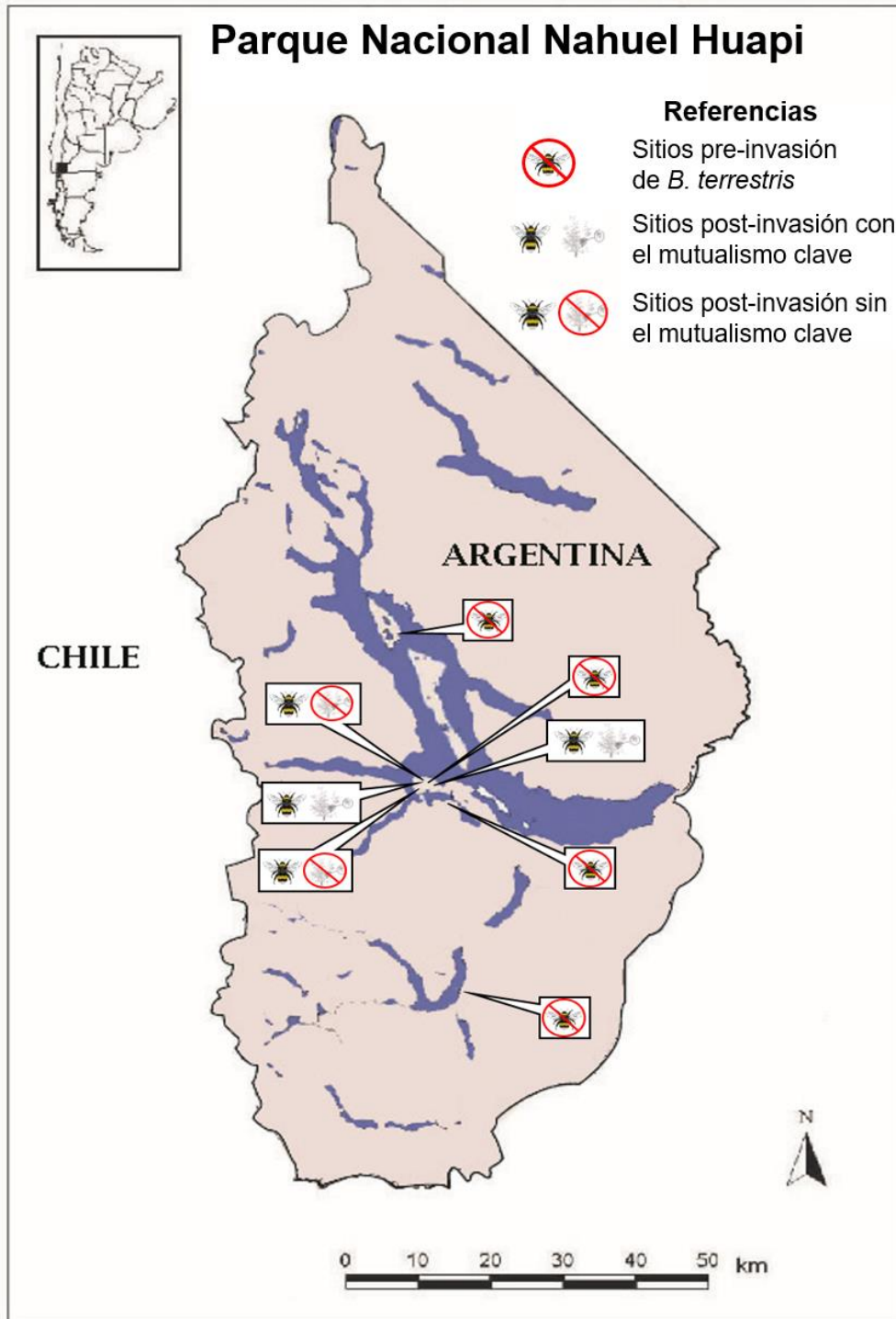


Figura 4.2. Mapa del Parque Nacional Nahuel Huapi con ubicación de los sitios. Esta figura fue extraída de Vázquez y Simberloff (2002) y modificada para incluir también los sitios muestreados en la presente tesis.

4.2.2 Colecta de datos

En Vázquez y Simberloff (2002) la colecta de datos en los sitios se llevó a cabo de manera similar a los sitios posteriores a la invasión del abejorro *B. terrestris*. En dicho trabajo y en la presente tesis, durante la temporada de floración se identificaron todas las plantas polinizadas por animales y se realizaron censos de polinización de 10 minutos por planta para registrar las interacciones planta-polinizador (ver capítulo 2 para más información de la metodología). A pesar de que el área de cada sitio pre-invasión varió entre 6 y 12ha, siendo mayor que los sitios post-invasión, el esfuerzo de muestreo fue suficiente para representar de manera robusta a la comunidad. La lista de matrices usadas para constuir las redes de interacciones en los sitios previos a la invasión es de acceso libre (<https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00534.x>). En total, se realizaron 1423 censos de polinización en los sitios pre-invasión. De hecho, las curvas de acumulación suavizadas de la riqueza de interacción de especies en los sitios pre-invasión sugieren que no se detectaría sustancialmente nuevas interacciones debido a un mayor esfuerzo de muestro (Fig. 4.3). Los datos de la comunidad planta-polinizador de los sitios pre-invasión están detallados en la Tabla 4.1 y son comparables con los datos recolectados en la presente tesis. Para mayor información sobre el esfuerzo de muestreo en los sitios post-invasión ver capítulo 2.

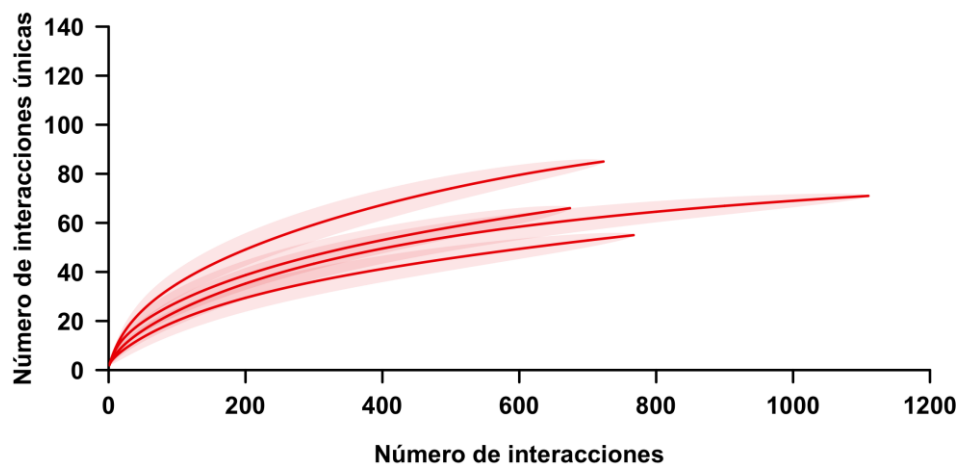


Figura 4.3. Curvas de acumulación suavizadas de la riqueza de interacciones entre especies según el número de interacciones registradas en cada sitio previo a la invasión de *Bombus terrestris*. Cada línea muestra la media de la riqueza de interacciones de las especies según el número de interacciones registradas. El área sombreada alrededor de cada curva indica el intervalo de confianza del 95% alrededor de la media.

Tabla 4.1. Esfuerzo de muestreo de las redes de polinización correspondientes a los sitios del tratamiento pre-invasión de *B. terrestris*.

Tratamiento	Temporada	Sitio	Censos totales	N° especies de plantas	N° especies de polinizadores	N° enlaces	N° Int.
Pre-invasión <i>B. terrestris</i>	1999-2000	1	470	12	28	68	677
		2	407	12	26	72	1130
		3	313	11	35	85	719
		4	233	11	22	56	761

4.2.3 Análisis de datos

Para cada uno de los cuatro sitios pre-invasión de *B. terrestris* construí una red planta-polinizador, mientras que para cada uno de los sitios post-invasión construí una red de polinizadores por temporada. En total, construí 12 redes de planta-polinizador, cuatro corresponden a sitios pre-invasión, cuatro a sitios post-invasión con el mutualismo clave, y cuatro a sitios post-invasión sin el mutualismo clave.

Construí modelos de regresión GLMM para comprobar si el número de especies e interacciones en las redes difieren entre los sitios anteriores a la invasión de *B. terrestris* y los sitios posteriores a la invasión con y sin el mutualismo clave. Dentro de los modelos, seleccioné el número de especies e interacciones como variables respuesta y el estado de la invasión con la presencia o ausencia del mutualismo clave del sitio como factor fijo (pre-invasión, post-invasión con el mutualismo clave y post-invasión sin el mutualismo clave). Además, agregué "Sitio" y "Año" como factores aleatorios en el modelo para controlar las diferencias entre sitios y años, y para considerar medidas repetidas del mismo sitio. Por otro lado, utilicé la distribución de Poisson con una función de enlace logarítmica porque el número de especies y las interacciones consisten en datos de conteos; sin embargo, utilicé una distribución binomial negativa cuando los datos presentaron sobredispersión (Zuur et al. 2009). Finalmente, realicé una prueba a posteriori llamada test de falso descubrimiento (Benjamini & Hochberg 1995) para comparar el número de especies e interacciones entre los sitios anteriores a la invasión de *B. terrestris* y los sitios posteriores a la invasión con y sin el mutualismo clave. Todos los modelos GLMM se realizaron utilizando el paquete lme4 del programa R (Bates et al. 2014, R Core Team 2021).

En el presente capítulo, me enfoqué en las especies centrales de polinizadores debido a su papel crítico en el mantenimiento de la estructura de la red y su gran influencia en la persistencia y evolución de otras especies en la red (Martín González et al. 2010). La centralidad de las especies se calculó utilizando el índice “cercanía ponderada” (weighted closeness) en el paquete bipartite del programa R (Dormann et al. 2008), que considera la distancia a otras especies en la red y la frecuencia de sus interacciones. Para seleccionar las especies centrales, calculé la centralidad de todos los polinizadores en los sitios previos a la invasión y clasifiqué las especies de mayor a menor valor de centralidad. Finalmente, seleccioné aquellas especies que ocupaban posiciones centrales en al menos tres sitios. Este procedimiento dio como resultado un total de cinco especies centrales de polinizadores con valores de centralidad superiores a 0,0075. La inclusión de más especies incorporaría especies periféricas con baja centralidad en las redes y con presencia poco consistente en los sitios.

Fuerza de las especies centrales – Calculé el índice “fuerza de las especies” de cada especie central para medir su importancia como polinizadores. Este índice se define como la suma de las dependencias de cada planta de ser visitada por el polinizador central (ver definición de dependencia en el capítulo 3, Bascompte et al. 2006) y se calculó con el paquete bipartite de R. Una vez calculado este índice, llevé a cabo análisis de regresiones para comprobar si la fuerza de las especies de cada polinizador central difiere entre los sitios previos a la invasión frente a los sitios posteriores a la invasión con el mutualismo clave, y entre los sitios previos a la invasión frente a los sitios posteriores a la invasión sin el mutualismo clave. De esta manera, construí dos modelos de regresión para cada polinizador central utilizando la fuerza de la especie como variable respuesta con una combinación diferente de factores fijos (sitios pre-invasión vs. sitios post-invasión con el mutualismo clave, y sitios pre-invasión vs. sitios post-invasión sin el mutualismo clave). Además, seleccioné "Sitio" y "Año" como factores aleatorios en los modelos. Como la variable respuesta es continua con valores positivos y no presentaba normalidad, utilicé la distribución gamma con una función de enlace inversa (Zuur et al. 2009). Los modelos GLMM se realizaron utilizando el paquete lme4 del programa R (Bates et al. 2014, R Core Team 2021).

Nicho de interacción central – Para analizar las redes de polinización, utilicé los "motivos" (motifs) de la red (como en el capítulo 2), subredes integradas por un pequeño número de especies que permiten detectar interacciones directas y potenciales indirectas entre especies, obtenidas al desarmar la red de interacción completa. Cada motivo comprende al menos dos posiciones únicas que representan diferentes patrones ecológicos y que pueden ser ocupadas

simultáneamente por diferentes especies. Información más detallada sobre los motivos se encuentra disponible en la sección 2.2.3 de la tesis. En este capítulo, utilicé el concepto nicho de interacción de una especie, definido como la frecuencia de posiciones que la especie ocupa en la red ecológica y que permite considerar efectos directos e indirectos (Baker et al. 2015, Simmons et al. 2019a, 2019b). Dicho concepto es equivalente al número de posiciones ocupadas por especie calculado en el capítulo 2. Entonces, cuanto mayor sea la presencia de una especie en todas las posiciones de los motivos (medida de centralidad del motivo), más amplio será su nicho de interacción y, por lo tanto, su importancia, debido a que la especie participa en diferentes vías que regulan la estructura y funcionalidad de la red (Sun et al. 2020).

Primero, estimé la frecuencia de posiciones ocupadas por las especies centrales (nicho de interacción), previamente seleccionadas en todos los sitios, utilizando el paquete `bmotif` del programa R (Simmons et al. 2019b). Los datos fueron normalizados utilizando el método "contribution", que expresa los recuentos de posiciones de una especie como la proporción del peso total de la aparición de ese motivo al considerar toda la fuerza de la especie que aparece en la posición. Además, definimos el nicho de interacción central de cada tratamiento como el conjunto de posiciones ocupadas por las especies centrales sometidas a dicho tratamiento. Esta definición dio como resultado tres nichos de interacción central: nicho de interacción central de los sitios pre-invasión, nicho de interacción central de los sitios post-invasión con el mutualismo clave, y nicho de interacción central de los sitios post-invasión sin el mutualismo clave.

En segundo lugar, utilicé dos análisis multivariados no paramétricos de la varianza (PERMANOVA) para evaluar la disimilitud del nicho de interacción central entre los sitios previos a la invasión frente a los sitios posteriores a la invasión con el mutualismo clave, y entre los sitios previos a la invasión frente a los sitios posteriores a la invasión sin el mutualismo clave. Este método utiliza un pseudoestadístico F para comparar las disimilitudes entre y dentro de los grupos (Anderson 2001). Seleccioné el índice de disimilitud de Bray-Curtis porque es robusto para múltiples propiedades ecológicas, incluidos los motivos (Anderson 2001, Baker et al. 2015, Simmons et al. 2019b). Además, en ambos modelos, utilicé el estado de invasión del sitio (pre-invasión y post-invasión) como factor fijo, estratificado por sitio para considerar las medidas repetidas utilizando la función `adonis2`. Las pruebas PERMANOVA fueron realizadas con el paquete `vegan` del programa R (Oksanen et al. 2013), utilizando 9999 permutaciones para calcular la distribución nula. Además, para

validar los resultados, estimé la dispersión de los datos con la función `betadisp` del paquete `vegan` y puse a prueba si la misma variaba entre el estado de invasión del sitio (factor fijo) con un ANOVA de una vía. Los test ANOVA se realizaron con el paquete `lme4` de R (Bates et al. 2014). Los resultados de las pruebas PERMANOVA no fueron causados por una dispersión heterogénea de los datos debido a que no se encontraron diferencias significativas en los valores de dispersión entre los sitios con diferente estado de invasión.

Por último, utilicé la técnica escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para visualizar los cambios del nicho de interacción central entre los sitios previos a la invasión frente a los sitios posteriores a la invasión con el mutualismo clave, y entre los sitios previos a la invasión frente a los sitios posteriores a la invasión sin el mutualismo clave. Utilizando la misma metodología de Simmons y colaboradores (2019a), asigné significado ecológico a los ejes del NMDS calculando primero las cargas de los ejes. Para eso, extraje las posiciones de los motivos (elemento "especie", columnas de la matriz en mi caso) de la salida del NMDS utilizando la función `loadings`. Luego, interpreté el significado ecológico de cada eje examinando las posiciones de los motivos asociadas a sus cinco valores máximos y mínimos. Por ejemplo, si los valores más altos de un eje correspondían a posiciones de motivos que implican a polinizadores que compiten mucho por los recursos, los valores más altos del eje representaron una gran competencia entre polinizadores. Por otro lado, si los valores más altos de un eje correspondían a posiciones de motivos que implican a polinizadores que compiten poco por los recursos, los valores más altos del eje representaron una baja competencia entre polinizadores. El NMDS se realizó con la función `metaMDS` del paquete `vegan` (Oksanen et al. 2013) del programa R.

Recableado de las interacciones – Para cada sitio posterior a la invasión, desarmé la red entera en subredes temporales de dos semanas de intervalo para estimar el recableado de las interacciones a lo largo de la temporada. En total, construí entre siete y diez subredes temporales por sitio (Tabla 4.2). Para construir cada subred temporal, consideré al menos dos muestreos de visitas a las plantas y las subredes temporales consecutivas estuvieron separadas de seis a ocho días entre sí. Además, el número de subredes temporales varió en función de la presencia de plantas con flor en el sitio y de las interacciones registradas. De esta manera, se excluyeron los datos de las subredes sin registros de interacciones y con ausencia de plantas con flor. Después de construir las subredes temporales, calculé el recambio de interacciones (β_{int}) entre ellas, que cuantifica la disimilitud de interacciones entre dos subredes temporales consecutivas. Para ello, seleccioné el índice de disimilitud de Bray-Curtis porque tiene en

cuenta la frecuencia de interacción entre especies. El recambio de interacciones presenta valores de 0 a 1 y los valores más altos indican mayores cambios en las interacciones entre las subredes temporales consecutivas (Poisot et al. 2012, CaraDonna et al. 2017). Además, el recambio de interacciones puede dividirse como $\beta_{int} = \beta_{st} + \beta_{rw}$, donde los cambios en β_{int} pueden surgir debido al recambio de especies (β_{st}) y/o al recableado de las interacciones entre especies (β_{rw} , Fig. 4.1) (Poisot et al. 2012). Esta partición me permite estimar el recableado de interacciones entre las especies. A pesar de que la partición del recambio de interacciones es robusta frente a un reducido esfuerzo de muestreo (Poisot et al. 2012), evalué el esfuerzo de muestreo de cada subred temporal comparando la riqueza de interacciones observada con el valor de la riqueza de interacciones estimado mediante un estimador de abundancia-riqueza (Chao 1). El estimador de abundancia-riqueza sugirió que la mayor parte de las interacciones entre especies fueron detectadas en cada red bisemanal (en promedio 86 - 93 % de las interacciones, véase la Tabla 4.2 para más detalle).

Tabla 4.2. Esfuerzo de muestreo de las subredes temporales planta-polinizador de dos semanas correspondientes a los sitios post-invasión de *B. terrestris* con y sin el mutualismo clave. El esfuerzo de muestreo de cada red fue evaluado comparando la riqueza de interacciones observada con la riqueza de interacciones estimada. El estimador de riqueza no paramétrico basado en la abundancia, Chao 1, fue utilizado porque los datos de interacciones están basados en la abundancia (Gotelli & Colwell 2001, Chao et al. 2004). Los números que identifican cada sitio corresponden a los detallados en la Tabla 2.1 (tratamientos CMT y SMT).

Tratamiento	Sitio	Año	Subred temporal	Int. observadas	Int. estimadas	Int. muestreadas (%)
Post-invasión con el mutualismo clave	1	2017	1	11	12,45	88,4
			2	6	6,47	92,7
			3	10	10	100
			4	27	32,27	83,7
			5	13	13,87	93,7
			6	26	34,27	75,9
			7	16	18,9	84,7
			8	8	8,63	92,7
			9	3	3	100
	1	2018	1	24	28	85,7
			2	11	12,2	90,2
			3	12	12,98	92,4
			4	40	44,5	89,9
			5	22	23,77	92,6
			6	14	16	87,5
			7	22	24,22	90,8
			8	21	24,42	86
			9	4	4	100
			10	2	2	100
Post-invasión con el mutualismo clave	2	2017	1	10	10,24	97,7
			2	9	9,48	94,9
			3	9	10,46	86,0
			4	7	7,24	96,7
			5	3	3	100
			6	24	28,86	83,2
			7	16	16,99	94,2
			8	5	6,9	72,5
			9	17	18,48	92
			10	6	6	100
	2	2018	1	12	12,99	92,4
			2	11	12,47	88,2
			3	4	4	100
			4	17	17,99	94,5
			5	19	21,63	87,8
			6	11	11,93	92,2
			7	21	25,83	81,3
			8	15	16,47	91,1
			9	7	8,93	78,4
10			10	10,24	97,7	

Tratamiento	Sitio	Año	Subred temporal	Int. observadas	Int. estimadas	Int. muestreadas (%)
Post-invasión sin el mutualismo clave	1	2017	1	2	2	100
			2	10	10,96	91,2
			3	6	6	100
			4	4	4	100
			5	3	3	100
			6	9	9,4	95,7
			7	9	11,48	78,4
			8	6	7,9	75,9
	1	2018	1	8	10,55	75,8
			2	4	6,76	59,2
			3	7	7	100
			4	11	11,99	91,7
			5	6	6	100
			6	4	4	100
			7	3	3	100
			8	7	7	100
	2	2017	1	2	2	100
			2	3	3	100
			3	5	7	71,4
			4	2	2	100
			5	8	9,44	84,7
			6	3	3	100
			7	3	4	75
	2	2018	1	4	4	100
2			7	7,93	88,3	
3			3	3,93	76,3	
4			4	4	100	
5			12	12,98	92,4	
6			5	7,92	63,1	
7			10	10,98	91,1	
8			4	4,96	80,6	
		9	5	5	100	

Finalmente, comparé el recableado de las interacciones (β_{rw}) entre los sitios post-invasión con y sin el mutualismo clave. Para ello, construí un modelo de regresión con los valores de recableado de interacciones (β_{rw}) como variable respuesta y la presencia o ausencia del mutualismo clave como factor fijo. Utilicé la distribución Beta porque la variable respuesta es continua y tiene valores entre 0 y 1, e incorporé "Año" anidado en "Sitio" como factor aleatorio en el modelo para incluir medidas repetidas (subredes temporales) del mismo año en cada sitio. Además, incluí ambas temporadas en el modelo debido a que el recableado de interacciones es consistente a través de los años (CaraDonna et al. 2017). Por último,

realicé pruebas "Ljung-Box" para comprobar la independencia temporal del recableado de interacciones dentro de cada temporada y sitio; no encontré autocorrelación temporal ($P > 0,05$). Los análisis se realizaron con los paquetes bipartite, glmmADMB y stats del programa R (Fournier et al. 2012, R Core Team 2021).

4.3 Resultados

El número de especies fue mayor en los sitios posteriores a la invasión con el mutualismo clave (21 ± 2 plantas y 46 ± 3 polinizadores) que en los sitios posteriores a la invasión sin el mutualismo clave (10 ± 1 plantas y 24 ± 2 polinizadores) y en los sitios previos a la invasión ($11 \pm 0,3$ plantas y 39 ± 2 polinizadores) ($z = -5,851$, $P < 0,001$; $z = -6,389$, $P < 0,001$). Similarmente, el número de interacciones fue mayor en los sitios post-invasión con el mutualismo clave (708 ± 103 interacciones directas) que en los sitios post-invasión sin el mutualismo clave (187 ± 34 interacciones directas; $z = -6,237$, $P < 0,001$), pero no se encontraron diferencias con los sitios pre-invasión (821 ± 90 interacciones directas; $z = 0,651$, $P = 0,791$). Por otro lado, el número de especies no varió entre los sitios previos a la invasión y posteriores a la invasión sin el mutualismo clave ($z = 0,593$, $P < 0,832$) pero sí el número de interacciones totales ($z = 5,950$, $P < 0,001$). La proporción de interacciones que involucraron las especie centrales fue del $79 \pm 6\%$ (665 ± 111 interacciones) en los sitios pre-invasión, del $15 \pm 4\%$ (120 ± 49 interacciones) en los sitios post-invasión con el mutualismo clave, y sólo del $3 \pm 1\%$ (6 ± 3 interacciones) en los sitios post-invasión sin el mutualismo clave. Además, el polinizador no nativo *B. terrestris* participó en el $16 \pm 1\%$ de las interacciones directas (110 ± 16 interacciones) en los sitios con el mutualismo clave y en el $27 \pm 8\%$ de las interacciones directas (41 ± 10 interacciones) en los sitios sin el mutualismo clave.

Fuerza de las especies centrales – La fuerza de las especies de algunos polinizadores centrales difirió entre los sitios pre-invasión y los sitios post-invasión con el mutualismo clave. En los sitios con el mutualismo clave, el abejorro nativo central (*B. dahlbomii*) redujo casi 7 veces su fuerza, lo que sugiere una reducción de su importancia para la comunidad de plantas después de la invasión de *B. terrestris* ($F = 10,688$, $P < 0,001$). Contrariamente, dos especies centrales aumentaron al menos 4,9 veces su fuerza en los sitios con el mutualismo clave (las abejas *Ruizantheda mutabilis* y *Manuelia gayi*) y, en consecuencia, la dependencia de las plantas de ellas después de la invasión de *B. terrestris*; sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas ($F = 2,915$, $P = 0,348$; $F = 3,533$, $P = 0,338$, respectivamente). Por otro lado, no registré ninguna o suficientes visitas de dos especies centrales (la abeja *Policana*

albopilosa y el abejorro exótico *B. ruderatus*) en los sitios post-invasión con el mutualismo clave para evaluar estadísticamente el cambio en su fuerza de especie (Fig. 4.4). De la misma manera, tampoco fue posible evaluar estadísticamente el cambio en la fuerza de las especies centrales entre los sitios pre-invasión y los sitios post-invasión sin el mutualismo clave. La ausencia de visitas de polinizadores centrales en los sitios post-invasión sin la interacción clave sugiere una reducción abrupta de su importancia como polinizadores en las redes ecológicas después de la invasión de *B. terrestris* (Fig. 4.4). Finalmente, *B. terrestris* presentó valores elevados en su fuerza de especie en los sitios con y sin el mutualismo clave, lo que sugiere una elevada importancia para las plantas en ambas comunidades (Fig. 4.4).

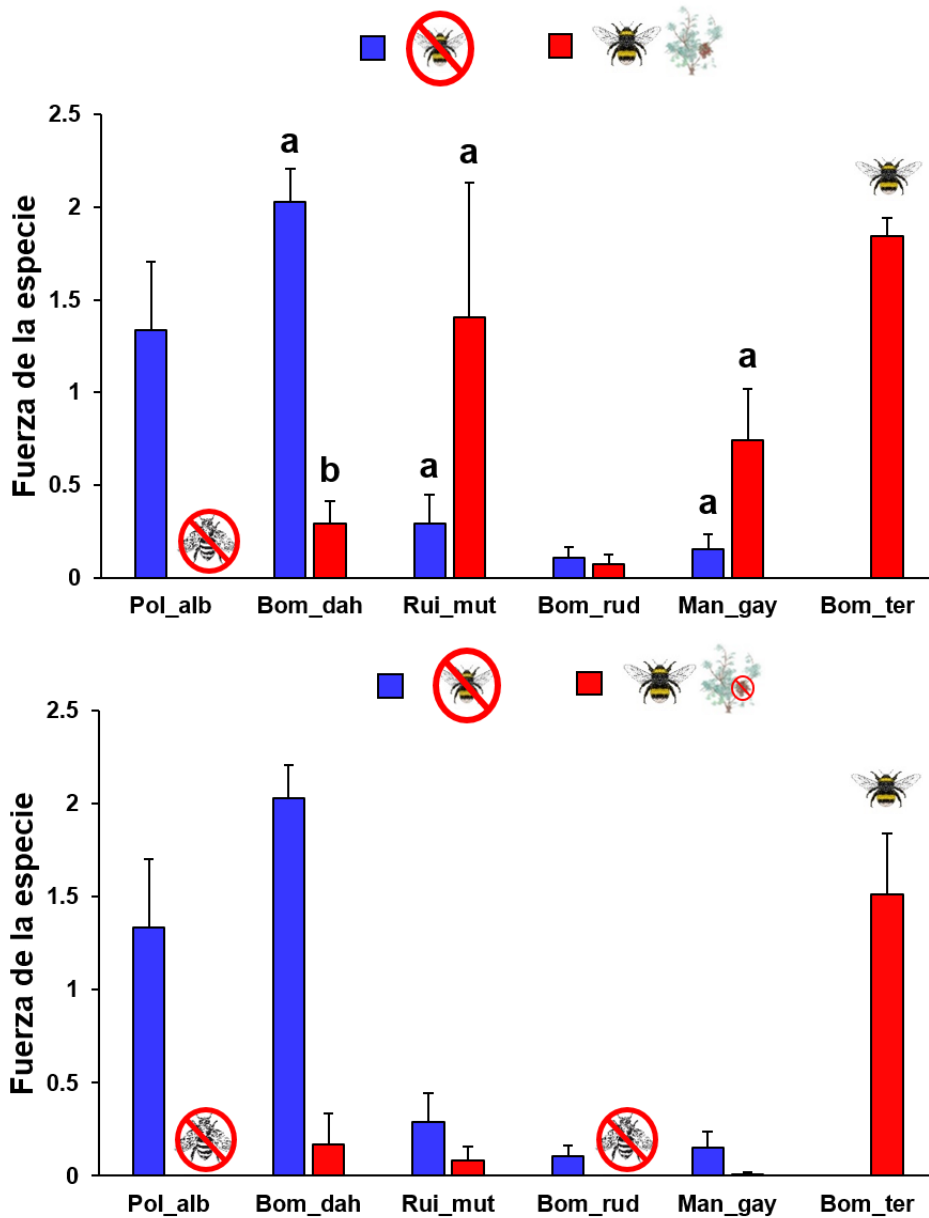


Figura 4.4. Cambios en la fuerza de las especies para cada especie central entre los sitios pre-invasión y post-invasión con el mutualismo clave (panel superior) y los sitios post-invasión sin el mutualismo clave (panel inferior). Los colores de las barras representan los sitios: sitios pre-invasión (azul) y sitios post-invasión con y sin el mutualismo clave (rojo). Especies centrales de izquierda a derecha: *Policana albopilosa*, *Bombus dahlbomii*, *Ruizantheda mutabilis*, *Bombus ruderatus*, *Manuelia gayi* y el polinizador no nativo *Bombus terrestris*. Las letras significan diferencias significativas entre sitios. Las barras representan la media \pm el error estándar.

Nicho de interacción central – Antes de la introducción de *B. terrestris*, el nicho de interacción central ocupaba una porción mayor del espacio multivariado definido por los dos ejes NMDS (Fig. 4.5) y todas las especies centrales tenían una elevada contribución a las

posiciones de los motivos (Fig. 4.6a), lo que sugiere un elevado nicho de interacción y un gran papel en la regulación de la estructura y funcionalidad de las redes. Además, según la asociación entre los valores máximos y mínimos en los ejes NMDS y las posiciones de los motivos (Fig. 4.5, Apéndice 4: Tabla A4.1-A4.4), los polinizadores centrales compitieron con polinizadores generalistas y especialistas y visitaron tanto plantas generalistas como las especialistas. Después de la introducción de *B. terrestris*, el nicho de interacción central cambió en los sitios con el mutualismo clave ($F_{1,29} = 3,862$, $P = 0,029$, Fig. 4.5). Cuando el mutualismo clave estaba presente solamente una especie central (*P. albopilosa*) fue completamente desplazada de las redes (línea púrpura en la Fig. 4.6b), mientras que dos especies centrales (*B. dahlbomii* y *B. ruderatus*) redujeron al menos 2,4 y 2,2 veces su contribución en todas las posiciones de los motivos (medida de centralidad de los motivos, $6,87 \pm 1,10$ y $1,96 \pm 1,20$ respectivamente) y, en consecuencia, su nicho de interacción (líneas azul y verde en la Fig. 4.6b). Además, dos especies centrales (*M. gayi* y *R. mutabilis*) aumentaron casi 1,9 y 1,2 veces su medida de centralidad de los motivos ($8,54 \pm 2,29$ y $12,23 \pm 2,28$), su frecuencia de interacciones directas e indirectas únicas y su papel en el mantenimiento de la estructura y funcionalidad de la red (líneas marrón y gris en la Fig. 4.6b). Los valores más positivos del primer y segundo eje NMDS sugieren que los polinizadores centrales tendieron a competir sobre todo con especies especialistas y principalmente por plantas especialistas, disminuyendo la presión de la competencia a niveles bajos y medios después de la introducción de *B. terrestris* (Fig. 4.5, Apéndice 4: Tabla A4.1 y A4.2).

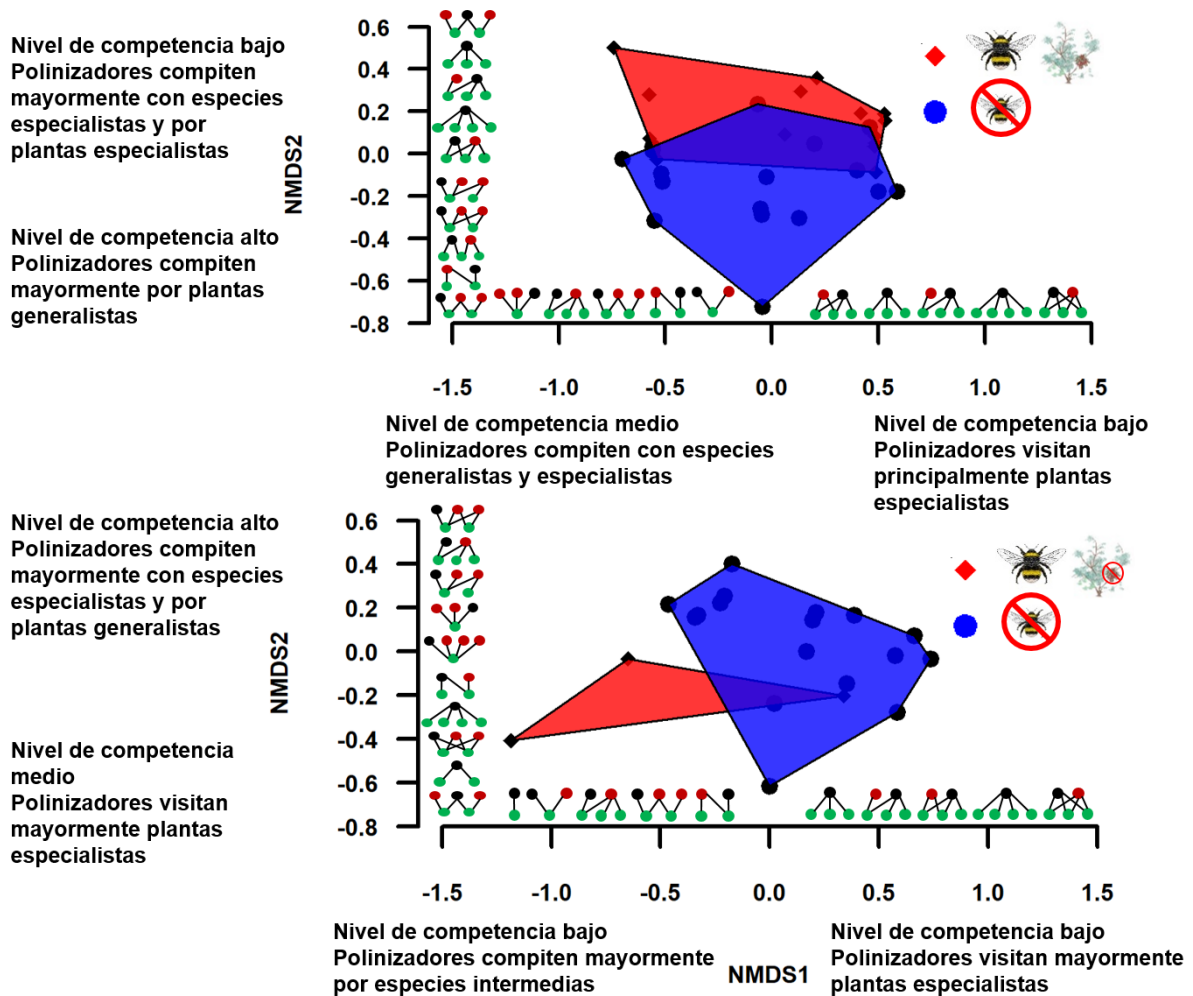


Figura 4.5. Cambios en el nicho de interacción central entre los sitios pre-invasión y post-invasión con el mutualismo clave (panel superior) y los sitios post-invasión sin el mutualismo clave (panel inferior). Cada punto y cada diamante representan la frecuencia de las posiciones ocupadas por las especies antes y después de la introducción del polinizador no nativo. El color del polígono representa el área del nicho de interacción central en los sitios pre-invasión de *B. terrestris* (azul) y en los sitios post-invasión (rojo). La interpretación ecológica de los ejes NMDS se obtuvo asociando los cinco valores máximo y mínimo de los ejes con las posiciones de los motivos (ver el Apéndice 4: Tabla A4.1-A4.4 para más detalle). Los círculos superiores e inferiores de los motivos representan las especies de polinizadores y plantas. Los círculos negros rellenos indican las posiciones de los motivos ocupadas por los polinizadores centrales y asociadas a los valores extremos de los ejes NMDS.

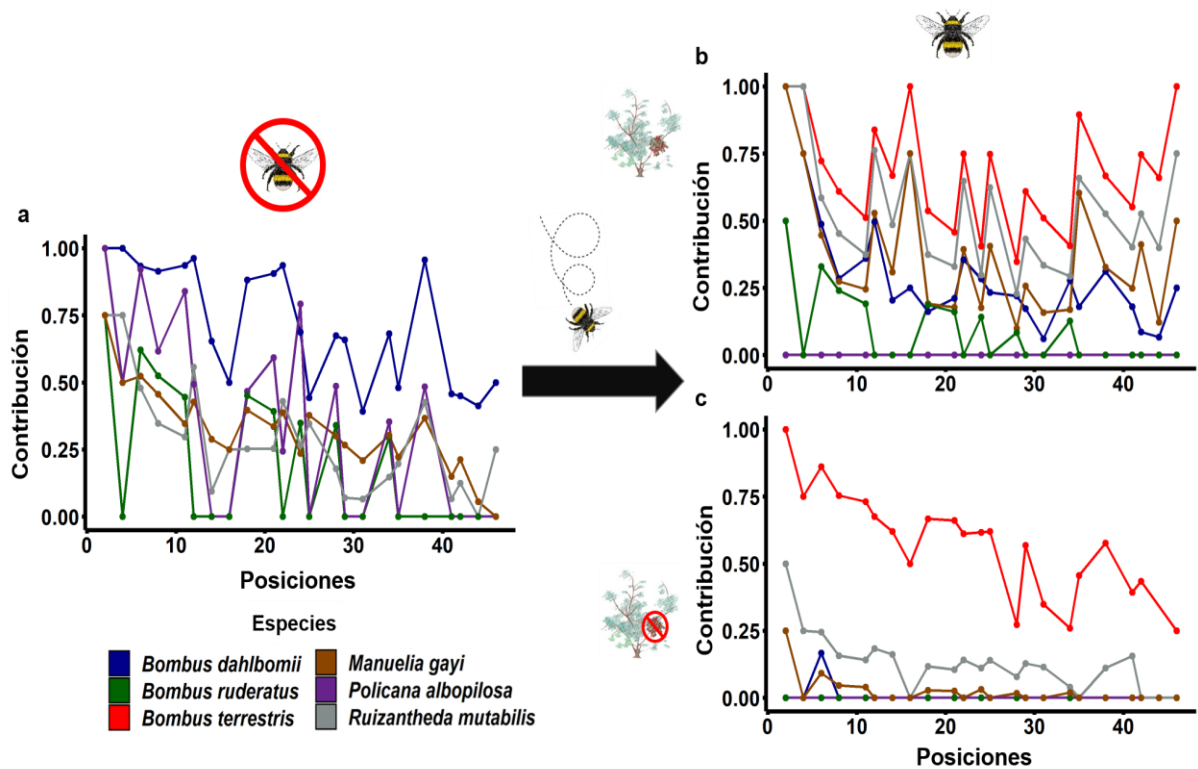


Figura 4.6. Contribución de cada especie central a las posiciones de los motivos en los sitios pre-invasión de *B. terrestris* (a) y en los sitios post-invasión con (b) y sin (c) el mutualismo clave. Los valores cercanos a 1 y 0 indican una contribución elevada y baja a una posición determinada del motivo, respectivamente. Cuanto mayor sea la contribución de una especie en las diferentes posiciones de los motivos, mayor será su importancia en la red de polinización. El color de las líneas corresponde a las cinco especies polinizadoras más importantes: *Bombus dahlbomii* (azul), *Bombus ruderatus* (verde), *Manuelia gayi* (marrón), *Policana albopilosa* (morado) y *Ruizantheda mutabilis* (gris). La especie polinizadora invasora, *Bombus terrestris*, está representada con una línea roja.

Similarmente, el nicho de interacción central de las redes cambió en los sitios sin el mutualismo clave después de la invasión de *B. terrestris* ($F_{1,19} = 4,677$, $P = 0,012$, Fig. 4.5). El impacto de *B. terrestris* fue mayor en ausencia del mutualismo clave: dos especies centrales (*P. albopilosa* y *B. ruderatus*) fueron completamente desplazadas de las redes (líneas verde y púrpura en la Fig. 4.6c) mientras que las especies centrales restantes (*B. dahlbomii*, *M. gayi* y *R. mutabilis*) redujeron casi 40, 13,7 y 2,3 veces su contribución en todas las posiciones de los motivos ($0,42 \pm 0,42$, $0,55 \pm 0,55$, y $2,88 \pm 2,21$ respectivamente), lo que sugiere una reducción de su nicho de interacción y su contribución en el mantenimiento de la estructura y funcionalidad de la red (líneas azul, marrón y gris en la Fig. 4.6c). Además, los polinizadores centrales compitieron principalmente con especies de forrajeo intermedio (valores negativos del primer eje NMDS) y por plantas especialistas (valores positivos y negativos del primer y

segundo eje NMDS), experimentando un nivel de competencia bajo y medio (Fig. 4.5, Apéndice 4: Tabla A4.3 y A4.4). En adición, *B. terrestris* presentó la mayor contribución en todas las posiciones de los motivos en los sitios con ($15,64 \pm 0,68$) y sin ($12,62 \pm 2,44$) el mutualismo clave (línea roja en la Fig. 4.6b y c), lo que sugiere una alta frecuencia de interacciones directas e indirectas y una alta contribución a la estructura y funcionalidad de la red. Sin embargo, la frecuencia de las interacciones directas e indirectas de algunos polinizadores centrales fue cercana a los valores registrados para *B. terrestris* en sitios con el mutualismo clave (Fig. 4.6b).

Recableado de las interacciones – El recableado de interacciones fue al menos 4 veces mayor en los sitios post-invasión con el mutualismo clave que en los sitios post-invasión sin el mutualismo clave ($z = 2,28$, $P = 0,023$, Fig. 4.7). En promedio, el recableado de interacciones contribuyó un 50% al recambio de interacciones en los sitios post-invasión con el mutualismo clave (44% en 2017 y 55% en 2018) frente al 12% registrado en los sitios post-invasión sin el mutualismo clave (13% en 2017 y 11% en 2018) (Fig. 4.7).

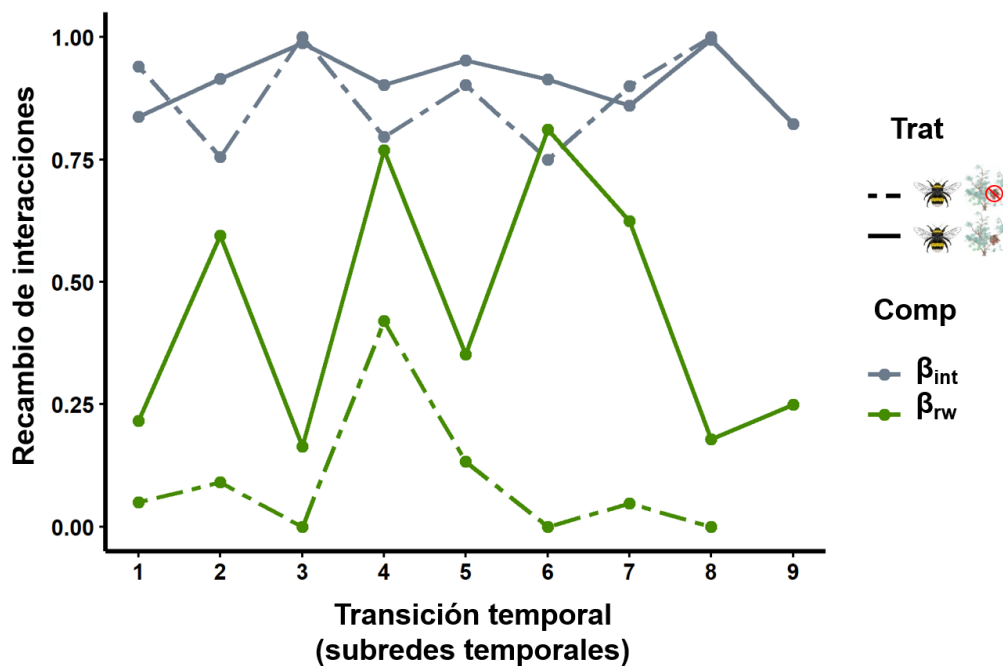


Figura 4.7. Contribución del recableado de interacciones al recambio total de interacciones a lo largo de temporada en los sitios post-invasión de *B. terrestris* con y sin el mutualismo clave. Los valores elevados de β_{int} y β_{rw} indican una alta disimilitud de interacciones entre subredes temporales consecutivas y una alta contribución del recableado de interacciones en dicha disimilitud, respectivamente. El color de las líneas representa el recambio total de interacciones (gris) y el recableado de interacciones (verde). Las líneas continuas y discontinuas representan los sitios post-

invasión con el mutualismo clave y sin él.

4.4 Discusión

Los resultados encontrados en este capítulo proporcionan información sobre el papel clave que desempeñan las interacciones positivas en la estructura de la comunidad a lo largo del tiempo a través de interacciones directas e indirectas. Particularmente, el mutualismo colibrí-muérdago-marsupial reduce los impactos de un polinizador invasor generalista en la comunidad al reducir su efecto negativo sobre las especies centrales. Además, los resultados del presente capítulo sugieren que el recableado de las interacciones, inducido por el mutualismo clave, podría ser el mecanismo detrás de la reducción del impacto del abejorro invasor sobre las especies centrales.

En los sitios post-invasión sin el mutualismo clave, el abejorro no nativo *B. terrestris* produjo fuertes efectos negativos en las redes de polinización al reducir la fuerza de las especies y el nicho de interacción de los polinizadores centrales. *Bombus terrestris* sustituyó un elevado número de interacciones directas de los polinizadores nativos y redujo la dependencia de las plantas de éstos, sugiriendo que *B. terrestris* es un polinizador supergeneralista en las redes. Similarmente, otros autores encontraron que algunas especies de polinizadores, incluyendo *B. terrestris* y *Apis mellifera*, se convierten en polinizadores supergeneralistas cuando invaden y juegan un papel central en la red (Aizen et al. 2008, Norfolk et al. 2018). Además, *B. terrestris* disminuyó el tamaño del nicho de interacción central de las redes, lo que indica una pérdida en las interacciones directas e indirectas de las especies centrales y una disminución en su contribución a la estructura y funcionalidad de las redes de polinización (Simmons et al. 2019b, Sun et al. 2020). Por otro lado, es sabido que los polinizadores invasores tienen un fuerte efecto negativo sobre las especies nativas congéneres (Inoue et al. 2008, Morales et al. 2013). Por ejemplo, LeCroy y colaboradores (2020) han demostrado recientemente cómo la presencia de una abeja albañil no nativa (*Osmia taurus*) conduce a la disminución de la abundancia de seis especies congéneres nativas (*Osmia* spp.). El presente capítulo demuestra que un polinizador invasor no sólo puede afectar drásticamente a las interacciones de las especies congéneres (*B. dalhbomii* y *B. ruderatus*), sino que también reduce las interacciones ecológicas directas e indirectas de especies nativas no congéneres (*P. albopilosa*, *M. gayi* y *R. mutabilis*). Además, aunque la abundancia de las especies centrales no fue evaluada a campo, la fuerte reducción de sus interacciones sugiere una disminución de sus abundancias (Vázquez et al. 2009). Sumado al declive de las especies centrales, *B. terrestris* podría comprometer los servicios de polinización y afectar

negativamente a la reproducción de las plantas en determinados contextos, ya que se ha registrado que roba el néctar de algunas plantas nativas en altas densidades (Vanbergen et al. 2018, Aizen et al. 2019, Chalcoff et al. 2022). También, se ha registrado que *B. terrestris* daña las flores en visitas frecuentes y reduce la producción y la calidad de los frutos de las plantas (Kenta et al. 2007, Sáez et al. 2014, Chalcoff et al. 2022). Finalmente, *B. terrestris* también podría aumentar la invasión de plantas no nativas al formar interacciones positivas con ellas después de su introducción debido a su papel como supergeneralista (Morales & Aizen 2002, Aizen et al. 2008).

Los resultados de este capítulo sugieren que la interacción colibrí-muérdago-marsupial disminuye el impacto de *B. terrestris* al reducir su efecto negativo sobre las especies centrales de las redes. Esta reducción de los efectos negativos en los sitios con el mutualismo clave puede estar relacionado con el mayor recableado de interacciones. Del mismo modo, otros estudios muestran que los polinizadores nativos pueden reducir la competencia directa e indirecta con las especies invasoras simplemente visitando plantas diferentes (Montero-Castaño & Vilà 2017, Valdovinos et al. 2018). Por ejemplo, Magrath y colaboradores (2017) encontraron que especies de polinizadores cambian sus dietas y reasignan sus interacciones para evitar aquellas plantas visitadas frecuentemente por las abejas melíferas en respuesta a un aumento de la población de abejas melíferas. La elevada importancia ecológica de *B. terrestris* encontrada en las redes, independientemente de la presencia del mutualismo clave, sugiere que el mutualismo clave podría no ofrecer resistencia a la introducción y establecimiento de *B. terrestris*, pero sí reducir sus impactos. Además, otros autores han demostrado que el recableado de interacciones también atenúa el efecto de la pérdida de especies en la estructura de la red al permitir que las especies resistan la extinción de su pareja (Vizentin-Bugoni et al. 2020) y que desempeña un papel importante para acelerar la restauración de las redes de polinización en las comunidades de pastizales pastoreados (Noreika et al. 2019). Particularmente, en los bosques patagónicos, el elevado potencial de los polinizadores para cambiar entre plantas a lo largo del tiempo puede ser desencadenado por la alta diversidad de especies en presencia del mutualismo clave, ya que el número de especies en la comunidad y su sincronía fenológica aumentan la probabilidad de que los polinizadores encuentren una nueva pareja (Kaiser-Bunbury et al. 2010, CaraDonna et al. 2017). En consecuencia, al aumentar al menos 2 veces la diversidad de especies en la comunidad, el mutualismo colibrí-muérdago-marsupial incrementa indirectamente las oportunidades disponibles para que los polinizadores centrales formen nuevas interacciones, permitiéndoles

explorar diferentes nichos de interacción y reducir su competencia por los recursos con los polinizadores no nativos.

La mayoría de los estudios que evalúan la resistencia biótica se basan en la riqueza o diversidad de especies nativas en las comunidades y se centran en plantas invasoras (Levine et al. 2004, Wandrag et al. 2020). El presente capítulo asocia por primera vez el papel potencial de un mutualismo clave en reducir los impactos de un polinizador invasor mediante el aumento indirecto de la diversidad de especies. Además, dicho estudio aumenta el realismo del impacto de los polinizadores invasores sobre los polinizadores nativos al considerar las interacciones directas e indirectas en el análisis, permitiendo detectar cambios en los niveles de competencia por los recursos. De la misma manera, una tendencia emergente busca entender cómo influyen los efectos indirectos en la dinámica de las invasiones (Petruzzella et al. 2020, Allen et al. 2020) debido a su papel en los procesos de coevolución, coexistencia y coextinción en las comunidades (Aschehoug & Callaway 2015, Guimarães et al. 2017, Pires et al. 2020). Dado que el ensamblaje de las comunidades es impulsado por los enlaces directos e indirectos entre las especies, considerar ambos efectos simultáneamente es fundamental para entender los procesos que conducen a la estructura de la comunidad.

A pesar de los novedosos hallazgos del presente capítulo, sería deseable un diseño más robusto para permitir una inferencia más sólida (Christie et al. 2019, 2020). Un diseño experimental antes- después de la invasión para sitios con y sin el mutualismo clave sería ideal para poder tener una interpretación más adecuada de causalidad. Este tipo de diseño experimental permitiría reducir el ruido de que las diferencias encontradas se deban a características del sitio. Por otro lado, la incorporación de sitios no invadidos con y sin el mutualismo clave aumentaría la fiabilidad de que el efecto amortiguador del mutualismo pueda atribuirse únicamente a la invasión de *B. terrestris* per se y no a una combinación de eventos ocurridos desde dicha invasión (por ejemplo, el cambio climático). Desafortunadamente, encontrar sitios no invadidos por *B. terrestris* es poco probable debido a su rápida propagación tras su establecimiento local (Geslin & Morales 2015).

El presente capítulo destaca la importancia de incluir las interacciones mutualistas como uno de los procesos esenciales a nivel de comunidad. Comprender cómo los mutualismos contribuyen a la estructura de las comunidades a lo largo del tiempo es fundamental para predecir cómo su interrupción podría alterar las comunidades naturales (por ejemplo, la estabilidad y la funcionalidad) (Rodríguez-Cabal et al. 2013, Valiente-Banuet et

al. 2015) y los servicios ecosistémicos (por ejemplo, la polinización) (González-Varo et al. 2013). En particular, en este capítulo asocié el potencial de la interacción colibrí-muérdago-marsupial para disminuir los impactos de un polinizador invasor sobre la comunidad nativa. Además, los resultados del presente capítulo ayudan a comprender cómo la conservación de las comunidades naturales podría lograrse protegiendo no solo las especies, sino también las interacciones entre ellas. En conjunto con los dos capítulos anteriores (2 y 3), este capítulo demuestra que la inclusión de esta interacción en planes de conservación podría salvaguardar gran cantidad de especies de la comunidad. Este último punto será abordado en la discusión general de la tesis.



Capítulo 5 – Síntesis y discusión general

Son numerosos los estudios que identifican y demuestran el rol que tienen las especies claves en los ecosistemas naturales (Davidson et al. 2010, Kivinen et al. 2020, Jorge et al. 2021). Las especies claves son aquellas que afectan de manera desproporcionada la presencia, distribución y densidad de muchas otras especies (Paine 1969). Muchas especies claves han sido identificadas como las responsables de mantener las comunidades a través de sus interacciones directas e indirectas. Recientemente, se ha propuesto extender este concepto y abarcar interacciones ecológicas claves (Helfield & Naiman 2006, Rodríguez-Cabal et al. 2013, Valiente-Banuet et al. 2015, Prior & Palmer 2018). Algunas de las razones que soportan este cambio son que la coexistencia de especies no implica interacción entre ellas (Blanchet et al. 2020), la extinción de las interacciones ocurre antes que la extinción de especies (Valiente-Banuet et al. 2015, Sellman et al. 2016) y el rol funcional de las especies dentro de las comunidades es dinámico (CaraDonna et al. 2017, Tylianakis & Morris 2017). Sin embargo, a pesar de la relevancia de las interacciones clave, pocos estudios han evaluado su efecto en las propiedades de las comunidades. En uno de los pocos ejemplos documentados, Clark y colaboradores (2019) demostraron cómo el mutualismo clave entre las hormigas y los herbívoros que se alimentan del floema promueve la abundancia y distribución de insectos y plantas, lo que desencadena cambios en la productividad a escala del paisaje. De hecho, el desconocimiento es aún mayor cuando se consideran los mecanismos que producen la ruptura de las interacciones clave y los efectos consecuentes en las comunidades. Entender esto es particularmente relevante y necesario debido al ritmo acelerado de cambio global inducido por el hombre (Wardle et al. 2011, Díaz et al. 2019). Por esta razón, el objetivo general de la presente tesis fue evaluar la importancia del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial para el bosque templado patagónico y estudiar como su ruptura afecta diferentes propiedades a nivel de comunidad. A lo largo de esta tesis construí redes de interacciones ecológicas, centrándome en los mutualismos de polinización y dispersión de semillas, y utilicé diferentes metodologías para analizarlas. Esto me permitió evaluar propiedades a nivel de comunidad como la complejidad, estructura, estabilidad y resistencia frente a los impactos de polinizadores invasores. De esta manera, pude demostrar el rol clave del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial para el bosque templado patagónico y entender como su ruptura debido a la introducción de especies puede desencadenar efectos en cascada en la comunidad.

En el capítulo 2 encontré que la presencia de la interacción colibrí-muérdago-marsupial aumentó la complejidad de las comunidades medida como el número de especies y la diversidad de interacciones directas e indirectas. Para llegar a estos resultados, utilicé análisis de “motivos” que me permitió estimar la complejidad de la red considerando las interacciones directas y potenciales indirectas entre especies. Debido a que la presencia de esta interacción en el bosque está históricamente relacionado con la distribución agrupada del muérdago (*T. corymbosus*), resultante de la actividad del marsupial dispersor de semillas (*D. gliroides*) y de la estructura poblacional de su principal hospedador (*A. chilensis*) (García et al. 2009, Sasal et al. 2021), entonces comunidades de alta y baja complejidad serían el patrón natural en estos bosques. Este estado de alta complejidad en ciertos parches afecta otras propiedades de la comunidad, como la estructura y estabilidad, que pueden tener implicancias a nivel de conservación. Además, encontré que la ruptura de este mutualismo clave por ungulados no nativos, generó efectos en cascada en la comunidad, disminuyendo su complejidad. Los estados de complejidad intermedio encontrados en los sitios con ungulados con respecto a los parches de alta y baja complejidad sugieren que los ungulados no nativos están homogeneizando el bosque hacia su estado más simple al causar la ruptura del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial. Este resultado no es menor si se considera la actual elevada abundancia de los ungulados no nativos en estos bosques.

En el capítulo 3 encontré evidencias de que la ruptura del mutualismo clave por ungulados no nativos no solo disminuye la complejidad de la comunidad, sino que dicho efecto se propaga, afectando otras propiedades como la estructura y la estabilidad. Esto lo pude llevar a cabo gracias al análisis de redes multicapa que me permitió integrar dos procesos ecológicos diferentes, pero estrechamente conectados (polinización y dispersión de semillas), y evaluar la estructura y estabilidad de la comunidad. En particular, la ruptura del mutualismo clave redujo la conectividad entre la polinización y la dispersión de semillas, creando una red menos compartimentada y más fragmentada. Estos cambios estructurales aumentaron la propagación de las perturbaciones y redujeron la robustez de la comunidad. Esto último sugiere una alteración en la capacidad de la comunidad para responder a disturbios. Por ejemplo, la pérdida de esta interacción clave produce una comunidad más vulnerable a disturbios que afectan principalmente especies raras o especialistas. Finalmente, si bien con los presentes resultados asocié la pérdida de la interacción clave con la erosión de la complejidad, cambios en la estructura y una menor tolerancia de las comunidades contra disturbios, los resultados también resaltan la importancia de las interacciones clave para

restaurar las comunidades. Esto es relevante hoy en día ya que han surgido varias prácticas de manejo para restaurar la biodiversidad, como el *rewilding*, que consiste en la reintroducción de especies claves extintas a su distribución histórica para restaurar las funciones ecológicas perdidas (Perino et al. 2019).

En el capítulo 4 encontré que la interacción clave disminuyó los impactos del polinizador invasor *B. terrestris* sobre la comunidad nativa. En particular, al aumentar el número de especies en la comunidad, la interacción clave incrementa indirectamente el recableado de las interacciones de los polinizadores nativos, permitiéndoles formar nuevas interacciones y reducir la competencia con el polinizador no nativo. Para llevar a cabo dicho capítulo, utilicé análisis de “motivos” y dinámica de redes que me permitieron inferir el grado de competencia entre polinizadores y el recableado de interacciones a nivel comunidad. Los resultados de este capítulo presentan implicancias en planes de erradicación de polinizadores invasores. Por ejemplo, la gran importancia ecológica del abejorro invasor *B. terrestris* encontrada en las redes de polinización sugiere una dependencia reproductiva de las plantas respecto a esta especie no nativa (Aizen et al. 2008), lo que podría provocar un efecto en cascada en la red tras su erradicación (Kaiser-Bunbury et al. 2010). Sin embargo, los roles similares de algunos polinizadores nativos para mantener la estructura y funcionalidad de la red a aquellos valores registrados para *B. terrestris* y la mayor dependencia de las plantas de ellos en presencia de la interacción clave podrían ayudar a salvaguardar la reproducción de las plantas nativas tras la eliminación de *B. terrestris*. De esta manera, un plan de gestión que incluya la eliminación de *B. terrestris* junto con la restauración de las poblaciones de polinizadores nativos en sitios con la interacción clave podría permitir a las plantas resistir mejor los efectos adversos de la pérdida de este polinizador invasor al aumentar los servicios de polinización proporcionados por las especies nativas. Este tipo de manejo integrado que combina planes de erradicación y restauración son necesarios para evitar efectos negativos imprevisibles en la comunidad nativa desencadenados por la eliminación de especies invasoras (Zavaleta et al. 2001).

Si bien en el capítulo 4 excluí los sitios con ungulados no nativos para atribuir con más certeza que los resultados observados se deben al abejorro invasor y no a un efecto combinado de ambas especies no nativas, es posible especular que cambios sufrieron las redes frente a ambos eventos. En los sitios pre-invasión de *B. terrestris*, las redes estaban formadas por un núcleo de especies centrales que en conjunto integraban más del 50% de las

interacciones totales. Luego de la invasión del abejorro, la integridad de la red sufrió modificaciones debido a su efecto negativo sobre las especies centrales, probablemente desencadenado por una sustitución de interacciones por parte de la especie invasora. Los resultados sugieren que este efecto fue amortiguado por la presencia del mutualismo clave. La elevada diversidad de especies en sitios con el mutualismo clave permitió a algunos polinizadores centrales asignar interacciones con nuevas especies y escapar de la competencia con el abejorro invasor, manteniendo o incluso aumentando su importancia en conservar la estructura y la funcionalidad de la red. Por otro lado, en ausencia del mutualismo clave, todos los polinizadores centrales perdieron su rol como especies centrales e incluso se extinguieron localmente luego de la invasión de *B. terrestris*. Como se observó en el capítulo 2, los ungulados no nativos reducen la diversidad de especies e interacciones de la comunidad al causar la ruptura de la interacción clave y cambios en la vegetación. Esto podría reducir el recableado de interacciones de los polinizadores centrales y así disminuir la probabilidad que asignen nuevas interacciones y escapen de la competencia con el abejorro invasor. En dicho escenario sería probable observar una red con menos diversidad de interacciones y con *B. terrestris* como única especie central y dominante.

Si bien la presente tesis destaca el rol clave del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial para los bosques templados patagónicos, los resultados también destacan la importancia de la detección temprana y conservación de interacciones clave en otros ambientes. A pesar de que no existe una regla o método definido para detectar interacciones clave, es importante tener en cuenta las características o propiedades de las comunidades. Por ejemplo, la probabilidad de detección de mutualismos claves podría ser mayor en comunidades sujetas a condiciones ambientales de estrés o donde la mayoría de las plantas dependen reproductivamente de pocas especies animales (Stachowicz 2001, Callaway et al. 2002, Pringle et al. 2013). En cambio, en aquellos ecosistemas que dependen de recursos provenientes de ecosistemas circundantes (por ej., bosques en galerías o sistemas lóticos), las interacciones entre especies que facilitan el flujo de nutrientes y la transferencia de energía entre ecosistemas podrían ser esenciales (Leroux & Loreau 2008). Por ejemplo, la interacción entre parásitos y grillos es esencial en los arroyos de Arida River en Japón. El parásito manipula al grillo para entrar a un cuerpo de agua y así alcanzar su estado adulto. El movimiento del grillo en el agua atrae predadores como la trucha (*Salvelinus leucomaenis japonicus*). Esta facilitación de recursos promueve la reducción en el consumo de invertebrados bénticos por parte de la trucha y, indirectamente, altera el flujo de energía de la

cadena trófica y produce cambios en propiedades de la comunidad y el ecosistema, como la tasa de descomposición de hojas y entrada de nutrientes (Sato et al. 2011, Sato et al. 2012, Sato et al. 2019). De esta manera, detectar interacciones claves en comunidades y asociar su tipo de interacción (ej., depredación, mutualismo) con propiedades o características de la comunidad a la que pertenece (ej., dependencia de recursos provenientes de otros ecosistemas) es importante porque podrían ayudar a identificar interacciones esenciales que soporten comunidades similares.

El enfoque de redes de interacciones es una de las herramientas más utilizadas para identificar y detectar especies o interacciones clave en las comunidades (Huaylla et al. 2021; Timóteo et al. 2022; Mello et al. 2015; Jordán 2009). Muchos autores utilizaron parámetros de las redes (e.j., índices de centralidad) para identificar especies claves al relacionar su posición en la red junto con los efectos en cascada producidos después de su remoción (Mello et al. 2015; Jordán 2009). Además, a medida que el foco se mueve de especies hacia interacciones, las redes de interacciones también permiten detectar la importancia de interacciones entre dos especies en la comunidad basado en su impacto en la estructura y estabilidad (Harvey et al. 2017). La novedad de esta herramienta subyace en su capacidad para representar mejor e integrar diferentes tipos de interacciones entre especies en las comunidades.

Uno de los principales desafíos de la conservación es poder gestionar y restaurar los ecosistemas nativos, especialmente bajo los impactos actuales del cambio global (Tylianakis et al. 2008, Newbold et al. 2015). Los conocimientos generados en esta tesis pueden ser el punto de partida para futuros planes de conservación. Luego de haber demostrado la importancia del mutualismo colibrí-muérdago-marsupial para la comunidad, el siguiente paso es volver a establecer esta interacción en aquellos sitios donde está ecológicamente extinta por causas antrópicas. Por ejemplo, en ciertos sectores de la Isla Victoria existen individuos adultos de *T. corymbosus*, sin embargo la extinción del local de su único dispersor (*D. gliroides*), debido a la presión de ungulados no nativos, impide su regeneración poblacional (Rodríguez-Cabal & Branch 2011, Rodríguez-Cabal et al. 2013). El primer paso del plan de reintroducción consiste en detener la amenaza. Si bien la erradicación de éstos ungulados está todavía en proceso, es necesario planificar estrategias de manejo para revertir sus efectos adversos sobre la vegetación. Una vez erradicada la amenaza, el siguiente paso es realizar una reintroducción de individuos de *D. gliroides* en sitios que presenten registros pasados de

presencia y donde el estado de hábitat sea el óptimo y cumpla con sus requerimientos mínimos (cobertura *C. culeou* >10%, Rodríguez-Cabal & Branch 2011, Rodríguez-Cabal et al. 2013). Los planes de manejo centrados en las interacciones clave deben enfocarse en las especies sin perder de foco la interacción debido a que la presencia de dos especies no asegura la interacción entre ellas (Freilich et al. 2018, Blanchet et al. 2020). Por lo tanto, monitorear la abundancia poblacional de *D. gliroides* y su rol ecológico como dispersor de semillas del muérdago es necesario para asegurar el restablecimiento de la interacción clave en la comunidad. De hecho, la falta de monitoreo del rol ecológico es un error común en muchos planes de reintroducción de especies clave (Hale & Koprowski 2018, Lindtner et al. 2019). Por lo tanto, reconociendo la interacción clave que sustenta a la comunidad y conservando y monitoreando el rol funcional de las especies involucradas se puede asegurar el funcionamiento de la comunidad.

A pesar de todos los estudios sobre el mutualismo colibrí-muérdago-marsupial y su rol clave para el bosque templado patagónico, aún no es claro como la presencia de este mutualismo podría afectar a otros grupos tróficos de la comunidad más allá de herbívoros del follaje, polinizadores y dispersores de semillas. Por ejemplo, la presencia de esta interacción afecta la comunidad de artrópodos del follaje (Rodríguez-Cabal et al. 2019), lo cual podría alterar los recursos disponibles para predadores. El desconocimiento es aún mayor si intentamos considerar procesos que ocurren debajo del suelo. Por ejemplo, el aumento en el número de especies de plantas en presencia de la interacción clave podrían generar cambios en las comunidades y procesos ecológicos que ocurren debajo del suelo. Incluir un mayor grupo trófico de especies en los análisis a nivel comunidad es necesario ya que las especies interactúan directa e indirectamente entre sí formando sistemas ecológicos complejos. Esto puede lograrse mediante novedosas herramientas como el análisis de redes multicapa. Finalmente, también resulta prioritario entender como estos cambios en la comunidad afectan diferentes procesos a nivel ecosistema (por ej., ciclado de nutrientes, productividad primaria). Entender como las interacciones clave afectan la manera en que las especies interactúan entre sí y regulan las propiedades y los procesos que ocurren a nivel de comunidad es esencial para la conservación de los ecosistemas.

Agradecimientos

A mis directores Marian y Yami por haberme dado la oportunidad de realizar un doctorado y de trabajar con total libertad. A Marian en particular por guiarme y ayudarme con sus conocimientos a construir y ordenar mis ideas. A Yami por guiarme con la estadística y la programación. Gracias por las reuniones y charlas, dentro y fuera de la oficina, en donde aprendí mucho.

A Diego y Matthias por abrirme las puertas de sus laboratorios y ser siempre tan generosos con sus conocimientos.

A Shai por permitirme vivir una de las experiencias más lindas e interesantes de mi doctorado, guiarme en la programación, y por elegirme para formar parte de su equipo.

A Sofi por ser mi mayor soporte durante estos años, por los logros, frustraciones, viajes, mates y conversaciones compartidos en el proceso.

A Tere por ayudarme con la estadística y a tomar decisiones importantes durante el doctorado.

A mis compañeros de oficina Marian, Jaime, Nahue, Paz, Agos, Piqui y Lu por los consejos y la ayuda a lo largo de estos años.

A Martin por ser tan generoso con su conocimiento.

A Meli, Mari, Ivón, Sofi, Fer, Jorge, Sole, Lu, Luca, Dani, Nelson y Chichi. Gracias por los consejos, revisiones, catarsis y salidas a la montaña.

A Maciej, Diana, Euge, Didi, Julie, Matan y Geut, los amigos que conocí fuera de Argentina. Gracias por los consejos y por brindarme soporte estando lejos de casa.

A mis voluntarios, Agus, Anto, Anto, Bar, Bere, Enri, Ire, Juanchi, Juli, Cande, Lichu, Mauchi, Euge y Pau. Sin su gran ayuda (¡y paciencia!) no hubiese podido lograr los objetivos propuestos.

A mi familia, que siempre me apoyó incondicionalmente.

A la Administración de Parques Nacionales por haberme otorgado los permisos de trabajo.

A la Comisión del Doctorado en Biología y a la Universidad Nacional del Comahue por su trabajo, y a CONICET por haberme otorgado la beca. A la fundación Rufford por el subsidio otorgado y a la DAAD and IASH por haberme otorgado becas.

Bibliografía

- Aizen, M. A. 2003. Influences of animal pollination and seed dispersal on winter flowering in a temperate mistletoe. *Ecology* 84:2613–2627.
- Aizen, M. A., S. Aguiar, J. C. Biesmeijer, L. A. Garibaldi, D. W. Inouye, C. Jung, D. J. Martins, R. Medel, C. L. Morales, H. Ngo, A. Pauw, R. J. Paxton, A. Sáez, and C. L. Seymour. 2019. Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. *Global change biology* 25:3516–3527.
- Aizen, M. A., and C. Ezcurra. 1998. High incidence of plant-animal mutualisms in the woody flora of the temperate forest of southern South America: biogeographical origin and present ecological significance. *Ecologia Austral* 8:217–236.
- Aizen, M. A., C. L. Morales, and J. M. Morales. 2008. Invasive mutualists erode native pollination webs. *PLoS biology* 6:e31.
- Aizen, M. A., M. Sabatino, and J. M. Tylianakis. 2012. Specialization and rarity predict nonrandom loss of interactions from mutualist networks. *Science* 335:1486–1489.
- Aizen, and Vázquez. 2002. Historia natural y conservación de los mutualismos planta-animal del bosque templado de Sudamérica austral. *Revista chilena de historia natural* .
- Albrecht, J., D. G. Berens, B. Jaroszewicz, N. Selva, R. Brandl, and N. Farwig. 2014. Correlated loss of ecosystem services in coupled mutualistic networks. *Nature communications* 5:3810.
- Allen, W. J., R. Wainer, J. M. Tylianakis, B. I. P. Barratt, M.-R. Shadbolt, L. P. Waller, and I. A. Dickie. 2020. Community-level direct and indirect impacts of an invasive plant favour exotic over native species. *The Journal of ecology* 108:2499–2510.
- Amico, and Aizen. 2005. Dispersión de semillas por aves en un bosque templado de Sudamérica austral: ¿quién dispersa a quién? *Ecología Austral*.
- Amico, G., and M. A. Aizen. 2000. Mistletoe seed dispersal by a marsupial. *Nature* 408:929–930.
- Amico, G. C., M. A. Rodríguez-Cabal, and M. A. Aizen. 2009. The potential key seed-dispersing role of the arboreal marsupial *Dromiciops gliroides*. *Acta Oecologica* 35:8–13.
- Amico, G. C., M. A. Rodríguez-Cabal, and M. A. Aizen. 2011. Geographic variation in fruit colour is associated with contrasting seed disperser assemblages in a south-Andean mistletoe. *Ecography* 34:318–326.

- Anderson, M. J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral ecology* 26:32–46.
- Armesto, Rozzi, and Miranda. 1987. Plant/frugivore interactions in South American temperate forests. *Revista chilena de anatomía*.
- Aschehoug, E. T., and R. M. Callaway. 2015. Diversity Increases Indirect Interactions, Attenuates the Intensity of Competition, and Promotes Coexistence. *The American naturalist* 186:452–459.
- Aslan, C. E., E. S. Zavaleta, B. Tershy, and D. Croll. 2013. Mutualism Disruption Threatens Global Plant Biodiversity: A Systematic Review. *PloS one* 8:e66993.
- Baker, N. J., R. Kaartinen, T. Roslin, and D. B. Stouffer. 2015. Species' roles in food webs show fidelity across a highly variable oak forest. *Ecography* 38:130–139.
- Balfour, N. J., S. Gandy, and F. L. W. Ratnieks. 2015. Exploitative competition alters bee foraging and flower choice. *Behavioral ecology and sociobiology* 69:1731–1738.
- Bascompte, J. 2009. Disentangling the web of life. *Science* 325:416–419.
- Bascompte, J., and P. Jordano. 2007. Plant-Animal Mutualistic Networks: The Architecture of Biodiversity. *Annual review of ecology, evolution, and systematics* 38:567–593.
- Bascompte, J., and P. Jordano. 2013. *Mutualistic Networks*. Princeton University Press.
- Bascompte, J., P. Jordano, C. J. Melián, and J. M. Olesen. 2003. The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:9383–9387.
- Bascompte, J., P. Jordano, and J. M. Olesen. 2006. Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Science* 312:431–433.
- Bates, D., M. Mächler, B. Bolker, and S. Walker. 2014, June 23. Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4.
- Bellard, C., P. Cassey, and T. M. Blackburn. 2016. Alien species as a driver of recent extinctions. *Biology letters* 12:20150623.
- Benjamini, Y., and Y. Hochberg. 1995. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society* 57:289–300.
- Blackburn, T. M., P. Pyšek, S. Bacher, J. T. Carlton, R. P. Duncan, V. Jarošík, J. R. U. Wilson, and D. M. Richardson. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in ecology & evolution* 26:333–339.
- Blanchet, F. G., K. Cazelles, and D. Gravel. 2020. Co-occurrence is not evidence of ecological interactions. *Ecology letters* 23:1050–1063.

- Bravo, S. P., V. R. Cueto, and G. C. Amico. 2015. Do animal–plant interactions influence the spatial distribution of *Aristotelia chilensis* shrubs in temperate forests of southern South America? *Plant Ecology* 216:383–394.
- Bronstein, J. L. 2001. The exploitation of mutualisms. *Ecology letters* 4:277–287.
- Burgos, E., H. Ceva, R. P. J. Perazzo, M. Devoto, D. Medan, M. Zimmermann, and A. María Delbue. 2007. Why nestedness in mutualistic networks? *Journal of theoretical biology* 249:307–313.
- Cabrera, A. L., and A. Willink. 1980. *Biogeografía de América Latina*. 2a edición corregida. Monografía 13. Serie de Biología. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos Washington DC.
- Callaway, R. M., R. W. Brooker, P. Choler, Z. Kikvidze, C. J. Lortie, R. Michalet, L. Paolini, F. I. Pugnaire, B. Newingham, E. T. Aschehoug, C. Armas, D. Kikodze, and B. J. Cook. 2002. Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature* 417:844–848.
- CaraDonna, P. J., W. K. Petry, R. M. Brennan, J. L. Cunningham, J. L. Bronstein, N. M. Waser, and N. J. Sanders. 2017. Interaction rewiring and the rapid turnover of plant–pollinator networks. *Ecology letters* 20:385–394.
- Celis-Diez, J. L., J. Hetz, P. A. Marín-Vial, G. Fuster, P. Necochea, R. A. Vásquez, F. M. Jaksic, and J. J. Armesto. 2012. Population abundance, natural history, and habitat use by the arboreal marsupial *Dromiciops gliroides* in rural Chiloé Island, Chile. *Journal of mammalogy* 93:134–148.
- Chalcoff, V. R., Y. Sasal, L. E. Graham, D. P. Vásquez, and C. L. Morales. 2022. Invasive bumble bee disrupts a pollination mutualism over space and time. *Biological invasions* 24:1439–1452.
- Chao, A., R. L. Chazdon, R. K. Colwell, and T.-J. Shen. 2004. A new statistical approach for assessing similarity of species composition with incidence and abundance data. *Ecology letters* 8:148–159.
- Christie, A. P., D. Abecasis, M. Adjeroud, J. C. Alonso, T. Amano, A. Anton, B. P. Baldigo, R. Barrientos, J. E. Bicknell, D. A. Buhl, J. Cebrian, R. S. Ceia, L. Cibils-Martina, S. Clarke, J. Claudet, M. D. Craig, D. Davoult, A. De Backer, M. K. Donovan, T. D. Eddy, F. M. França, J. P. A. Gardner, B. P. Harris, A. Huusko, I. L. Jones, B. P. Kelaher, J. S. Kotiaho, A. López-Baucells, H. L. Major, A. Mäki-Petäys, B. Martín, C. A. Martín, P. A. Martin, D. Mateos-Molina, R. A. McConnaughey, M. Meroni, C. F. J. Meyer, K. Mills, M. Montefalcone, N. Noreika, C. Palacín, A. Pande, C. R. Pitcher, C. Ponce, M.

- Rinella, R. Rocha, M. C. Ruiz-Delgado, J. J. Schmitter-Soto, J. A. Shaffer, S. Sharma, A. A. Sher, D. Stagnol, T. R. Stanley, K. D. E. Stokesbury, A. Torres, O. Tully, T. Vehanen, C. Watts, Q. Zhao, and W. J. Sutherland. 2020. Quantifying and addressing the prevalence and bias of study designs in the environmental and social sciences. *Nature communications* 11:6377.
- Christie, A. P., T. Amano, P. A. Martin, G. E. Shackelford, B. I. Simmons, and W. J. Sutherland. 2019. Simple study designs in ecology produce inaccurate estimates of biodiversity responses. *The Journal of applied ecology* 56:2742–2754.
- Clark, R. E., J. Gutierrez Illan, M. S. Comerford, and M. S. Singer. 2019. Keystone mutualism influences forest tree growth at a landscape scale. *Ecology letters* 22:1599–1607.
- Cocquelet, A., A. Mårell, S. Bonthoux, C. Baltzinger, and F. Archaux. 2019. Direct and indirect effects of ungulates on forest birds' nesting failure? An experimental test with artificial nests. *Forest ecology and management* 437:148–155.
- Correia, M., R. Heleno, P. Vargas, and S. Rodríguez-Echeverría. 2018. Should I stay or should I go? Mycorrhizal plants are more likely to invest in long-distance seed dispersal than non-mycorrhizal plants. *Ecology letters* 21:683–691.
- Cottee-Jones, H. E. W., and R. J. Whittaker. 2012. perspective: The keystone species concept: a critical appraisal. *Frontiers of Biogeography* 4.
- Dafni, Kevan, Gross, and Goka. 2010. *Bombus terrestris*, pollinator, invasive and pest: An assessment of problems associated with its widespread introductions for commercial purposes. *Applied entomology and zoology*.
- Davidson, A. D., E. Ponce, D. C. Lightfoot, E. L. Fredrickson, J. H. Brown, J. Cruzado, S. L. Brantley, R. Sierra-Corona, R. List, D. Toledo, and G. Ceballos. 2010. Rapid response of a grassland ecosystem to an experimental manipulation of a keystone rodent and domestic livestock. *Ecology* 91:3189–3200.
- Davies, K. F., C. R. Margules, and J. F. Lawrence. 2004. A synergistic effect puts rare, specialized species at greater risk of extinction. *Ecology* 85:265–271.
- De Domenico, M., V. Nicosia, A. Arenas, and V. Latora. 2015. Structural reducibility of multilayer networks. *Nature communications* 6:6864.
- Delmas, E., M. Besson, M.-H. Brice, L. A. Burkle, G. V. Dalla Riva, M.-J. Fortin, D. Gravel, P. R. Guimarães Jr, D. H. Hembry, E. A. Newman, J. M. Olesen, M. M. Pires, J. D. Yeakel, and T. Poisot. 2018. Analysing ecological networks of species interactions. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*.

- Diagne, C., B. Leroy, A.-C. Vaissière, R. E. Gozlan, D. Roiz, I. Jarić, J.-M. Salles, C. J. A. Bradshaw, and F. Courchamp. 2021. High and rising economic costs of biological invasions worldwide. *Nature* 592:571–576.
- Diaz-Martin, Z., V. Swamy, J. Terborgh, P. Alvarez-Loayza, and F. Cornejo. 2014. Identifying keystone plant resources in an Amazonian forest using a long-term fruit-fall record. *Journal of tropical ecology* 30:291–301.
- Díaz, S., J. Settele, E. S. Brondízio, H. T. Ngo, J. Agard, A. Arneth, P. Balvanera, K. A. Brauman, S. H. M. Butchart, K. M. A. Chan, L. A. Garibaldi, K. Ichii, J. Liu, S. M. Subramanian, G. F. Midgley, P. Miloslavich, Z. Molnár, D. Obura, A. Pfaff, S. Polasky, A. Purvis, J. Razzaque, B. Reyers, R. R. Chowdhury, Y.-J. Shin, I. Visseren-Hamakers, K. J. Willis, and C. N. Zayas. 2019. Pervasive human-driven decline of life on Earth points to the need for transformative change. *Science* 366.
- Dohzono, I., and J. Yokoyama. 2010. Impacts of alien bees on native plant-pollinator relationships: A review with special emphasis on plant reproduction. *Applied entomology and zoology* 45:37–47.
- Donatti, C. I., P. R. Guimarães, M. Galetti, M. A. Pizo, F. M. D. Marquitti, and R. Dirzo. 2011. Analysis of a hyper-diverse seed dispersal network: modularity and underlying mechanisms. *Ecology letters* 14:773–781.
- Dormann, C. F., J. Fründ, and H. Martin Schaefer. 2017. Identifying Causes of Patterns in Ecological Networks: Opportunities and Limitations. *Annual review of ecology*.
- Dormann, Gruber, and Fründ. 2008. Introducing the bipartite package: analysing ecological networks. *Interaction*.
- Ellison, A. M., M. S. Bank, B. D. Clinton, E. A. Colburn, K. Elliott, C. R. Ford, D. R. Foster, B. D. Kloeppel, J. D. Knoepp, G. M. Lovett, J. Mohan, D. A. Orwig, N. L. Rodenhouse, W. V. Sobczak, K. A. Stinson, J. K. Stone, C. M. Swan, J. Thompson, B. Von Holle, and J. R. Webster. 2005. Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Frontiers in ecology and the environment* 3:479–486.
- Elton, C. S. 2020. *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. Springer Nature.
- Farage, C., D. Edler, A. Eklöf, M. Rosvall, and S. Pilosof. 2021. Identifying flow modules in ecological networks using Infomap. *Methods in ecology and evolution / British Ecological Society*.
- Fauth, J. E. 1999. Identifying potential keystone species from field data - an example from temporary ponds. *Ecology letters* 2:36–43.
- Fenoglio, M. S., D. Srivastava, G. Valladares, L. Cagnolo, and A. Salvo. 2012. Forest

- fragmentation reduces parasitism via species loss at multiple trophic levels. *Ecology* 93:2407–2420.
- Fontúrbel, F. E. 2010. A methodological approach to assess the small mammal community diversity in the temperate rainforest of Patagonia. *Mammalian biology = Zeitschrift für Säugetierkunde* 75:294–301.
- Fontúrbel, F. E., M. Franco, M. A. Rodríguez-Cabal, M. D. Rivarola, and G. C. Amico. 2012. Ecological consistency across space: a synthesis of the ecological aspects of *Dromiciops gliroides* in Argentina and Chile. *Die Naturwissenschaften* 99:873–881.
- Fournier, D. A., H. J. Skaug, J. Ancheta, J. Ianelli, A. Magnusson, M. N. Maunder, A. Nielsen, and J. Sibert. 2012. AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models. *Optimization methods & software* 27:233–249.
- Freilich, M. A., E. Wieters, B. R. Broitman, P. A. Marquet, and S. A. Navarrete. 2018. Species co-occurrence networks: Can they reveal trophic and non-trophic interactions in ecological communities? *Ecology* 99:690–699.
- Fricke, E. C., and J.-C. Svenning. 2020. Accelerating homogenization of the global plant–frugivore meta-network. *Nature* 585:74–78.
- Gaiarsa, M. P., and P. R. Guimarães Jr. 2019. Interaction strength promotes robustness against cascading effects in mutualistic networks. *Scientific reports* 9:676.
- Galiana, N., M. Lurgi, J. M. Montoya, and B. C. López. 2014. Invasions cause biodiversity loss and community simplification in vertebrate food webs. *Oikos* 123:721–728.
- Gallien, L., and M. Carboni. 2017. The community ecology of invasive species: where are we and what's next? *Ecography* 40:335–352.
- García, D., M. A. Rodríguez-Cabal, and G. C. Amico. 2009. Seed dispersal by a frugivorous marsupial shapes the spatial scale of a mistletoe population. *The Journal of ecology* 97:217–229.
- Geslín, B., and C. L. Morales. 2015. New records reveal rapid geographic expansion of *Bombus terrestris* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), an invasive species in Argentina. *Check list* 11:1620.
- Gilarranz, L. J., B. Rayfield, G. Liñán-Cembrano, J. Bascompte, and A. Gonzalez. 2017. Effects of network modularity on the spread of perturbation impact in experimental metapopulations. *Science* 357:199–201.
- González-Megías, A., J. María Gómez, and F. Sánchez-Piñero. 2007. Diversity-habitat heterogeneity relationship at different spatial and temporal scales. *Ecography* 30:31–41.

- González-Varo, J. P., J. C. Biesmeijer, R. Bommarco, S. G. Potts, O. Schweiger, H. G. Smith, I. Steffan-Dewenter, H. Szentgyörgyi, M. Woyciechowski, and M. Vilà. 2013. Combined effects of global change pressures on animal-mediated pollination. *Trends in ecology & evolution* 28:524–530.
- Gordon, C. E., and M. Letnic. 2016. Functional extinction of a desert rodent: implications for seed fate and vegetation dynamics. *Ecography* 39:815–824.
- Gotelli, N. J., and R. K. Colwell. 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology letters* 4:379–391.
- Grilli, J., T. Rogers, and S. Allesina. 2016. Modularity and stability in ecological communities. *Nature communications* 7:12031.
- Guimarães, P. R., Jr. 2020. The Structure of Ecological Networks Across Levels of Organization. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*.
- Guimarães, P. R., Jr, P. Jordano, and J. N. Thompson. 2011. Evolution and coevolution in mutualistic networks. *Ecology letters* 14:877–885.
- Guimarães, P. R., Jr, M. M. Pires, P. Jordano, J. Bascompte, and J. N. Thompson. 2017. Indirect effects drive coevolution in mutualistic networks. *Nature* 550:511–514.
- Hale, S. L., and J. L. Koprowski. 2018. Ecosystem-level effects of keystone species reintroduction: a literature review. *Restoration Ecology* 26:439–445.
- Helfield, J. M., and R. J. Naiman. 2006. Keystone Interactions: Salmon and Bear in Riparian Forests of Alaska. *Ecosystems* 9:167–180.
- Herms, D. A., and W. J. Mattson. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly review of biology*.
- Hervías-Parejo, S., C. Tur, R. Heleno, M. Nogales, S. Timóteo, and A. Traveset. 2020. Species functional traits and abundance as drivers of multiplex ecological networks: first empirical quantification of inter-layer edge weights. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 287:20202127.
- Heywood, V. H., and R. T. Watson. 1995. Global biodiversity assessment. *academia.edu*. <https://www.academia.edu/download/30488676/ci011056.pdf>.
- Harvey, E., I. Gounand, C. L. Ward, and F. Altermatt. 2017. Bridging ecology and conservation: from ecological networks to ecosystem function. *Journal of Applied Ecology*, 54:371-379.
- Huaylla, C. A., M. E. Nacif, C. Coulin, M. N. Kuperman, and L. A. Garibaldi. 2021. Decoding information in multilayer ecological networks: The keystone species case. *Ecological Modelling*, 460:109734.

- Hutchinson, M. C., B. Bramon Mora, S. Pilosof, A. K. Barner, S. Kéfi, E. Thébault, P. Jordano, and D. B. Stouffer. 2019. Seeing the forest for the trees: Putting multilayer networks to work for community ecology. *Functional ecology* 33:206–217.
- Inoue, M. N., J. Yokoyama, and I. Washitani. 2008. Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of insect conservation* 12:135–146.
- Jácome-Flores, M. E., P. Jordano, M. Delibes, and J. M. Fedriani. 2020. Interaction motifs variability in a Mediterranean palm under environmental disturbances: the mutualism–antagonism continuum. *Oikos* 129:367–379.
- Jaksic, F. M., J. A. Iriarte, J. E. Jiménez, and D. R. Martínez. 2002. Invaders Without Frontiers: Cross-border Invasions of Exotic Mammals. *Biological invasions* 4:157–173.
- Jiménez-Valverde. 2000. Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar los inventarios biológicos. *Revista iberica de arcnologia*.
- Jordán, F. 2009. Keystone species and food webs. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364:1733-1741.
- Jordano, P., J. Bascompte, and J. M. Olesen. 2002. Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions. *Ecology letters* 6:69–81.
- Kaiser-Bunbury, C. N., S. Muff, J. Memmott, C. B. Müller, and A. Caflisch. 2010. The robustness of pollination networks to the loss of species and interactions: a quantitative approach incorporating pollinator behaviour. *Ecology letters* 13:442–452.
- Kenta, T., N. Inari, T. Nagamitsu, K. Goka, and T. Hiura. 2007. Commercialized European bumblebee can cause pollination disturbance: An experiment on seven native plant species in Japan. *Biological conservation* 134:298–309.
- Kivinen, S., E. Koivisto, S. Keski-Saari, L. Poikolainen, T. Tanhuanpää, A. Kuzmin, A. Viinikka, R. K. Heikkinen, J. Pykälä, R. Virkkala, P. Vihervaara, and T. Kumpula. 2020. A keystone species, European aspen (*Populus tremula* L.), in boreal forests: Ecological role, knowledge needs and mapping using remote sensing. *Forest ecology and management* 462:118008.
- Klein, A.-M., B. E. Vaissière, J. H. Cane, I. Steffan-Dewenter, S. A. Cunningham, C. Kremen, and T. Tscharntke. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 274:303–313.
- Koh, L. P., R. R. Dunn, N. S. Sodhi, R. K. Colwell, H. C. Proctor, and V. S. Smith. 2004. Species coextinctions and the biodiversity crisis. *Science* 305:1632–1634.
- LeCroy, K. A., G. Savoy-Burke, D. E. Carr, D. A. Delaney, and T. H. Roulston. 2020.

- Decline of six native mason bee species following the arrival of an exotic congener. *Scientific reports* 10:18745.
- Lenth, R. V. 2016. Least-Squares Means: The R Package lsmeans. *Journal of statistical software* 69:1–33.
- Leopold, C. R., and S. C. Hess. 2017. Conversion of native terrestrial ecosystems in Hawaii to novel grazing systems: a review. *Biological invasions* 19:161–177.
- Levine, J. M., P. B. Adler, and S. G. Yelenik. 2004. A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology letters* 7:975–989.
- Lindtner, P., M. Šoltís, and V. Kubovčík. 2019. Translocation of keystone species may not mean translocation of keystone effect. *European journal of wildlife research* 65:24.
- Leroux, S. J., and M. Loreau. 2008. Subsidy hypothesis and strength of trophic cascades across ecosystems. *Ecology letters*, 11:1147-1156.
- Mack, M. C., and C. M. D’Antonio. 1998. Impacts of biological invasions on disturbance regimes. *Trends in ecology & evolution* 13:195–198.
- Mack, R. N., D. Simberloff, and W. Mark Lonsdale. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological*.
- Magrach, A., J. P. González-Varo, M. Boiffier, M. Vilà, and I. Bartomeus. 2017. Honeybee spillover reshuffles pollinator diets and affects plant reproductive success. *Nature ecology & evolution* 1:1299–1307.
- Martin, G. M. 2010. Geographic distribution and historical occurrence of *Dromiciops gliroides* Thomas (Metatheria: Microbiotheria). *Journal of mammalogy* 91:1025–1035.
- Martín González, A. M., B. Dalsgaard, and J. M. Olesen. 2010. Centrality measures and the importance of generalist species in pollination networks. *Ecological Complexity* 7:36–43.
- Mello, M. A. R., F. A. Rodrigues, L. D. F. Costa, W. D. Kissling, Ç. H. Şekercioğlu, F. M. D. Marquitti, and E. K. V. Kalko. 2015. Keystone species in seed dispersal networks are mainly determined by dietary specialization. *Oikos*, 124:1031-1039.
- Memmott, J., P. G. Craze, N. M. Waser, and M. V. Price. 2007. Global warming and the disruption of plant-pollinator interactions. *Ecology letters* 10:710–717.
- Memmott, J., N. M. Waser, and M. V. Price. 2004. Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 271:2605–2611.
- Mermoz, M., and C. Martín. 1986. Mapa de vegetación de la Reserva y del Parque Nacional Nahuel Huapi. Administración de Parques Nacionales, Delegación Técnica Regional

Patagonia.

- Mills, L. S., M. E. Soulé, and D. F. Doak. 1993. The Keystone-Species Concept in Ecology and Conservation. *Bioscience* 43:219–224.
- Moegenburg, S. M., and D. J. Levey. 2003. Do frugivores respond to fruit harvest? An experimental study of short-term responses. *Ecology* 84:2600–2612.
- Montero-Castaño, A., and M. Vilà. 2017. Influence of the honeybee and trait similarity on the effect of a non-native plant on pollination and network rewiring. *Functional ecology* 31:142–152.
- Mooney, H. A., and E. E. Cleland. 2001. The evolutionary impact of invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:5446–5451.
- Morales, C. L., and M. A. Aizen. 2002. Does Invasion of Exotic Plants Promote Invasion of Exotic Flower Visitors? A Case Study from the Temperate Forests of the Southern Andes. *Biological invasions* 4:87–100.
- Morales, C. L., M. P. Arbetman, S. A. Cameron, and M. A. Aizen. 2013. Rapid ecological replacement of a native bumble bee by invasive species. *Frontiers in ecology and the environment* 11:529–534.
- Morán-López, T., G. Benadi, C. Lara-Romero, N. Chacoff, A. Vitali, D. Pescador, S. B. Lomáscolo, J. Morente-López, D. P. Vázquez, and J. M. Morales. 2022. Flexible diets enable pollinators to cope with changes in plant community composition. *Journal of ecology*.
- Morán-López, T., W. D. Espíndola, B. S. Vizzachero, A. Fontanella, L. Salinas, C. Arana, G. Amico, M. A. Pizo, T. A. Carlo, and J. M. Morales. 2020. Can network metrics predict vulnerability and species roles in bird-dispersed plant communities? Not without behaviour. *Ecology letters* 23:348–358.
- Morente-López, J., C. Lara-Romero, C. Ornosá, and J. M. Iriondo. 2018. Phenology drives species interactions and modularity in a plant - flower visitor network. *Scientific reports* 8:9386.
- Morin, P. J. 1981. Predatory salamanders reverse the outcome of competition among three species of anuran tadpoles. *Science* 212:1284–1286.
- Newbold, T., L. N. Hudson, S. L. L. Hill, S. Contu, I. Lysenko, R. A. Senior, L. Börger, D. J. Bennett, A. Choimes, B. Collen, J. Day, A. De Palma, S. Díaz, S. Echeverria-Londoño, M. J. Edgar, A. Feldman, M. Garon, M. L. K. Harrison, T. Alhousseini, D. J. Ingram, Y. Itescu, J. Kattge, V. Kemp, L. Kirkpatrick, M. Kleyer, D. L. P. Correia, C. D. Martin, S.

- Meiri, M. Novosolov, Y. Pan, H. R. P. Phillips, D. W. Purves, A. Robinson, J. Simpson, S. L. Tuck, E. Weiher, H. J. White, R. M. Ewers, G. M. Mace, J. P. W. Scharlemann, and A. Purvis. 2015. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature* 520:45–50.
- Noreika, N., I. Bartomeus, M. Winsa, R. Bommarco, and E. Öckinger. 2019. Pollinator foraging flexibility mediates rapid plant-pollinator network restoration in semi-natural grasslands. *Scientific reports* 9:15473.
- Norfolk, O., F. Gilbert, and M. P. Eichhorn. 2018. Alien honeybees increase pollination risks for range-restricted plants. *Diversity & distributions* 24:705–713.
- Oksanen, Blanchet, Kindt, and Legendre. 2013. Package “vegan.” *Community Ecology*.
- Olesen, J. M., J. Bascompte, Y. L. Dupont, H. Elberling, C. Rasmussen, and P. Jordano. 2011. Missing and forbidden links in mutualistic networks. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 278:725–732.
- Olesen, J. M., J. Bascompte, Y. L. Dupont, and P. Jordano. 2007. The modularity of pollination networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:19891–19896.
- de Oliveira Lima, G., A. V. Leite, C. S. Souza, C. C. Castro, and E. L. de Santana Bezerra. 2020. A multilayer network in an herbaceous tropical community reveals multiple roles of floral visitors. *Oikos* 129:1141–1151.
- Paine, R. T. 1966. Food web complexity and species diversity. *The American naturalist*.
- Paine, R. T. 1969. A Note on Trophic Complexity and Community Stability. *The American naturalist* 103:91–93.
- Pejchar, L., and H. A. Mooney. 2009. Invasive species, ecosystem services and human well-being. *Trends in ecology & evolution* 24:497–504.
- Perino, A., H. M. Pereira, L. M. Navarro, N. Fernández, J. M. Bullock, S. Ceaușu, A. Cortés-Avizanda, R. van Klink, T. Kuemmerle, A. Lomba, G. Pe'er, T. Plieninger, J. M. Rey Benayas, C. J. Sandom, J.-C. Svenning, and H. C. Wheeler. 2019. Rewilding complex ecosystems. *Science* 364.
- Petruzzella, A., C. H. A. Leeuwen, E. Donk, and E. S. Bakker. 2020. Direct and indirect effects of native plants and herbivores on biotic resistance to alien aquatic plant invasions. *The Journal of ecology* 108:1487–1496.
- Pilosof, S., M. A. Porter, M. Pascual, and S. Kéfi. 2017. The multilayer nature of ecological networks. *Nature ecology & evolution* 1:101.
- Pires, M. M., J. L. O'Donnell, L. A. Burkle, C. Díaz-Castelazo, D. H. Hembry, J. D. Yeakel,

- E. A. Newman, L. P. Medeiros, M. A. M. de Aguiar, and P. R. Guimarães Jr. 2020. The indirect paths to cascading effects of extinctions in mutualistic networks. *Ecology* 101:e03080.
- Pocock, M. J. O., D. M. Evans, and J. Memmott. 2012. The robustness and restoration of a network of ecological networks. *Science* 335:973–977.
- Poisot, Stouffer, and Kéfi. 2016. Describe, understand and predict. *Functional ecology*.
- Poisot, T., E. Canard, D. Mouillot, N. Mouquet, and D. Gravel. 2012. The dissimilarity of species interaction networks. *Ecology letters* 15:1353–1361.
- Prado, P. I., and T. M. Lewinsohn. 2004. Compartments in insect–plant associations and their consequences for community structure. *The Journal of animal ecology* 73:1168–1178.
- Pringle, E. G., E. Akçay, T. K. Raab, R. Dirzo, and D. M. Gordon. 2013. Water stress strengthens mutualism among ants, trees, and scale insects. *PLoS biology* 11:e1001705.
- Prior, K. M., and T. M. Palmer. 2018. Economy of scale: third partner strengthens a keystone ant-plant mutualism. *Ecology* 99:335–346.
- Qutián, M., V. Santillán, I. M. A. Bender, C. I. Espinosa, J. Homeier, K. Böhning-Gaese, M. Schleuning, and E. Lena Neuschulz. 2019. Functional responses of avian frugivores to variation in fruit resources between natural and fragmented forests. *Functional ecology* 33:399–410.
- Ramos-Robles, M., E. Andresen, and C. Díaz-Castelazo. 2018. Modularity and robustness of a plant-frugivore interaction network in a disturbed tropical forest. *Écoscience* 25:209–222.
- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing Vienna, Austria.
- Ripple, Larsen, Renkin, and Smith. 2001. Trophic cascades among wolves, elk and aspen on Yellowstone National Park’s northern range. *Biological conservation*.
- Rius, M., E. E. Potter, J. D. Aguirre, and J. J. Stachowicz. 2014. Mechanisms of biotic resistance across complex life cycles. *The Journal of animal ecology* 83:296–305.
- Riveros, M. 1991. Aspectos sobre la biología reproductiva en dos comunidades del sur de Chile, 40 S. Tesis de Doctorado en Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile
-
- Rodríguez-Cabal, M. A., M. A. Aizen, and A. J. Novaro. 2007. Habitat fragmentation disrupts a plant-disperser mutualism in the temperate forest of South America. *Biological conservation* 139:195–202.
- Rodríguez-Cabal, M. A., G. C. Amico, A. J. Novaro, and M. A. Aizen. 2009. Population

- characteristics of *Dromiciops gliroides* (Philippi, 1893), an endemic marsupial of the temperate forest of Patagonia. *Mammalian biology* 73:74-76.
- Rodriguez-Cabal, M. A., M. N. Barrios-Garcia, G. C. Amico, M. A. Aizen, and N. J. Sanders. 2013. Node-by-node disassembly of a mutualistic interaction web driven by species introductions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110:16503–16507.
- Rodriguez-Cabal, M. A., M. N. Barrios-Garcia, C. J. Greyson-Gaito, H. L. Slinn, M. P. Tapella, A. Vitali, and G. M. Crutsinger. 2019. Non-native ungulates indirectly impact foliar arthropods but not soil function. *Biological invasions* 21:3077–3084.
- Rodriguez-Cabal, M. A., and L. C. Branch. 2011. Influence of habitat factors on the distribution and abundance of a marsupial seed disperser. *Journal of mammalogy* 92:1245–1252.
- Rohr, R. P., S. Saavedra, and J. Bascompte. 2014. On the structural stability of mutualistic systems. *Science* 345:1253497.
- Rosvall, M., and C. T. Bergstrom. 2008. Maps of random walks on complex networks reveal community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:1118–1123.
- Sáez, A., C. L. Morales, L. Y. Ramos, and M. A. Aizen. 2014. Extremely frequent bee visits increase pollen deposition but reduce drupelet set in raspberry. *The Journal of applied ecology* 51:1603–1612.
- Sanders, N. J., N. J. Gotelli, N. E. Heller, and D. M. Gordon. 2003. Community disassembly by an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:2474–2477.
- Santamaría, S., J. Galeano, J. M. Pastor, and M. Méndez. 2014. Robustness of Alpine Pollination Networks: Effects of Network Structure and Consequences for Endemic Plants. *Arctic, antarctic, and alpine research* 46:568–580.
- Sasal, Y., G. C. Amico, and J. M. Morales. 2021. Host spatial structure and disperser activity determine mistletoe infection patterns. *Oikos* 130:440–452.
- Sato, T., T. Egusa, K. Fukushima, T. Oda, N. Ohte, N. Tokuchi, K. Watanabe, M. Kanaiwa, I. Murakami, and K. D. Lafferty. 2012. Nematomorph parasites indirectly alter the food web and ecosystem function of streams through behavioural manipulation of their cricket hosts. *Ecology letters* 15:786–793.
- Sato, T., K. Watanabe, M. Kanaiwa, Y. Niizuma, Y. Harada, and K. D. Lafferty. 2011. Nematomorph parasites drive energy flow through a riparian

- ecosystem. *Ecology* 92:201-207.
- Sato, T., R. Iritani, and M. Sakura. 2019. Host manipulation by parasites as a cryptic driver of energy flow through food webs. *Current Opinion in Insect Science*.
- Sellman, S., T. Säterberg, and B. Ebenman. 2016. Pattern of functional extinctions in ecological networks with a variety of interaction types. *Theoretical Ecology* 9:83–94.
- Shanahan, M., S. So, S. G. Compton, and R. Corlett. 2001. Fig-eating by vertebrate frugivores: a global review. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 76:529–572.
- da Silva Goldas, C., L. R. Podgaiski, C. Veronese Corrêa da Silva, P. M. Abreu Ferreira, J. Vizontin-Bugoni, and M. de Souza Mendonça Jr. 2022. Structural resilience and high interaction dissimilarity of plant-pollinator interaction networks in fire-prone grasslands. *Oecologia* 198:179–192.
- Simmons, B. I., A. R. Cirtwill, N. J. Baker, H. S. Wauchope, L. V. Dicks, D. B. Stouffer, and W. J. Sutherland. 2019a. Motifs in bipartite ecological networks: uncovering indirect interactions. *Oikos* 128:154–170.
- Simmons, B. I., W. J. Sutherland, L. V. Dicks, J. Albrecht, N. Farwig, D. García, P. Jordano, and J. P. González-Varo. 2018. Moving from frugivory to seed dispersal: Incorporating the functional outcomes of interactions in plant-frugivore networks. *The Journal of animal ecology* 87:995–1007.
- Simmons, B. I., M. J. M. Sweering, M. Schillinger, L. V. Dicks, W. J. Sutherland, and R. Di Clemente. 2019b. bmotif : A package for motif analyses of bipartite networks. *Methods in ecology and evolution / British Ecological Society* 10:695–701.
- Skovmand, L. H., C. C. Y. Xu, M. R. Servedio, P. Nosil, R. D. H. Barrett, and A. P. Hendry. 2018. Keystone Genes. *Trends in ecology & evolution* 33:689–700.
- Smith-Ramírez. 1993. Los picaflores y su recurso floral en el bosque templado de la isla de Chiloé, Chile. *Revista chilena de historia natural* .
- Spear, D., and S. L. Chown. 2009. Non-indigenous ungulates as a threat to biodiversity. *Journal of zoology* 279:1–17.
- Stachowicz. 2001. Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities: positive interactions play a critical, but underappreciated, role in ecological communities by *Bioscience*.
- Sun, X., L. Zhao, D. Zhao, Y. Huo, and W. Tan. 2020. Keystone species can be identified based on motif centrality. *Ecological indicators* 110:105877.
- Suweis, S., J. Grilli, J. R. Banavar, S. Allesina, and A. Maritan. 2015. Effect of localization

- on the stability of mutualistic ecological networks. *Nature communications* 6:10179.
- Terborgh, J. 1986. Community aspects of frugivory in tropical forests. Pages 371–384 in A. Estrada and T. H. Fleming, editors. *Frugivores and seed dispersal*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Thébault, E., and C. Fontaine. 2008. Does asymmetric specialization differ between mutualistic and trophic networks? *Oikos* 117:555–563.
- Thébault, E., and C. Fontaine. 2010. Stability of ecological communities and the architecture of mutualistic and trophic networks. *Science* 329:853–856.
- Timóteo, S., J. Albrecht, B. Rumeu, A. C. Norte, A. Traveset, A., C. M Frost,.. and R. Heleno. 2022. Tripartite networks show that keystone species can multitask. *Functional Ecology*.
- Timóteo, S., M. Correia, S. Rodríguez-Echeverría, H. Freitas, and R. Heleno. 2018. Multilayer networks reveal the spatial structure of seed-dispersal interactions across the Great Rift landscapes. *Nature communications* 9:140.
- Timóteo, S., J. A. Ramos, I. P. Vaughan, and J. Memmott. 2016. High Resilience of Seed Dispersal Webs Highlighted by the Experimental Removal of the Dominant Disperser. *Current biology: CB* 26:910–915.
- Torretta, J. P., D. Medan, and A. H. Abrahamovich. 2006. First record of the invasive bumblebee *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae) in Argentina. *Transactions of the American*.
- Traveset, A., R. Castro-Urgal, X. Rotllàn-Puig, and A. Lázaro. 2018. Effects of habitat loss on the plant-flower visitor network structure of a dune community. *Oikos* 127:45–55.
- Traveset, A., and D. M. Richardson. 2006. Biological invasions as disruptors of plant reproductive mutualisms. *Trends in ecology & evolution* 21:208–216.
- Traveset, A., and D. M. Richardson. 2014. Mutualistic interactions and biological invasions. *Annual review of ecology, evolution, and systematics* 45:89–113.
- Tylianakis, J. M., R. K. Didham, J. Bascompte, and D. A. Wardle. 2008. Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology letters* 11:1351–1363.
- Tylianakis, J. M., E. Laliberté, A. Nielsen, and J. Bascompte. 2010. Conservation of species interaction networks. *Biological conservation* 143:2270–2279.
- Tylianakis, J. M., and R. J. Morris. 2017. Ecological Networks Across Environmental Gradients. *Annual review of ecology, evolution, and systematics* 48:25–48.
- Valdovinos, F. S., E. L. Berlow, P. Moisset de Espanés, R. Ramos-Jiliberto, D. P. Vázquez, and N. D. Martinez. 2018. Species traits and network structure predict the success and

- impacts of pollinator invasions. *Nature communications* 9:2153.
- Valido, A., M. C. Rodríguez-Rodríguez, and P. Jordano. 2019. Honeybees disrupt the structure and functionality of plant-pollinator networks. *Scientific reports* 9:4711.
- Valiente-Banuet, A., M. A. Aizen, J. M. Alcántara, J. Arroyo, A. Cocucci, M. Galetti, M. B. García, D. García, J. M. Gómez, P. Jordano, R. Medel, L. Navarro, J. R. Obeso, R. Oviedo, N. Ramírez, P. J. Rey, A. Traveset, M. Verdú, and R. Zamora. 2015. Beyond species loss: the extinction of ecological interactions in a changing world. *Functional ecology* 29:299–307.
- Vanbergen, A. J., A. Espíndola, and M. A. Aizen. 2018. Risks to pollinators and pollination from invasive alien species. *Nature ecology & evolution* 2:16–25.
- Vázquez, D. P. 2002. Interactions among Introduced Ungulates, Plants, and Pollinators: A Field Study in the Temperate Forest of the Southern Andes. University of Tennessee, Knoxville.
- Vázquez, D. P. 2002. Multiple Effects of Introduced Mammalian Herbivores in a Temperate Forest. *Biological invasions* 4:175–191.
- Vázquez, D. P., N. P. Chacoff, and L. Cagnolo. 2009. Evaluating multiple determinants of the structure of plant-animal mutualistic networks. *Ecology* 90:2039–2046.
- Vázquez, D. P., C. J. Melián, N. M. Williams, N. Blüthgen, B. R. Krasnov, and R. Poulin. 2007. Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks. *Oikos* 116:1120–1127.
- Vázquez, D. P., and D. Simberloff. 2002. Ecological specialization and susceptibility to disturbance: conjectures and refutations. *The American naturalist* 159:606–623.
- Vázquez, D. P., and D. Simberloff. 2004. Indirect effects of an introduced ungulate on pollination and plant reproduction. *Ecological monographs* 74:281–308.
- Vazquez, M. S., M. A. Rodriguez-Cabal, and G. C. Amico. 2022. The forest gardener: A marsupial with a key seed-dispersing role in the Patagonian temperate forest. *Ecological research* 37:270–283.
- Veblen, T. T., T. Kitzberger, and A. Lara. 1992. Disturbance and forest dynamics along a transect from Andean rain forest to Patagonian shrubland. *Journal of vegetation science: official organ of the International Association for Vegetation Science* 3:507–520.
- Velthuis, H. H. W., and A. van Doorn. 2006. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie* 37:421–451.
- Vieira, M. C., and M. Almeida-Neto. 2015. A simple stochastic model for complex

- coextinctions in mutualistic networks: robustness decreases with connectance. *Ecology letters* 18:144–152.
- Vincent, H., C. N. Bornand, A. Kempel, and M. Fischer. 2020. Rare species perform worse than widespread species under changed climate. *Biological conservation* 246:108586.
- Vitali, A., Y. Sasal, D. P. Vázquez, M. F. Miguel, and M. A. Rodríguez-Cabal. 2021. The disruption of a keystone interaction erodes pollination and seed dispersal networks. *Ecology* 103:e03547.
- Vitousek, P. M., C. M. D'antonio, L. L. Loope, M. Rejmánek, and R. Westbrooks. 1997. Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand journal of ecology* 21:1–16.
- Vizentin-Bugoni, J., V. J. Debastiani, V. A. G. Bastazini, P. K. Maruyama, and J. H. Sperry. 2020. Including rewiring in the estimation of the robustness of mutualistic networks. *Methods in ecology and evolution / British Ecological Society* 11:106–116.
- Wandrag, Catford, and Traveset. 2020. Competition between native and non-native plants. *Plant invasions: the*
- Wardle, D. A., R. D. Bardgett, R. M. Callaway, and W. H. Van der Putten. 2011. Terrestrial ecosystem responses to species gains and losses. *Science* 332:1273–1277.
- Wardle, D. A., G. M. Barker, G. W. Yeates, K. I. Bonner, and A. Ghani. 2001. Introduced browsing mammals in New Zealand natural forests: Aboveground and belowground consequences. *Ecological monographs* 71:587–614.
- Watson, D. M. 2001. Mistletoe-A Keystone Resource in Forests and Woodlands Worldwide. *Annual review of ecology and systematics* 32:219–249.
- Weiner, C. N., M. Werner, K. E. Linsenmair, and N. Blüthgen. 2014. Land-use impacts on plant-pollinator networks: interaction strength and specialization predict pollinator declines. *Ecology* 95:466–474.
- Welti, E. A. R., and A. Joern. 2015. Structure of trophic and mutualistic networks across broad environmental gradients. *Ecology and evolution* 5:326–334.
- Wilcock, C., and R. Neiland. 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in plant science* 7:270–277.
- Williamson, M., and A. Fitter. 1996. The Varying Success of Invaders. *Ecology* 77:1661–1666.
- Zacharias, and Roff. 2001. Use of focal species in marine conservation and management: a review and critique. *Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems*.
- Zavaleta, E. S., R. J. Hobbs, and H. A. Mooney. 2001. Viewing invasive species removal in a

whole-ecosystem context. *Trends in ecology & evolution* 16:454–459.

Zuur, A. F., E. N. Ieno, N. Walker, A. A. Saveliev, and G. M. Smith. 2009. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer New York.

Apéndice 1 – Definición de cada concepto clave

Tabla A1.1. Origen, definición y ejemplos de cada concepto clave.

Concepto	Referencia	Definición	Ejemplo
Depredador clave ("Keystone predator")	Paine (1969)	"Especies de alto nivel trófico que, debido a sus actividades, afectan de manera desproporcionada la ocurrencia, distribución y densidad de otras especies en las comunidades"	La estrella de mar <i>P. ochraceus</i> y el lobo gris (<i>C. lupus</i>)
Presa clave ("Keystone prey")	Holt (1977)	"especies presas cuyas propiedades controlan la densidad del predador y restringen el rango de parámetros abiertos a otras presas"	Liebre americana (<i>Lepus americanus</i>)
Mutualista clave ("Keystone mutualist")	Gilbert (1980)	"animales que son importantes para la persistencia de muchas especies de plantas, las cuáles a su vez, soportan otras cadenas tróficas"	Murciélagos frugívoros
Herbívoro clave ("Keystone herbivore")	Hunter (1992)	Herbívoros que modifican las plantas como recurso e impactan en la composición y en la dinámica de la comunidad planta-animal	Venado de cola larga (<i>Odocoileus virginianus</i>)
Hospedador clave ("Keystone host")	Mills et al (1993)	"Plantas que soportan polinizadores generalistas y dispersores de semillas que son considerados mutualistas claves"	Ficus (<i>Ficus</i> spp.)
Modificadores clave ("Keystone modifiers")	Mills et al (1993)	Especies que afectan en gran medida las características del hábitat, y la supervivencia de muchas especies sin directamente interaccionar con ellas.	Termita (<i>Cornitermes cumulans</i>) y castor (<i>Castor canadensis</i>)

Concepto	Referencia	Definición	Ejemplo
Grupos clave (“Keystone groups”)	De Leo and Levin (1997)	Grupos de especies cuya remoción puede cambiar abruptamente la estructura y la funcionalidad de las comunidades biológicas	Especies dominantes
Especies claves culturales (“Cultural keystone species”)	Garibaldi and Turner (2004)	“Especies culturalmente destacadas que dan forma de manera importante a la identidad cultural de un pueblo, reflejados en los roles fundamentales que estas especies tienen en la dieta, los materiales, la medicina y / o las prácticas espirituales ”	Ballenas barbadas para la comunidad Inuit
Moléculas clave (“Keystone molecules”)	Zimmer and Ferrer (2007)	Neurotoxinas poco abundantes dentro de las comunidades naturales pero que afectan en gran medida las interacciones entre especies en múltiples niveles tróficos.	Tetrodotoxina (TTX) y saxitoxina (STX)
Nicho clave (“Keystone niche”)	Raj (2008)	“Especies que proveen hábitats, refugio y comida para otras especies”	Ostras
Patógeno clave (“Keystone pathogen”)	Hajishengallis et al (2012)	“Microorganismo que apoya y estabiliza la microbiota disbiótica asociada con un estado de enfermedad.”	La bacteria <i>Porphyromonas gingivalis</i>
Comunidad clave (“Keystone community”)	Mouquet et al (2013)	Relacionado a la teoría de metacomunidades. Definidas como aquellas comunidades que presentan una fuerte desviación atípica del promedio, de tal manera que son importantes para la persistencia de la dinámica de metapoblaciones.	

Concepto	Referencia	Definición	Ejemplo
Ecosistema clave ("Keystone ecosystem")	Mouquet et al (2013)	Relacionado a la teoría de metaecosistemas. Definidas como aquellos ecosistemas que presentan una fuerte desviación atípica del promedio, de tal manera que son importantes para la persistencia de la dinámica de metaecosistemas.	Ecosistemas exportadores de nutrientes
Individuo clave ("Keystone individual")	Modlmeier et al (2014)	"individuo que tiene un efecto desproporcionadamente grande e irremplazable sobre otros miembros del grupo y / o la dinámica general del grupo en relación con su abundancia"	Individuos dominantes o alfas en grupos sociales
Especies hiperclaves ("Hyperkeystone")	Worm y Paine (2016)	"especie que afecta a muchas otras especies claves en diferentes hábitats y, por lo tanto, genera complejos efectos en cascadas"	Humanos
Gen clave ("Keystone gene")	Skovmand et al (2018)	"un gen con efectos ecológicos grandes y desproporcionados en relación con su abundancia"	Genes relacionados con procesos fotosintéticos

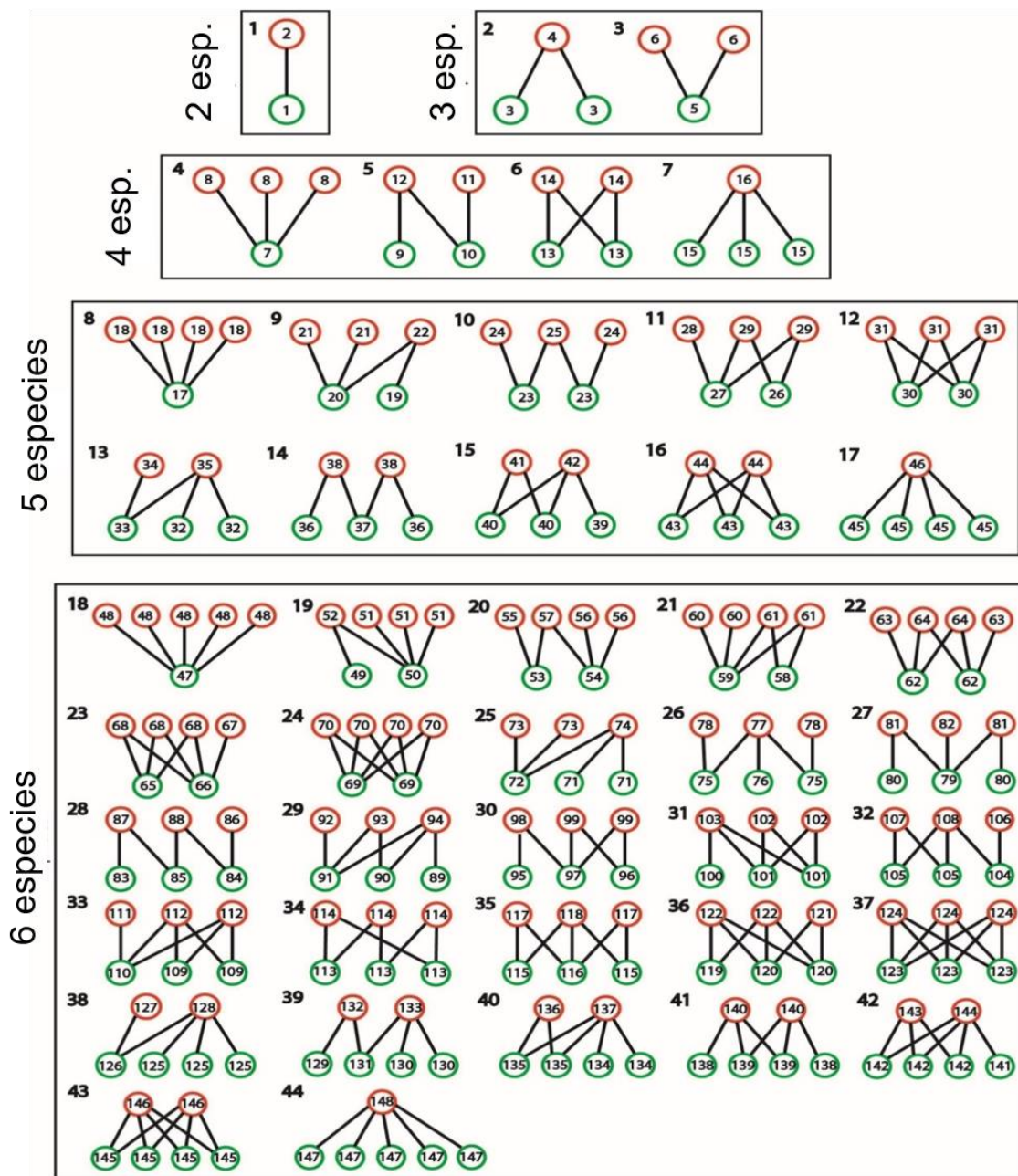
Bibliografía

- De Leo, G. A., and S. Levin. 1997. The multifaceted aspects of ecosystem integrity. *Conservation ecology*, 1(1).
- Garibaldi, A., and N. 2004. Cultural keystone species: implications for ecological conservation and restoration. *Ecology and society*, 9:1-18.
- Gilbert, L. E. 1980. Food web organization and conservation of neotropical diversity. In: *Conservation biology. An evolutionary-ecological perspective*. Editors: Soulé, M. E., Wilcox, B. A. Sunderland, Massachusetts. 11-33.
- Hajishengallis, G., R. P. Darveau, and M. A. Curtis. 2012. The keystone-pathogen hypothesis. *Nature Reviews Microbiology* 10:717-725.
- Holt, R. D. 1977. Predation, apparent competition, and the structure of prey communities.

- Theoretical Population Biology 12: 197-229.
- Hunter, M. D. 1992. Interactions within herbivore communities mediated by the host plant: the keystone herbivore concept. In: Effects of resource distribution on animal–plant interactions. Editors: Hunter, M. D., Ohgushi, T., Price, P. Academic Press. 287–325
- Mills, L. S, M. E. Soulé, and D. F. Doak. 1993. The keystone-species concept in ecology and conservation. *BioScience* 43: 219-224.
- Modlmeier, A. P, C. N. Keiser, J. V. Watters, A. Sih, and J. N. Pruitt. 2014. The keystone individual concept: an ecological and evolutionary overview. *Animal Behaviour* 89:53-62.
- Mouquet, N., D. Gravel, F. Massol, and V. Calcagno. 2013. Extending the concept of keystone species to communities and ecosystems. *Ecology Letters* 16:1-8.
- Paine, R. T. 1969. The *Pisaster-Tegula* interaction: prey patches, predator food preference, and intertidal community structure. *Ecology* 50:950-961.
- Raj, P. S. 2008. Oysters in a new classification of keystone species. *Resonance* 13:648-654.
- Skovmand, L. H, C. C. Xu, M. R. Servedio, P. Nosil, R. D. Barrett, and A. P. Hendry. 2018. Keystone Genes. *Trends in ecology & evolution* 33:689-700.
- Worm, B., and R. T. Paine. 2016. Humans as a hyperkeystone species. *Trends in ecology & evolution* 31:600-607.
- Zimmer, R. K, and R. P. Ferrer. 2007. Neuroecology, chemical defense, and the keystone species concept. *The Biological Bulletin* 213:208-225.

Apéndice 2 - Lista de motivos (“motifs”)

Figura A2.1. Lista de motivos compuestos de dos a seis especies obtenida al desarmar una red. Los círculos representan especies de polinizadores o dispersores de semillas (círculos rojos) y especies de plantas (círculos verdes). Las líneas representan las interacciones directas. Los números grandes en negrita representan motivos individuales. Los números pequeños dentro de los nodos representan una posición única dentro de los motivos. La lista de motivos está compuesta por 148 posiciones y 44 motivos.



Lista de especies que forman parte de las redes de interacciones

Tabla A2.1. Lista de especies de plantas.

Nombre asignado a las especies de plantas	Nombre científico de las especies	Condición (nativa o exótica)
Aca_ova	<i>Acaena ovalifolia</i>	Nativa
Aca_spl	<i>Acaena splendens</i>	Nativa
Ade_chi	<i>Adenocaulon chilense</i>	Nativa
Als_aur	<i>Alstroemeria aurea</i>	Nativa
Ari_chi	<i>Aristotelia chilensis</i>	Nativa
Aza_mic	<i>Azara microphylla</i>	Nativa
Bac_sal	<i>Baccharis salicifolia</i>	Nativa
Ber_dar	<i>Berberis darwinii</i>	Nativa
Ber_mic	<i>Berberis microphylla</i>	Nativa
Cir_vul	<i>Cirsium vulgare</i>	Exótica
Cod_les	<i>Codonorchis lessonii</i>	Nativa
Col_hys	<i>Colletia hystrix</i>	Nativa
Con_aja	<i>Consolida ajacis</i>	Exótica
Cyn_die	<i>Cynanchum diemii</i>	Nativa
Cyt_sco	<i>Cytisus scoparius</i>	Exótica
Das_dia	<i>Dashyphyllum diacanthoides</i>	Nativa
Emb_coc	<i>Embothrium coccineum</i>	Nativa
Fuc_mag	<i>Fuchsia magellanica</i>	Nativa
Gal_hyp	<i>Galium hypocarpium</i>	Nativa
Gau_muc	<i>Gaultheria mucronata</i>	Nativa
Gav_odo	<i>Gavilea odoratissima</i>	Nativa
Ger_mag	<i>Geranium magellanicum</i>	Nativa
Lab_ana	<i>Laburnum anagyroides</i>	Exótica
Lum_api	<i>Luma apiculata</i>	Nativa
May_boa	<i>Maytenus boaria</i>	Nativa
May_chu	<i>Maytenus chubutensis</i>	Nativa
Mut_dec	<i>Mutisia decurrens</i>	Nativa
Mut_spi	<i>Mutisia spinosa</i>	Nativa
Osm_chi	<i>Osmorhiza chilensis</i>	Nativa
Pha_sec	<i>Phaecelia secunda</i>	Nativa
Pla_lan	<i>Plantago lanceolata</i>	Exótica
Pru_avi	<i>Prunus avium</i>	Exótica

Pru_vul	<i>Prunella vulgaris</i>	Exótica
Rha_spi	<i>Rhaphithamnus spinosus</i>	Nativa
Rib_mag	<i>Ribes magellanicum</i>	Nativa
Ros_rub	<i>Rosa rubiginosa</i>	Exótica
Rub_ida	<i>Rubus idaeus</i>	Exótica
Sch_pat	<i>Schinus patagonicus</i>	Nativa
Sol_nit	<i>Solanum nitidibaccatum</i>	Nativa
sp_1	-	-
sp_2	-	-
sp_3	-	-
Tar_offi	<i>Taraxacum officinale</i>	Exótica
Tri_cor	<i>Tristerix corymbosus</i>	Nativa
Tri_pra	<i>Trifolium pratense</i>	Exótica

Tabla A2.2. Lista de especies de polinizadores.

Nombre asignado a las especies de plantas	Orden	Familia	Nombre científico de las especies	Condición (nativa o exótica)
Bom_dah	Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus dahlbomii</i>	Nativa
Bom_rud	Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus ruderatus</i>	Exótica
Bom_ter	Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus terrestris</i>	Exótica
Cad_occ	Hymenoptera	Colletidae	<i>Cadeguala occidentalis</i>	Nativa
Col_sem	Hymenoptera	Colletidae	<i>Colletes seminitidus</i>	Nativa
Mar_bca	Lepidoptera	Pieridae	<i>Mathania leucothea</i>	Nativa
Mar_mar	Lepidoptera	-	-	-
Mar_rojmarr	Lepidoptera	-	-	-
Mos_culro	Diptera	-	-	-
Sep_sep	Trochiliformes	Trochilidae	<i>Sephanoides sephanioides</i>	Nativa
Tat_mel	Diptera	Syrphidae	-	-
Ves_ger	Hymenoptera	Vespidae	<i>Vespula germanica</i>	Exótica
Ves_vul	Hymenoptera	Vespidae	<i>Vespula vulgaris</i>	Exótica
sp1	Diptera	-	-	-
sp2	Coleoptera	Coccinellidae	-	-
sp3	Diptera	-	-	-
sp4	Diptera	-	-	-
sp5	Coleoptera	Coccinellidae	-	-
sp6	Lepidoptera	-	-	-
sp7	Diptera	Agromyzidae	-	-
sp8	Coleoptera	Nitidulidae	-	-
sp9	Diptera	-	-	-
sp10	Diptera	Nemestrinidae	<i>Trichophthalma amoena</i>	Nativa
sp11	Diptera	Syrphidae	<i>Toxomerus</i>	Nativa

			<i>calceolatus</i>	
sp12	Coleoptera	Staphylinidae	-	-
sp13	Diptera	-	-	-
sp14	Hymenoptera	Apidae	<i>Manuelia postica</i>	Nativa
sp15	Hymenoptera	-	-	
sp16	Hymenoptera	Apidae	<i>Chalepogenus caeruleus</i>	Nativa
sp17	Diptera	-	-	-
sp18	Diptera	Syrphidae	<i>Syrphus sp.</i>	-
sp19	Diptera	Syrphidae	<i>Scaeva melanostoma</i>	Nativa
sp20	Diptera	-	-	-
sp21	Diptera	-	-	-
sp22	Coleoptera	Mordellidae	-	-
sp23	Hemiptera	Aphididae	-	-
sp24	Diptera	-	-	-
sp25	Diptera	Phoridae	-	-
sp26	Diptera	Lauxaniidae	<i>Sapromyza fulvicornis</i>	Nativa
sp27	Odonata	-	-	-
sp28	Hymenoptera	Halictidae	<i>Corynura sp.</i>	Nativa
sp29	Diptera	-	-	-
sp30	Hymenoptera	Chalcicoidea	-	-
sp31	Hymenoptera	Eumenidae	-	-
sp32	Diptera	-	-	-
sp33	Diptera	-	-	-
sp34	Hymenoptera	-	-	-
sp35	Hymenoptera	-	-	-
sp36	Hymenoptera	Apidae	<i>Svastrides melanura</i>	Nativa
sp37	Diptera	Syrphidae	<i>Platycherius fenestratus</i>	Nativa
sp38	Diptera	Tabanidae	-	-
sp39	Coleoptera	Melyridae	-	-
sp40	Hymenoptera	Braconidae	-	-
sp41	Diptera	Tachinidae	-	-
sp42	Diptera	Syrphidae	<i>Syrphus octomaculatus</i>	Nativa
sp43	Hymenoptera	Halictidae	<i>Caenohalictus</i>	Nativa

			<i>sp.</i>	
sp44	Coleoptera	Mordellidae	-	-
sp45	Diptera	Syrphidae	-	-
sp46	Hymenoptera	Halictidae	<i>Ruizantheda mutabilis</i>	Nativa
sp47	Hymenoptera	Apidae	<i>Manuelia gayi</i>	Nativa
sp48	Coleoptera	Mordellidae	-	-
sp49	Coleoptera	Melyridae	-	-
sp50	Diptera	Sciaridae	-	-
sp51	Diptera	Syrphidae	<i>Syrphus sp.</i>	-
sp52	Coleoptera	Coccinellidae	-	-
sp53	Diptera	Sciaridae	-	-
sp54	Coleoptera	Mordellidae	-	-
sp55	Diptera	Tachinidae	-	-
sp56	Hymenoptera	-	-	-
sp57	Coleoptera	-	-	-
sp58	Coleoptera	-	-	-
sp59	Hymenoptera	Formicidae	-	-
sp60	Lepidoptera	Hesperiidae	<i>Blutaria flavomaculata</i>	Nativa
sp61	Hymenoptera	-	-	-
sp62	Hymenoptera	-	-	-
sp63	Coleoptera	Mordellidae	-	-
sp64	Hymenoptera	-	-	-
sp65	Hymenoptera	Chalcidoidea	-	-
sp66	Diptera	Anthomyzidae	-	-
sp67	Diptera	-	-	-
sp68	Coleoptero	Curculionidae	-	-
sp69	Hymenoptera	Formicidae	-	-
sp70	-	-	-	-
sp71	Diptera	Syrphidae	<i>Allograpta sp.</i>	-
sp72	-	-	-	-
sp73	Diptera	Agromyzidae	-	-
sp74	Araneae	Thomisidae	-	-
sp75	Hymenoptera	Formicidae	-	-
sp76	Diptera	-	-	-
sp77	Hymenoptera	Torymidae	-	-
sp78	Coleoptera	-	-	-
sp79	Coleoptera	Coccinellidae	-	-

sp80	Lepidoptera	-	-	-
sp81	Hymenoptera	Formicidae	-	-
sp82	Diptera	-	-	-
sp83	Diptera	Syrphidae	<i>Scaeva sp.</i>	-
sp84	Diptera	-	-	-
sp85	Diptera	Muscidae	-	-
sp86	Hymenoptera	Formicidae	-	-
sp87	Hymenoptera	-	-	-
sp88	Lepidoptera	-	-	-
sp89	Hemiptera	Pentatomidae	-	-
sp90	Diptera	Syrphidae	<i>Toxomerus vertebratus</i>	Nativa
sp91	Diptera	Syrphidae	<i>Allograpta exotica</i>	-
sp92	Hymenoptera	Ichneumonidae	-	-
sp93	Diptera	Bombilidae	<i>Phthiria sp.</i>	-
sp94	Hymenoptera	Colletidae	<i>Colletes sp.</i>	Nativa
sp95	Diptera	Phoridae	-	-
sp96	Coleoptera	Melyridae	-	-
sp97	Hymenoptera	Halictidae	<i>Ruizantheda proxima</i>	Nativa
sp99	Hymenoptera	-	-	-
sp100	Diptera	Syrphidae	<i>Toxomerus sp.</i>	Nativa
sp101	Diptera	Syrphidae	<i>Allograpta decemmaculata</i>	-
sp102	Hymenoptera	-	-	-
sp103	Diptera	Tipulidae	-	-
sp104	Hemiptera	Pentatomidae	<i>Planois gayi</i>	Nativa
sp105	Diptera	Tabanidae	-	-
sp106	Hymenoptera	Vespidae	<i>Hypodynerus anae</i>	Nativa
sp107	Diptera	Phoridae	-	-
sp108	Coleoptera	Melyridae	-	-
sp109	Hymenoptera	-	-	-
sp110	Hymenoptera	Vespidae	-	-
sp111	Diptera	Nemestrinidae	<i>Trichophthalma jaffueli</i>	Nativa
sp112	Coleoptera	Mordellidae	-	-

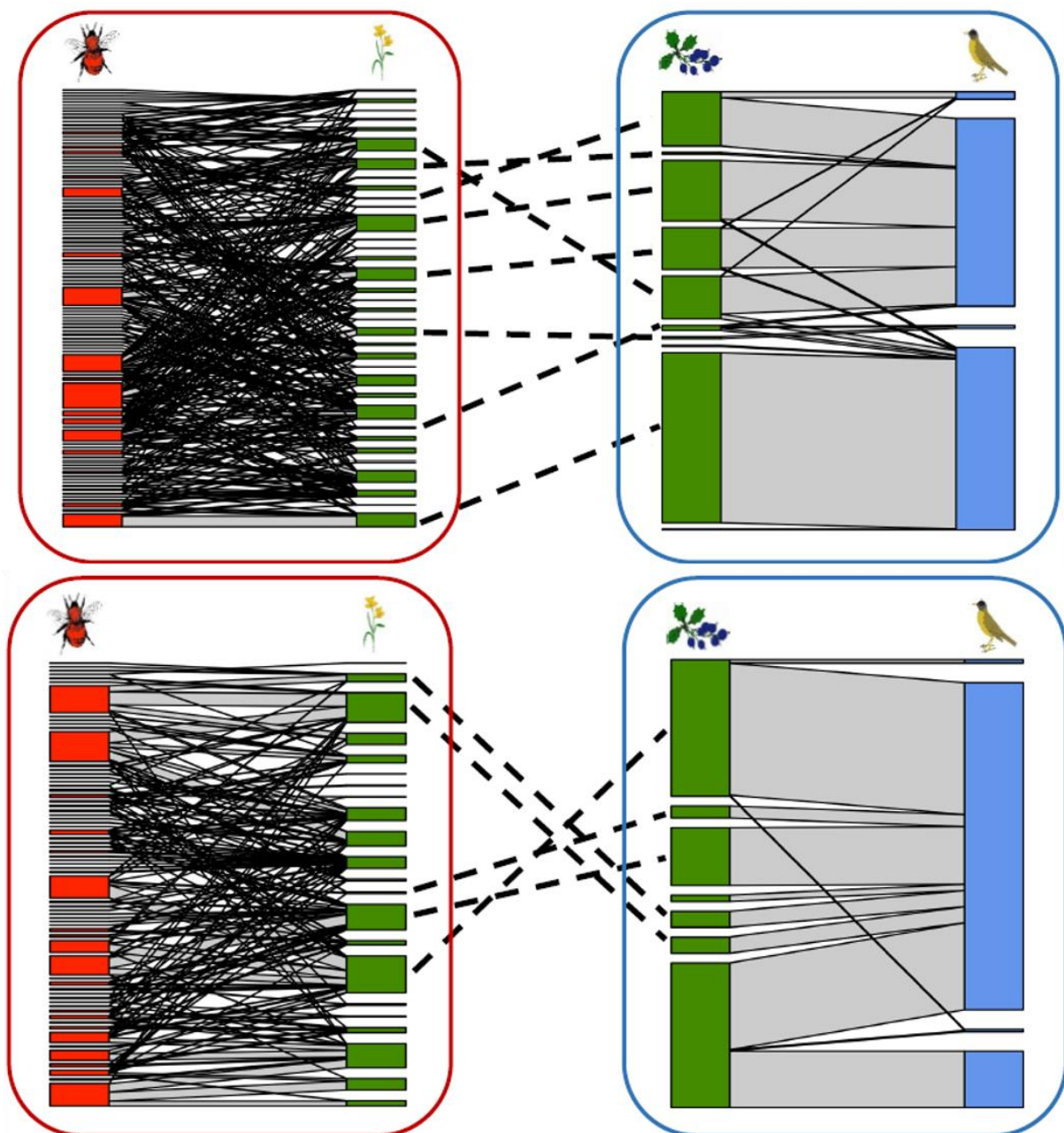
sp113	Coleoptera	-	-	-
-------	------------	---	---	---

Tabla A2.3. Lista de especies de dispersores de semillas.

Nombre asignado a las especies de plantas	Nombre científico de las especies	Condición (nativa o exótica)
Ana_par	<i>Anairetes parulus</i>	Nativa
Aph_spi	<i>Aphrastura spinicauda</i>	Nativa
Cam_mag	<i>Campephilus magellanicus</i>	Nativa
Dro_gli	<i>Dromiciops gliroides</i>	Nativa
Ela_alb	<i>Elaenia albiceps</i>	Nativa
Tur_fal	<i>Turdus falcklandii</i>	Nativa

Apéndice 3 – Figura de redes y estimación del parámetro R

Figura A3.1. Redes de interacciones ecológicas multicapa correspondientes a los sitios intacto (panel superior) y con ungulados no nativos (panel inferior). Los rectángulos rojo y azul indican diferentes capas de la red y representan interacciones de polinización y dispersión de semillas, respectivamente. Cada capa contiene en su interior enlaces intracapa (líneas sólidas) que representan interacciones entre polinizadores y plantas (círculos rojos y verdes), y entre plantas y dispersores de semillas (círculos verdes y celestes). Además, ambas capas están conectadas por enlaces entrecapa (líneas punteadas). En este caso, el enlace entrecapa surge cuando una planta es polinizada y dispersada por un animal.



Estimación de la dependencia demográfica intrínseca de cada especie (R):

Para cada especie de planta, primero clasifiqué la dependencia del mutualismo de polinización de acuerdo con su modo de polinización (por ej., por viento o animal), su modo de propagación (semilla, semilla y vegetativo, o vegetativo) y si la planta tenía un sistema de reproducción autoincompatible (Fig. A3.2). Por ejemplo, una planta con un sistema de reproducción autoincompatible, polinizada por animales y que se propaga únicamente por semillas, tendrá una fuerte dependencia del mutualismo de polinización ($R = 1$). En segundo lugar, clasifiqué la dependencia del mutualismo de dispersión de semillas de cada especie de planta según su producción de frutos carnosos (es decir, "sí" o "no") y su modo de propagación (Fig. A3.2). Por ejemplo, las especies de plantas que producen frutos carnosos, que se propagan solo por semillas, tendrán una fuerte dependencia del mutualismo de dispersión de semillas ($R = 1$).

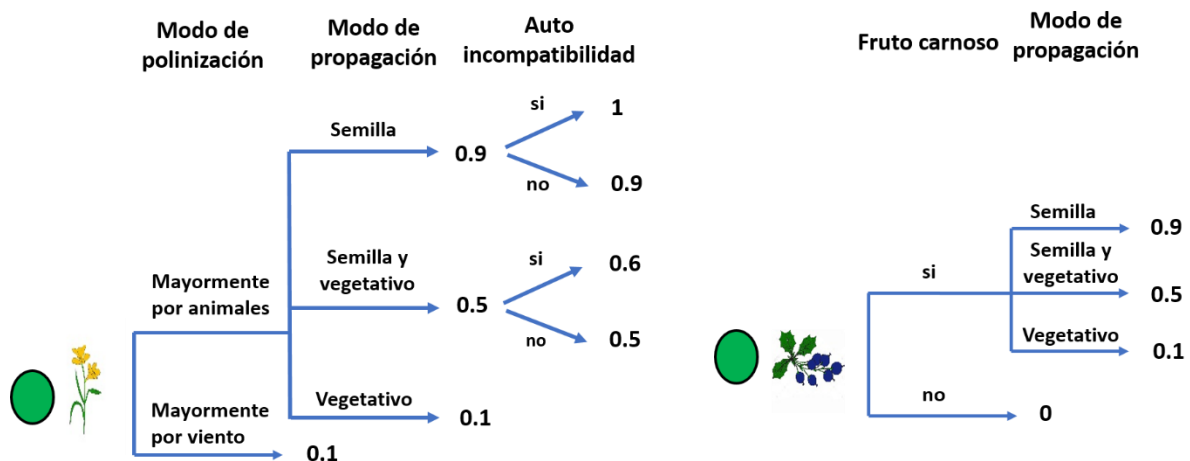


Figura A3.2. Diagrama para clasificar las especies de plantas según su dependencia de los mutualismos de polinización (panel izquierdo) y dispersión de semillas (panel derecho). Las plantas polinizadas por el viento recibieron una puntuación de 0,1 porque ocasionalmente son visitadas por insectos polinizadores (Saunders 2018).

Siguiendo a Vanbergen y colaboradores (2017), para cada especie de visitante floral, clasifiqué su dependencia de las plantas como "alta" ($R = 0.9$) para los visitantes florales que consumen polen y néctar como recurso obligado en su dieta, como "media" ($R = 0.5$) a aquellas especies que probablemente consumen recursos alternativos (por ejemplo, insectos, estiércol), y como "baja" ($R = 0.1$) a aquellas especies que se observaron visitando flores durante la colección de datos pero rara vez consumen néctar o polen (Fig. A3.3). Cuando no logré identificar al visitante floral a nivel de especie o no había información disponible, usé información del nivel taxonómico más cercano (por ejemplo, género, familia). En aquellos

casos donde pude identificar al visitante floral al nivel de orden como máximo, clasifiqué aleatoriamente la especie como "media" o "baja". Por último, para cada especie dispersora de semillas, clasifiqué su dependencia de las plantas como "alta", "media" o "baja" ($R = 0,9, 0,5$ o $0,1$, respectivamente) según su dieta (Fig. A3.3). Para ello, identifiqué los componentes de la dieta de cada especie (por ejemplo, frutas, semillas, invertebrados) y los clasifiqué según su relevancia para la dieta de la especie según Kissling y colaboradores (2009). Por ejemplo, asigné alta dependencia de plantas a aquellas especies que consumen principalmente frutos carnosos y que tenían menos de tres componentes en su dieta. En el presente apéndice también se encuentra la lista de especies con sus valores de dependencia demográfica intrínseca por el mutualismo (Tablas A3.1-4). La información necesaria para clasificar las especies según su dependencia del mutualismo se obtuvo de una revisión exhaustiva de la literatura (detallada al final del apéndice).

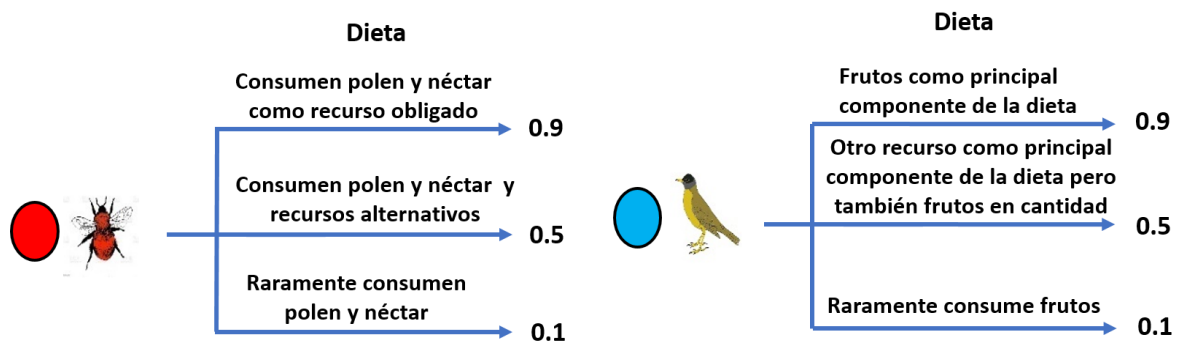


Figura A3.3. Diagrama para clasificar las especies de polinizadores y dispersores de semillas (panel izquierdo y derecho) según su dependencia de los recursos provistos por las plantas.

Lista de especies según con su valor de dependencia demográfica intrínseca (R):

Tabla A3.1. Clasificación de las especies de plantas según su dependencia de la polinización por animales.

Nombre asignado a las especies de plantas	Modo de propagación (semilla, semilla y vegetativo, o vegetativo)	Autoincompatible (si, no)	Modo de polinización (viento o animal)	R
Aca_ova	semilla y vegetativo	si	viento	0.1
Ade_chi	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Als_aur	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Ari_chi	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Aza_mic	semilla	si	animal	0.9
Bac_sal	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Ber_dar	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Ber_mic	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Cir_vul	semilla	si	animal	0.9
Cod_les	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Col_hys	semilla	no	animal	1
Con_aja	semilla	si	animal	0.9
Cyn_die	semilla	si	animal	0.9
Cyt_sco	semilla	no	animal	1
Das_dia	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Emb_coc	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Fuc_mag	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Gal_hyp	semilla	si	animal	0.9
Gau_muc	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Gav_odo	semilla y vegetativo	no	animal	0.6

Ger_mag	semilla	no	animal	1
Lab_ana	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Lum_api	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
May_boa	semilla	no	animal	1
May_chu	semilla	no	animal	1
Mut_dec	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Mut_spi	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Osm_chi	semilla	si	-	0.8
Pha_sec	semilla	si	animal	0.9
Pla_lan	semilla y vegetativo	no	viento	0.1
Pru_avi	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Pru_vul	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Rib_mag	semilla y vegetativo	-	animal	0.5
Ros_rub	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Rub_ida	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
Sch_pat	semilla	no	animal	1
Sol_nit	semilla y vegetativo	si	animal	0.5
sp_1	semilla y vegetativo	-	animal	0.5
sp_2	semilla y vegetativo	-	animal	0.5
sp_3	semilla y vegetativo	-	animal	0.5
Tar_offi	semilla	si	animal	0.9
Tri_cor	semilla	si	animal	0.9
Tri_pra	semilla y vegetativo	no	animal	0.6
Val_sp	semilla y vegetativo	-	animal	0.5
Vic_nig	semilla	si	animal	0.9
Vio_mac	semilla y vegetativo	si	animal	0.5

Tabla A3.2. Clasificación de las especies de plantas según su dependencia de la dispersión de semillas por animales.

Nombre asignado a las especies de plantas	Modo de propagación (semilla, semilla y vegetativo, o vegetativo)	Producción de frutos carnosos (si, no)	R
Aca_ova	semilla y vegetativo	no	0
Ade_chi	semilla y vegetativo	no	0
Als_aur	semilla y vegetativo	no	0
Ari_chi	semilla y vegetativo	si	0.5
Aza_mic	semilla	si	0.9
Bac_sal	semilla y vegetativo	no	0
Ber_dar	semilla y vegetativo	si	0.5
Ber_mic	semilla y vegetativo	si	0.5
Cir_vul	semilla	no	0
Cod_les	semilla y vegetativo	no	0
Col_hys	semilla	si	0.9
Con_aja	semilla	no	0
Cyn_die	semilla	no	0
Cyt_sco	semilla	no	0
Das_dia	semilla y vegetativo	no	0
Emb_coc	semilla y vegetativo	no	0
Fuc_mag	semilla y vegetativo	si	0.5
Gal_hyp	semilla	si	0.9
Gau_muc	semilla y vegetativo	si	0.5
Gav_odo	semilla y vegetativo	no	0
Ger_mag	semilla	no	0
Lab_ana	semilla y vegetativo	no	0

Lum_api	semilla y vegetativo	si	0.5
May_boa	semilla	si	0.9
May_chu	semilla	si	0.9
Mut_dec	semilla y vegetativo	no	0
Mut_spi	semilla y vegetativo	no	0
Osm_chi	semilla	no	0
Pha_sec	semilla	no	0
Pla_lan	semilla y vegetativo	No	0
Pru_avi	semilla y vegetativo	si	0.5
Pru_vul	semilla y vegetativo	no	0
Rib_mag	semilla y vegetativo	si	0.5
Ros_rub	semilla y vegetativo	si	0.5
Rub_ida	semilla y vegetativo	si	0.5
Sch_pat	semilla	si	0.9
Sol_nit	semilla y vegetativo	si	0.5
sp_1	semilla y vegetativo	no	0
sp_2	semilla y vegetativo	no	0
sp_3	semilla y vegetativo	no	0
Tar_offi	semilla	no	0
Tri_cor	semilla	si	0.9
Tri_pra	semilla y vegetativo	no	0
Val_sp	semilla y vegetativo	no	0
Vic_nig	semilla	no	0
Vio_mac	semilla y vegetativo	no	0

Tabla A3.3. Clasificación de las especies polinizadoras según su dependencia de los recursos suministrados por las plantas.

Nombre asignado a las especies de polinizadores	R
Bom_dah	0.9
Bom_rud	0.9
Bom_ter	0.9
Col_sem	0.9
Mar_bca	0.9
Mar_rojmarr	0.9
Mos_culro	0.5
Sep_sep	0.9
Ves_vul	0.5
Ves_ger	0.5
sp1	0.1
sp2	0.5
sp3	0.1
sp4	0.5
sp5	0.1
sp6	0.9
sp7	0.5
sp8	0.1
sp9	0.5
sp10	0.9
sp11	0.9
sp14	0.9

sp15	0.1
sp16	0.9
sp17	0.5
sp18	0.9
sp19	0.9
sp20	0.1
sp21	0.5
sp22	0.5
sp23	0.1
sp25	0.1
sp26	0.5
sp27	0.1
sp28	0.9
sp29	0.5
sp30	0.5
sp31	0.5
sp32	0.5
sp33	0.1
sp34	0.5
sp37	0.9
sp38	0.5
sp39	0.5
sp40	0.5
sp41	0.5
sp42	0.9
sp43	0.9

sp44	0.5
sp45	0.9
sp46	0.9
sp47	0.9
sp48	0.5
sp49	0.5
sp50	0.1
sp51	0.9
sp52	0.5
sp53	0.5
sp54	0.5
sp55	0.5
sp56	0.1
sp57	0.5
sp58	0.1
sp59	0.5
sp60	0.9
sp61	0.1
sp62	0.5
sp63	0.5
sp64	0.1
sp65	0.5
sp66	0.1
sp67	0.5
sp70	0.1
sp71	0.9

sp72	0.5
sp73	0.1
sp76	0.1
sp77	0.9
sp82	0.5
sp83	0.9
sp84	0.9
sp85	0.5
sp86	0.1
sp87	0.1
sp88	0.9
sp90	0.9
sp91	0.9
sp92	0.5
sp93	0.9
sp94	0.9
sp95	0.1
sp96	0.5
sp97	0.9
sp99	0.5
sp100	0.9
sp101	0.9
sp102	0.1
sp105	0.9
sp106	0.5
sp107	0.5

sp108	0.5
sp109	0.9
sp110	0.5
sp111	0.9
sp112	0.5
sp113	0.1

Tabla A3.4. Clasificación de las especies dispersoras de semillas según su dependencia de los recursos suministrados por las plantas. La relevancia de cada componente de la dieta para la aptitud de la especie se indica con los símbolos “+”.

Nombre asignado a las especies de dispersores de semillas	Frutos	Invertebrados	Semillas	Huevos	Vertebrados (por ej. aves)	R
Aph_spi	+	+++	-	-	-	0.1
Cam_mag	+	+++	-	-	-	0.1
Dro_gli	++	+++	-	+	+	0.5
Ela_alb	+++	++	+	-	-	0.9
Tur_fal	+++	++	-	-	-	0.9

Lista de literatura revisada para asignar la dependencia del mutualismo (R) a las especies:

- Aizen, M. A. (2003). Influences of animal pollination and seed dispersal on winter flowering in a temperate mistletoe. *Ecology*, 84(10), 2613-2627.
- Amico, G. C., & Aizen, M. A. (2005). Dispersión de semillas por aves en un bosque templado de Sudamérica austral: ¿quién dispersa a quién?. *Ecología austral*, 15(1), 089-100.
- Arena, M. E., Lencinas, M. V., & Radice, S. (2018). Variability in floral traits and reproductive success among and within populations of *Berberis microphylla* G. Forst., an underutilized fruit species. *Scientia Horticulturae*, 241, 65-73.
- Boucher, S., & Pollet, M. (2021). The leaf-miner flies (Diptera: Agromyzidae) of Mitaraka, French Guiana. *Zoosystema*, 43(6), 113-125.
- Bravo, S. P., Cueto, V. R., & Amico, G. C. (2015). Do animal–plant interactions influence the spatial distribution of *Aristotelia chilensis* shrubs in temperate forests of southern South America?. *Plant Ecology*, 216(3), 383-394.
- Caldiz, M. S., & Premoli, A. C. (2006). Isozyme diversity in large and isolated populations of *Luma apiculata* (Myrtaceae) in north-western Patagonia, Argentina. *Australian journal of botany*, 53(8), 781-787.
- Carvalho, G. O., & Medel, R. (2016). Heterospecific pollen transfer from an exotic plant to native plants: assessing reproductive consequences in an Andean grassland. *Plant Ecology & Diversity*, 9(2), 151-157.
- Celis-Diez, J. L., Hetz, J., Marín-Vial, P. A., Fuster, G., Necochea, P., Vásquez, R. A., ... & Armesto, J. J. (2012). Population abundance, natural history, and habitat use by the arboreal marsupial *Dromiciops gliroides* in rural Chiloé Island, Chile. *Journal of Mammalogy*, 93(1), 134-148.
- Chang, H., Downie, S. R., Peng, H., & Sun, F. (2019). Floral organogenesis in three members of the tribe Delphinieae (Ranunculaceae). *Plants*, 8(11), 493.
- Cruden, R. W., Baker, K. K., Cullinan, T. E., Disbrow, K. A., Douglas, K. L., Erb, J. D., ... & Wilmot, S. R. (1990). The mating systems and pollination biology of three species of *Verbena* (Verbenaceae). *Journal of the Iowa Academy of Science: JIAS*, 97(4), 178-183.
- de Lima Ferreira, P., Saavedra, M. M., & Groppo, M. (2019). Phylogeny and circumscription of *Dasyphyllum* (Asteraceae: Barnadesioideae) based on molecular data with the recognition of a new genus, *Archidasyphyllum*. *PeerJ*, 7, e6475
- DiTommaso, A., Lawlor, F. M., & Darbyshire, S. J. (2005). The biology of invasive alien

- plants in Canada. 2. *Cynanchum rossicum* (Kleopow) Borhidi [= *Vincetoxicum rossicum* (Kleopow) Barbar.] and *Cynanchum louiseae* (L.) Kartesz & Gandhi [= *Vincetoxicum nigrum* (L.) Moench]. Canadian Journal of Plant Science, 85(1), 243-263.
- Ducci, F., De Cuyper, B., De Rogatis, A., Dufour, J., & Santi, F. (2013). Wild cherry breeding (*Prunus avium* L.). In Forest tree breeding in Europe (pp. 463-511). Springer, Dordrecht.
- Dzendoletas, M. A., Havrylenko, M., & Crivelli, E. (2003). Fenología de plantas en Puerto Blest, Parque Nacional Nahuel Huapi, Patagonia, Argentina. Ecología, 17, 87-98.
- Fernández, M. J., López-Calleja, M. V., & Bozinovic, F. (2002). Interplay between the energetics of foraging and thermoregulatory costs in the green-backed firecrown hummingbird *Sephanoides sephaniodes*. Journal of Zoology, 258(3), 319-326.
- Fuentealba Jara, I. S. (2016). Germinación in vitro de Orites Myrtoidea (Proteaceae) y *Maytenus Chubutensis* (Celastraceae). Especies vegetales insuficientemente conocidas de la Flora de Chile.
- Funk, V. A., Pasini, E., Bonifacino, J. M., & Katinas, L. (2016). Home at last: the enigmatic genera *Eriachaenium* and *Adenocaulon* (Compositae, Mutisioideae, Mutisieae, Adenocaulinae). PhytoKeys, (60), 1.
- Gerhardt, R. R., & Hribar, L. J. (2019). Flies (Diptera). In Medical and Veterinary Entomology (pp. 171-190). Academic Press.
- Godoy, M., De La Fuente, L. M., Gómez, M., & Ginocchio, R. (2020). Aspectos reproductivos, arquitectura y fenomorfología de *Maytenus boaria* Molina (Celastraceae) en Chile central. Gayana. Botánica, 77(2), 152-167.
- Graça, V. C., Ferreira, I. C., & Santos, P. F. (2020). Bioactivity of the Geranium genus: a comprehensive review. Current pharmaceutical design, 26(16), 1838-1865.
- Huryn, V. M. B., & Moller, H. (1995). An assessment of the contribution of honey bees (*Apis mellifera*) to weed reproduction in New Zealand protected natural areas. New Zealand Journal of Ecology, 111-122.
- Hyslop, M. G., Kemp, P. D., & Hodgson, J. (1999, January). Vegetatively reproductive red clovers (*Trifolium pratense* L.): an overview. In Proceedings of the New Zealand Grassland Association (pp. 121-126).
- Karolyi, F., Szucsich, N. U., Colville, J. F., & Krenn, H. W. (2012). Adaptations for nectar-feeding in the mouthparts of long-proboscid flies (Nemestrinidae: Prosoeca). Biological Journal of the Linnean Society, 107(2), 414-424.
- Klinkhamer, P. G., & De Jong, T. J. (1993). *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. (*Carduus lanceolatus*

- L., *Cirsium lanceolatum* (L.) Scop., non Hill). *Journal of Ecology* (Oxford), 81(1), 177-191.
- Kutschker, A. (2011). Revisión del género *Valeriana* (Valerianaceae) en Sudamérica austral. *Gayana. Botánica*, 68(2), 244-296.
- Ladio, A. H., & Aizen, M. A. (1999). Early reproductive failure increases nectar production and pollination success of late flowers in south Andean *Alstroemeria aurea*. *Oecologia*, 120(2), 235-241.
- Lamas, C. J. E., & Evenhuis, N. L. (2016). Family Bombyliidae. *Catalogue of Diptera of Colombia*, 4122(1), 372-381.
- Lawrence, J. F., & Leschen, R. A. (2011). 9.11. Melyridae Leach, 1815. In *Morphology and Systematics (Elateroidea, Bostrichiformia, Cucujiformia partim)* (pp. 273-280). De Gruyter.
- Ling, T. C., Wang, L. L., Zhang, Z. Q., Dafni, A., Duan, Y. W., & Yang, Y. P. (2017). High autonomous selfing capacity and low flower visitation rates in a subalpine population of *Prunella vulgaris* (Lamiaceae). *Plant Ecology and Evolution*, 150(1), 59-66.
- Lowry, P., & Jones, A. (1984). Systematics of *Osmorhiza* Raf. (Apiaceae: Apioideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 71(4), 1128-1171. doi:10.2307/2399249
- Marticorena, A. E., & Cavieres, L. A.. (2000). *Acaena magellanica* (Lam.) Vahl (Rosaceae). *Gayana. Botánica*, 57(1), 107-113. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432000000100011>
- Medan, D., & Torretta, J. P. (2015). The reproduction of *Colletia hystrix* and late-flowering in *Colletia* (Rhamnaceae: Colletieae). *Plant Systematics and Evolution*, 301(4), 1181-1189.
- Misle, E., Garrido, E., Contardo, H., & González, W. (2011). Maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz) the amazing chilean tree: a review. *Journal of Agricultural Science and Technology B*, 1, 473-482.
- Muñoz, C. E., Ippi, S. G., Celis Diez, J. L., Salinas, D., & Armesto, J. J. (2017). Arthropods in the diet of the bird assemblage from a forested rural landscape in Northern Chiloé Island, Chile: a quantitative study.
- Narendran, T. C., & Rao, S. A. (1987). Biosystematics of Chalcididae (Chalcidoidea: Hymenoptera). *Proceedings: Animal Sciences*, 96(5), 543-550.
- Orellana, J. I., Smith-Ramírez, C., Rau, J. R., Sade, S., Gantz, A., & Valdivia, C. E. (2014). Phenological synchrony between the austral thrush *Turdus falcklandii* (Passeriformes: Turdidae) and its food resources within forests and prairies in southern Chile. *Revista chilena de historia natural*, 87(1), 1-8.

- Powell, K. I., Krakos, K. N., & Knight, T. M. (2011). Comparing the reproductive success and pollination biology of an invasive plant to its rare and common native congeners: a case study in the genus *Cirsium* (Asteraceae). *Biological Invasions*, 13(4), 905-917.
- Romoleroux, K., Cárdate-Tandalla, D., Erler, R., Navarrete, H. 2019. *Galium hypocarpium* En: Plantas vasculares de los bosques de Polylepis en los páramos de Oyacachi. Version 2019.0 <https://bioweb.bio/floraweb/polylepis/FichaEspecie/Galium%20hypocarpium>
- Rosenberger, N. M. (2018). Competition of a nectar-robbing bumble bee with a legitimate forager and its consequences for female reproductive success of *Fuchsia magellanica*. University of Calgary, Calgary, AB. doi:10.11575/PRISM/33042 <http://hdl.handle.net/1880/108689> master thesis
- Saavedra Cárdenas, M. J. (2016). Adaptación de protocolos de establecimiento in vitro de *Ribes rubrum* L., *Ribes nigrum* L. y *Ribes uva-crispa* L.
- Seguí, J., Lázaro, A., Traveset, A., Salgado-Luarte, C., & Gianoli, E. (2018). Phenotypic and reproductive responses of an Andean violet to environmental variation across an elevational gradient. *Alpine Botany*, 128(1), 59-69.
- Sharma, N., Koul, P., & Koul, A. K. (1993). Pollination biology of some species of genus *Plantago* L. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 111(2), 129-138.
- Silva, V. C., & Mello, R. L. (2008). Occurrence of *Physoclypeus farinosus* Hendel (Diptera: Lauxaniidae) in Flowerheads of Asteraceae (Asterales). *Neotropical entomology*, 37, 92-96.
- Smith-Ramírez, C., Martínez, P., Nunez, M., González, C., & Armesto, J. J. (2005). Diversity, flower visitation frequency and generalism of pollinators in temperate rain forests of Chiloé Island, Chile. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147(4), 399-416.
- Soza, V. L., & Olmstead, R. G. (2010). Evolution of breeding systems and fruits in New World *Galium* and relatives (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, 97(10), 1630-1646.
- Stawiarz, E., & Wróblewska, A. (2013). Flowering dynamics and pollen production of *Laburnum anagyroides* Med. under the conditions of South-Eastern Poland. *Journal of Apicultural Science*, 57(2), 103.
- Suzuki, N. (2003). Significance of flower exploding pollination on the reproduction of the Scotch broom, *Cytisus scoparius* (Leguminosae). *Ecological research*, 18(5), 523-532
- Teillier, S., & Escobar, F. (2013). Revisión del género *Gaultheria* L.(Ericaceae) en Chile. *Gayana. Botánica*, 70(1), 136-153.
- Troiani, H. O. (1985). Las especies de *Baccharis* (Compositae) de la provincia de La Pampa.

- Revista Facultad de Agronomía Universidad Nacional de la Pampa, 1, 1-2.
- Ueda, Y., & Akimoto, S. (2001). Cross-and self-compatibility in various species of the genus Rosa. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(4), 392-395.
- Vallejo-Marín, M., Walker, C., Friston-Reilly, P., Solís-Montero, L., & Iqbal, B. (2014). Recurrent modification of floral morphology in heterantherous Solanum reveals a parallel shift in reproductive strategy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1649), 20130256.
- Vázquez, D. P., & Simberloff, D. (2004). Indirect effects of an introduced ungulate on pollination and plant reproduction. *Ecological Monographs*, 74(2), 281-308.
- Vergara, P., & Schlatter, R. P. (2004). Magellanic Woodpecker (*Campephilus magellanicus*) abundance and foraging in Tierra del Fuego, Chile. *Journal of Ornithology*, 145(4), 343-351.
- Wilson, J. S., & Carril, O. J. M. (2015). 4. COLLETIDAE. In *The Bees in Your Backyard* (pp. 96-110). Princeton University Press.
- Żurawicz, E. (2015). Cross-pollination increases the number of drupelets in the fruits of red raspberry (*Rubus idaeus* L.). In *XI International Rubus and Ribes Symposium* 1133 (pp. 145-152).

Bibliografía:

- Kissling, W., K. Böhning-Gaese, and W. Jetz. 2009. The global distribution of frugivory in birds. *Global ecology and biogeography* 18:150–162.
- Saunders, M.E. 2018. Insect pollinators collect pollen from wind-pollinated plants: implications for pollination ecology and sustainable agriculture. *Insect Conservation and diversity*, 11:13–31.
- Vanbergen, A.J., B. A. Woodcock, M. S. Heard, and D. S. Chapman. 2017. Network size, structure and mutualism dependence affect the propensity for plant–pollinator extinction cascades. *Functional ecology* 31:1285–1293.

Apéndice 4 – Significado ecológico de los ejes de NMDS

Tabla A4.1. Asociación entre las posiciones de los motivos y los cinco valores máximos y mínimos en los ejes NMDS al comparar el nicho de interacción central entre los sitios de pre-invasión de *B. terrestris* y los sitios de post-invasión con el mutualismo clave (Figura 4.4, panel superior). Los círculos superiores e inferiores de los motivos representan las especies de polinizadores y plantas. Los círculos negros rellenos indican las posiciones del motivo ocupadas por los polinizadores centrales y asociadas a los valores extremos de los ejes NMDS.



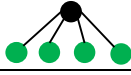
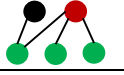
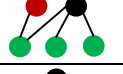

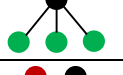
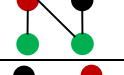

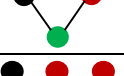
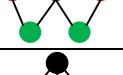
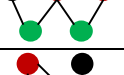
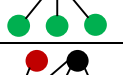
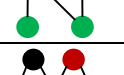
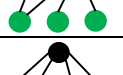
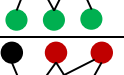

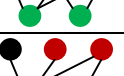


Eje	Valores máximos			Valores mínimos		
	Nº de posición	Posición	Valor	Nº de posición	Posición	Valor
X	44		0.838	8		-0.214
	46		0.836	34		-0.208
	35		0.803	24		-0.205
	16		0.802	11		-0.198
	42		0.802	6		-0.186
Y	25		0.427	24		-0.349
	16		0.308	11		-0.297
	35		0.270	38		-0.286
	46		0.266	28		-0.233
	41		0.259	21		-0.160

Tabla A4.2. Interpretación ecológica de las posiciones de los motivos asociados a los cinco valores máximos y mínimos en los ejes NMDS al comparar el nicho de interacción central entre los sitios de pre-invasión de *B. terrestris* y los sitios de post-invasión con el mutualismo clave (Figura 4.4, Tabla A1). Los círculos superiores e inferiores de los motivos representan las especies de polinizadores y plantas. Los círculos negros rellenos indican las posiciones del motivo ocupadas por los polinizadores centrales y asociadas a los valores extremos de los ejes NMDS. Las especies de polinizadores y plantas se consideraron especialistas cuando interactúan con una especie, intermedias con dos especies y generalistas con tres o más especies.

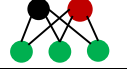

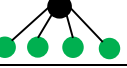
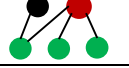









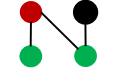


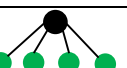



Eje	Valores máximos			Valores mínimos		
	Posición	Compite con	Visita planta/s	Posición	Compite con	Visita planta/s
X		1 sp. generalista	intermedias (3)		2 sp. especialistas	especialista (1)
		0 sp.	especialistas (4)		1 sp. generalista	intermedia (1)
		1 sp. especialista	especialistas (2) e intermedia (1)		1 sp.	intermedia (1)
		0 sp.	especialistas (3)		1 sp.	intermedia (1)
		1 sp.	especialista (1) e intermedias (2)		1 sp. especialista	intermedia (1)
Y		2 sp. especialista	intermedias (2)		1 sp.	intermedia (1)
		0 sp.	especialistas (3)		1 sp.	intermedia (1)
		1 sp. especialista	especialistas (2) e intermedia (1)		1 sp.	intermedia (1) y especialista (1)
		0 sp.	especialistas (4)		2 sp.	generalista (1)
		1 sp. generalista	especialista (1) e intermedias (2)		2 sp.	generalista (1)

Tabla A4.3. Asociación entre las posiciones de los motivos y los cinco valores máximos y mínimos en los ejes NMDS al comparar el nicho de interacción central entre los sitios de pre-invasión de *B. terrestris* y los sitios de post-invasión sin el mutualismo clave (Figura 4.4, panel inferior). Los círculos superiores e inferiores de los motivos representan las especies de polinizadores y plantas. Los círculos negros rellenos indican las posiciones del motivo ocupadas por los polinizadores centrales y asociadas a los valores extremos de los ejes NMDS.



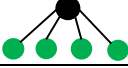
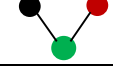



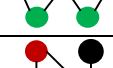






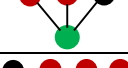
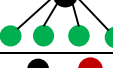
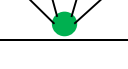
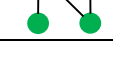


Eje	Valores máximos			Valores mínimos		
	Nº de posición	Posición	Valor	Nº de posición	Posición	Valor
X	44		1.106	2		-0.203
	46		1.080	6		-0.182
	42		1.044	34		-0.056
	35		1.040	24		-0.028
	16		1.036	11		-0.023
Y	28		0.318	25		-0.298
	34		0.292	4		-0.286
	21		0.268	31		-0.283
	8		0.233	46		-0.282
	18		0.230	12		-0.267

Tabla A4.4. Interpretación ecológica de las posiciones de los motivos asociados a los cinco valores máximos y mínimos en los ejes NMDS al comparar el nicho de interacción central entre los sitios de pre-invasión de *B. terrestris* y los sitios de post-invasión sin el mutualismo clave (Figura 4.4, Tabla A3). Los círculos superiores e inferiores de los motivos representan las especies de polinizadores y plantas. Los círculos negros rellenos indican las posiciones del motivo ocupadas por los polinizadores centrales y asociadas a los valores extremos de los ejes NMDS. Las especies de polinizadores y plantas se consideraron especialistas cuando interactúan con una especie, intermedias con dos especies y generalistas con tres o más especies.

Eje	Valores máximos			Valores mínimos		
	Posición	Compite con	Visita planta/s	Posición	Compite con	Visita planta/s
X		1 sp. generalista	intermedias (3)		0 sp.	especialista (1)
		0 sp.	especialistas (4)		1 sp. especialista	intermedia (1)
		1 sp.	intermedias (2) y especialista (1)		1 sp. generalista	intermedia (1)
		1 sp.	intermedia (1) y especialistas (2)		1 sp.	intermedia (1)
		0 sp.	especialistas (3)		1 sp.	intermedia (1)
Y		2 sp.	generalista (1)		2 sp. especialistas	intermedias (2)
		1 sp. generalista	intermedia (1)		0 sp.	especialistas (2)
		2 sp.	generalista (1)		2 sp.	generalistas (2)
		2 sp. especialistas	generalista (1)		0 sp.	especialistas (4)
		3 sp. especialistas	generalista (1)		1 sp.	intermedia (1) y especialista (1)

The disruption of a keystone interaction erodes pollination and seed dispersal networks

AGUSTIN VITALI ^{1,6} YAMILA SASAL ² DIEGO P. VÁZQUEZ ^{3,4} M. FLORENCIA MIGUEL ³
AND MARIANO A. RODRÍGUEZ-CABAL^{1,5}

¹Grupo de Ecología de Invasiones, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) – CONICET – Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Argentina

²Laboratorio Ecotono, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) – CONICET – Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Argentina

³Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas, CONICET & Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

⁴Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

⁵Rubenstein School of Environment and Natural Resources, University of Vermont, Burlington, Vermont 05405 USA

Citation: Vitali, A., Y. Sasal, D. P. Vázquez, M. F. Miguel, and M. A. Rodríguez-Cabal. 2021. The disruption of a keystone interaction erodes pollination and seed dispersal networks. *Ecology* 00(00):e03547. 10.1002/ecy.3547

Abstract. Understanding the impacts of global change on ecological communities is a major challenge in modern ecology. The gain or loss of particular species and the disruption of key interactions are both consequences and drivers of global change that can lead to the disassembly of ecological networks. We examined whether the disruption of a hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism by the invasion of non-native species can have cascading effects on both pollination and seed dispersal networks in the temperate forest of Patagonia, Argentina. We focused on network motifs, subnetworks composed of a small number of species exhibiting particular patterns of interaction, to examine the structure and diversity of mutualistic networks. We found that the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism plays a critical role in the community by increasing the complexity of pollination and seed dispersal networks through supporting a high diversity of interactions. Moreover, we found that the disruption of this tripartite mutualism by non-native ungulates resulted in diverse indirect effects that led to less complex pollination and seed dispersal networks. Our results demonstrate that the gains and losses of particular species and the alteration of key interactions can lead to cascading effects in the community through the disassembly of mutualistic networks.

Key words: cascading effects; keystone mutualisms; network motifs; non-native species; pollination networks; seed dispersal networks.

INTRODUCTION

A central attribute of ecological communities is that only a few species and interactions may be essential to maintain community structure and ecosystem processes, even though many species might coexist and interact (Ellison, 2005, Valiente-Banuet, 2015). Therefore, studying the impacts of species losses and gains is crucial to understanding the structure and functionality of communities in a changing world. Ecological networks provide a systematic way of representing, characterizing, and comparing the complexity of ecological communities, in which species are represented by nodes and interactions by links between nodes (Delmas, 2019). The loss of a particular species (i.e., nodes) and the disruption of key interactions (i.e., links) may have cascading effects in communities, increasing species extinction rates (Koh

et al. 2004, Rodríguez-Cabal et al. 2013, Säterberg and Sellman 2013).

In particular, mutualistic interactions such as pollination and seed dispersal by animals are essential in supporting terrestrial ecosystems because many plants rely on these interactions for reproduction (Bond 1994, Ashman, 2004, Ollerton and Winfree 2011). In the last two decades, the study of mutualistic networks has been critical to understanding the structure and functionality of these communities (Bascompte and Jordano 2007, Rohr and Saavedra 2014). Although, several studies have focused on the impacts of human-caused environmental change on mutualistic interactions (Tylianakis et al. 2008, Traveset and Richardson 2014), few studies have focused on how such change triggers the disassembly of mutualistic webs (Fortuna and Krishna 2013, Rader et al. 2014). Moreover, indirect effects on interaction webs are not well understood because they are complex to study (Terborgh and Feeley 2010).

In the northern portion of the temperate forest of Patagonia a mutualistic interaction occurs involving a

Manuscript received 25 April 2021; revised 17 June 2021; accepted 20 July 2021; final version received 1 October 2021.
Corresponding Editor: Todd M. Palmer.

⁶ E-mail: agustinvitali@comahue-conicet.gob.ar

hummingbird (*Sephanooides sephanioides*), a marsupial (*Dromiciops gliroides*), and a mistletoe (*Tristerix corymbosus*). The nectar produced by the mistletoe is the only nectar resource for the hummingbird during the Patagonian winter (Smith-Ramírez 1993, Aizen and Vázquez 2002), and the hummingbird is the most frequent (almost exclusive) pollinator of the mistletoe (Aizen 2003). In addition, the hummingbird pollinates nearly 20% of the endemic woody genera in this Patagonian forest (Aizen and Ezcurra 1998). The marsupial provides an efficient seed dispersal service by dispersing at least 16 fleshy fruited species, including large fruits (>11 mm) not dispersed by the native birds (Amico and Rodríguez-Cabal 2009). In addition, the mistletoe depends on the marsupial for its persistence because passage through the marsupial's gut is crucial for triggering seed germination and most defecated seeds are stuck to branches due to the sticky pulp that surrounds the mistletoe seed producing a “necklace” arrangement of up to 20 seeds linked by viscin threads (Amico and Aizen 2000, Aizen et al. 2002, Aizen 2003, Rodríguez-Cabal and Aizen 2007). Due to the tight interactions among the hummingbird–mistletoe–marsupial, a reduction in the abundance of any of them may disassemble this interaction web. For example, Rodríguez-Cabal et al. (2013) found that herbivory on *Aristotelia chilensis*, the main host of the mistletoe, and changes on vegetation structure by non-native ungulates led to a reduction of the main host abundance and indirectly affected the hummingbird and the arboreal marsupial, triggering the disassembly of the hummingbird–mistletoe–marsupial interaction. The temperate forest of Patagonia is known for its high proportion of plant species requiring animal mutualists for pollination and seed dispersal (Aizen and Ezcurra 1998). Almost 60% of plant species in this forest require at least one animal species for pollination (Riveros 1991) and nearly 50% of plants produce fleshy fruits, suggesting animal seed dispersal (Armesto et al. 1987), which is comparable with the mutualism level recorded in tropical forests (Aizen et al. 2002, Rodríguez-Cabal and Nuñez 2008). In addition, due to the high degree of asymmetry of plant–animal mutualisms of the Patagonian temperate forest, where most of the plants depend only on a few mutualistic partners (Aizen et al. 2002), the loss of a mutualistic species could trigger a cascade of linked extinction events throughout the community (Albrecht et al. 2014).

In this study, we examined how far the impacts of the disruption of the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism cascades in pollination and seed dispersal networks and how large is the perturbation to network structure in the temperate forests of Patagonia. Using an ongoing natural experiment triggered by the invasion of non-native ungulates, we addressed the following questions: (1) Is the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism fundamental to maintaining the structure and diversity of mutualistic networks? We expect that the complexity of pollination and seed dispersal

networks will be greater in sites with this interaction than in sites without the interaction. (2) Does the disruption of this mutualism by non-native ungulates alter mutualistic network structure? We expect that the complexity of pollination and seed dispersal networks will be lower in sites invaded by non-native ungulates than in intact forest sites with the tripartite mutualism.

METHODS

Study area and natural history

The study was conducted in Nahuel Huapi National Park and Llao Llao Municipal Reserve in northwestern Patagonia, Argentina. The climate in this region has a dry season in spring–summer and a humid season in autumn–winter, with 1,800 mm on average of annual precipitation and 9°C average annual temperature. The forest is dominated by the evergreen southern beech (*Nothofagus dombeyi*) and cordilleran cypress (*Austrocedrus chilensis*), with an understory layer dominated by the shrub *A. chilensis* and bamboo *Chusquea culeou* (Mermoz and Martín 1986). Currently the non-native ungulates red deer (*Cervus elaphus*), dama deer (*Dama dama*), and domestic cattle (*Bos taurus*) are the most abundant ungulates in these forests and occupy 56% of the area of Nahuel Huapi National Park (Jaksic et al. 2002).

In this study we took advantage of the clumped distribution of the mistletoe populations, shaped by the marsupial (*D. gliroides*) activity and the population structure of its main host (García and Rodríguez-Cabal 2009, Sasal and Amico 2021) that allowed us to compare sites with high and low mistletoe densities. We selected six 1-ha native forest sites, separated by more than 2 km. Four sites were located in well preserved forest lacking introduced ungulates: two sites with high density of mistletoes (>400 reproductive individuals per hectare) and the presence of *A. chilensis* (from this point forwards “intact sites with the tripartite mutualism”), and two sites with low density of mistletoes (<20 reproductive individuals per hectare) and the presence of *A. chilensis* (from this point forwards “intact sites without the tripartite mutualism”). Intact forest sites do not present direct or indirect records of herbivory from ungulates (see Appendix S1). Two additional sites were located in forests that had been invaded by non-native ungulates, from this point forwards “invaded sites.” We considered invaded sites as those with the presence of herbivory of non-native ungulates over the last 100 yr (Appendix S1: Table S2). Previous records of *D. gliroides* (Martin 2010) and previous and current presence of low adult mistletoes density in invaded sites evidenced the historical occurrence of the hummingbird–mistletoe–marsupial interaction (Vázquez 2002, Rodríguez-Cabal et al. 2013; Appendix S1: Table S1). However, due to the herbivory pressure and changes in vegetation structure by non-native ungulates, the abundance of the mistletoe and its

main host *A. chilensis* was low and the marsupial is locally absent, producing the ecological extinction of the hummingbird–mistletoe–marsupial interaction at invaded sites due to the absence of mistletoe recruitment (Rodríguez-Cabal et al. 2013; Appendix S1: Table S2). Each site was chosen haphazardly from a pool of possible sites. Description of sites is detailed in Appendix S1. Fieldwork and data collection were carried out during two consecutive austral springs and summers (2017–2018 and 2018–2019).

Pollination networks

During the flowering season (October–February) we identified all plant species pollinated by animals in each site and estimated the rate of flower visits. To this end, we conducted 10 min censuses per plant when we recorded the pollinator identity, number of pollinator visits, and number of flowers per individual or branch visited (when the sample plant has a large number of flowers). A visit was recorded when the visitor touched a reproductive structure of the flower. Pollinator species that could not be identified in the field were collected and identified in the laboratory. We performed the censuses from 11:00 h to 17:00 h on sunny non-windy days. We standardized the sampling effort by plant species in our data collection design. We conducted the same number of censuses for each plant species across all sites. For example, if we had conducted 20 and 30 censuses on plant species A and B, respectively, in site 1, then we conducted 20 and 30 censuses on species A and B in the remaining sites. Furthermore, the number of censuses conducted for each plant species was roughly proportional to their relative abundance at each site, as abundant plant species tend to interact more frequently than rare species (Vázquez et al. 2007). We carried out at least 12 censuses per plant species per site, including at least five different individuals of each species. We conducted 1,782 censuses for all sites and plant species in 2017–2018, and 1,738 censuses in 2018–2019 (Appendix S2: Table S1, smoothed accumulation curves of species interactions in Appendix S2: Fig. S1).

Seed dispersal networks

During the fruiting season (January–April) we identified all fleshy fruited plant species in each site. Interactions between seed dispersers and plants were recorded using different methodologies according to the seed disperser animal (Donatti et al. 2011). First, to quantify seed dispersal by birds, we conducted observations one hour per plant individual and recorded the number of fruits consumed by birds. We discarded interactions involving seed predation and pulp pecking by birds because they damage the seeds and eat the fruit pulp without swallowing the seed, respectively (Simmons et al. 2018). Observation periods were performed from

06:30 h to 10:30 h. We standardized the sampling effort by plant species in our data collection design. We conducted the same number of observations for each plant species across all sites. In addition, the number of observations conducted per plant species was proportional to their relative abundance at each site. We carried out at least five observation periods per plant species per site, including at least five different individuals of each species. The number of observation periods of each species was constant among sites when the same species were present. Overall, 125 observation periods were conducted for all sites and plant species in 2017–2018, and 155 observation periods in 2018–2019 (Appendix S2: Table S2; smoothed accumulation curves of species interactions in Appendix S2: Fig. S1).

Second, to evaluate seed dispersal by the endemic marsupial, we collected and analyzed their feces in each site. The feces were collected with a mesh on the floor of Tomahawk traps (10 × 10 × 30 cm). These wire-mesh traps are designed to efficiently capture these small arboreal mammals (Fontúrbel 2010). We placed 17 Tomahawk traps at a height of 1–2 m above the ground on shrubs or trees. Traps were arranged in a star grid and separated from each other by 15 m to cover an effective area of one hectare. We controlled the traps daily at dawn during four consecutive days in February and March (Amico and Aizen 2005), when higher captures of *D. gliroides* were detected corresponding to the juvenile recruitment period (Celis-Diez et al. 2012). All sites were sampled simultaneously. To determine the number of fruits dispersed by *D. gliroides*, we divided the number of seeds of each plant species found in the sample (feces) by the mean number of seeds per fruit of the same species. The mean number of seeds per fruit of each species was estimated by measuring 12 fruits, collected randomly at the study site. The correction was made to homogenize the units of bird and *D. gliroides* observations to number of fruits removed. Sampling effort was homogeneous among sites because we assumed the presence of *D. gliroides* in all of them despite the low probability of presence in sites invaded by non-native ungulates (Appendix S2: Table S2; smoothed accumulation curves of species interactions in Appendix S2: Fig. S2).

Finally, we used infrared camera traps (Bushnell trophy cam) to improve sampling completeness of species and interactions and accumulate more observation hours per plant species in each site. Cameras were placed focusing branches bearing fruits of each plant species over 240 h (Appendix S2: Tables S2, S3). Cameras were set up to record 30 s every two minutes during day and night, triggered by movement. From the videos, we documented the same variables recorded in direct observation periods, considering a dispersal event only when we visually recorded the consumption of fruit by the seed disperser and recognized its identity. In total, 12 cameras (two per site) were operating simultaneously in each fruiting season.

Data analysis

For each site we built one pollinator and one seed dispersal network per season, resulting in 12 plant-pollinator and 11 plant-seed disperser networks (i.e. each site-year combination has a corresponding network). The plant-seed disperser network in 2017–2018 in one of the sites without the tripartite mutualism was excluded from the analysis because several plant species produced no fruits.

We used generalized mixed-effects linear models to check if the number of species and the total and unique interactions differed in pollination and seed dispersal networks between intact forest sites with and without the tripartite mutualism (from this point forwards tripartite sites) and between intact forest sites with the tripartite mutualism and invaded sites (from this point forwards invasion sites). We performed 12 models, six for pollination and six for seed dispersal networks. Each model included a combination of a response variable (number of species, number of total interactions or number of unique interactions) and a fixed factor (tripartite sites or invasion sites). We included “Site” as a random factor in the models to account for repeated measures in the same site. We used the Poisson distribution with a log link function because the response variables were count data, but we used the negative binomial distribution when we found overdispersion in the data (Zuur et al. 2009). We conducted all model analyses using the “lme4” package in R (Bates et al. 2015, R Core Team 2019).

Our network analysis focused on network *motifs*: sub-networks composed of a small number of species exhibiting particular patterns of interactions and obtained by breaking up the entire network (Milo et al. 2002, Simmons et al. 2019a). Motifs are valuable tools to assess the structure and ecological importance of species in networks because they have two structural levels of organization. In one structural level, a motif represents a unique pattern of interactions among a subset of species within a network (Milo et al. 2002, Simmons et al. 2019a, Simmons et al. 2019b), consequently, networks with a greater number of different motifs would have a greater diversity of interactions (Jácome-Flores et al. 2020). At the other level, a motif is composed of two or more positions that can be occupied by different species simultaneously (Appendix S3: Fig. S1). Each of these positions represents a different ecological pattern with direct and indirect interactions (Baker et al. 2015, Simmons et al. 2019a). Therefore, the frequency of positions that a particular species occupies defines its ecological role in the community (Simmons, Cirtwill et al. 2019a). Even if different species occupy the same position, the motif still conserves its ecological function. For example, in the motif integrated by two plants and a pollinator species, plant species could be “A and B” or “C and D” but the motif would still indicate competition or facilitation between the two plants. The advantage of motifs is

that they are significantly more sensitive to changes in network structure than the network indices commonly used (i.e. degree distribution, nestedness) (Simmons et al. 2019a). In addition, the meso-scale level motif analysis implies the potential existence of indirect interactions undetected by macro-scale network indices (i.e. nestedness, connectance) and lost at species-level indices such as species strength (Simmons et al. 2019a). The detection of indirect interactions in network analysis is essential given their great influence on co-extinction, co-evolution, and co-existence processes in communities (Aschehoug and Callaway 2015, Guimarães et al. 2017, Pires et al. 2020).

*Is the tripartite mutualism fundamental to maintaining the structure and diversity of mutualistic networks?—*To test this, we compared the network complexity and the ecological importance of the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism between intact forest sites with and without this interaction.

1. Network complexity.—Network structure is influenced by the number of motifs and their frequency (Simmons et al. 2019b). Networks composed of a greater number of different motifs would result in more complex structures because they harbor more different direct and indirect ecological interactions (Milo et al. 2002, Simmons et al. 2019a, Jácome-Flores et al. 2020). Similarly, network complexity increases with the frequency of the largest motifs (those composed of six species) because they involve more interactions than smaller motifs (Appendix S3: Fig. S2). To estimate network complexity, we described the network structure using the frequencies of motifs containing between two and six species, resulting in 44 possible motif combinations. We calculated motif frequencies for each pollination and seed dispersal network using the “bmotif” package in R (R Core Team 2019, Simmons et al. 2019b). We normalized motif counts to control for network size. We calculated motif frequency using the method “normalize_sum,” which expresses counts as the proportion of motifs in the network and considers whether species are more involved in smaller or larger motifs (Simmons et al. 2019b).

To assess dissimilarity in motif frequencies between tripartite sites, we used a non-parametric permutational multivariate ANOVA (PERMANOVA). This method allows the comparison of dissimilarity among and within groups using a pseudo F-statistic (Anderson 2001). We used Bray–Curtis dissimilarity to quantify differences among network structures because it is a robust measure of dissimilarity for multiple ecological properties, including motifs (Anderson 2001, Baker et al. 2015, Simmons et al. 2019a). We conducted a PERMANOVA test considering tripartite sites as fixed factor, stratified by site to account for repeated measures. We performed PERMANOVA with the *adonis2* function of the “vegan” package (Oksanen et al. 2012) of R software (R Core Team 2019), and using 9,999 permutations to generate

the null distribution. Finally, we validated the results of PERMANOVA test by estimating dispersion in the data using the betadisp function of the “vegan” package and testing with one-way ANOVA whether dispersion varied between tripartite sites using “lme4” in R (Bates et al. 2015). We found no significant differences between dispersion values, which indicated that PERMANOVA results were not caused by heterogeneous dispersion of the data.

2. Ecological importance of the hummingbird–mistletoe–marsupial interaction members.—As a consequence of the close relationship among hummingbird–mistletoe–marsupial, the reduced abundance or alteration of behavior of any of them could disrupt this tripartite mutualism. Therefore, we expected that the ecological importance (i.e., a combination of interactions number and motif positions occupied) of these species changes between intact forest sites.

First, for each member of the tripartite mutualism, we checked if the number of interactions and the number of species interacting with them differed between tripartite sites. For the hummingbird and marsupial, we built two regression models using the above variables as responses and tripartite sites as fixed factor. For the mistletoe, we built three regression models because it is involved in pollination and seed dispersal interactions. We included “Site” as a random factor and used Poisson or negative binomial as response variable distribution in the models.

Second, we calculated the number of positions occupied by the hummingbird, mistletoe and marsupial using the “bmotif” package. As motif positions represent different direct and indirect effects and have different ecological meanings (Baker et al. 2015, Simmons et al. 2019a), the greater the variety of positions a species occupies, the greater its participation in different paths regulating the structure and functionality of the network (Sun et al. 2020). The number of positions occupied by the hummingbird and marsupial was calculated from pollination and seed dispersal networks respectively, while the number of positions occupied by the mistletoe was calculated from both networks. We normalized the data using the method “sum” to control the tendency that nodes (e.g. species) with more interactions will occupy more positions than nodes with fewer interactions. This method expresses position counts as the proportion of total occurrences a node occurs at any position. Additionally, to check the difference between tripartite sites we built regression models for each species with number of positions as response variable and tripartite sites as fixed factor. We used Poisson or negative binomial as response variable distribution and included “Site” as a random factor in the models.

Does the disruption of this mutualism by non-native ungulates alter mutualistic network structure?—To test if non-native ungulates produce cascading effects on the community by disrupting the tripartite mutualism, we

compared network complexity and the ecological importance of tripartite mutualism members between invasion sites. Network complexity and the ecological importance of tripartite mutualism members were estimated using the same methodology explained in subsections 1 and 2 in methods.

RESULTS

Overall, the number of species in pollination and seed dispersal networks was 2× and 1.3× higher in intact forest sites with the tripartite mutualism than in intact forest sites without the tripartite mutualism (Table 1; $z = 5.88$, $P < 0.001$; $z = 1.07$, $P = 0.285$, respectively) and at least 1.6× and 1.5× higher than in sites invaded by non-native ungulates (Table 1; $z = -5.11$, $P < 0.001$; $z = -1.736$, $P = 0.082$, respectively). In addition, we recorded 3.8× and 1.7× more pollination and seed dispersal interactions in intact forest sites with the tripartite mutualism than in intact forest sites without the tripartite mutualism ($z = 5.16$, $P < 0.001$; $z = 5.72$, $P < 0.001$, respectively) and almost 2× more interactions than in invaded sites (Table 1; $z = -2.94$, $P < 0.05$; $z = -2.45$, $P < 0.05$, respectively). Of the 5,101 total pollination interactions, most of them (56%) were recorded in intact forest sites with the tripartite mutualism, while only 15% were recorded in intact forest sites without the tripartite mutualism, and 29% in invaded sites. Similarly, most of the total 2,482 seed dispersal interactions were recorded in sites with the tripartite mutualism (51%), compared with 22% in sites without the tripartite mutualism, and 27% in invaded sites. In addition, we recorded 3.1× and 1.5× more unique pollination and seed dispersal interactions in sites with the tripartite mutualism than in sites without it ($z = 6.47$, $P < 0.001$; $z = 1.45$, $P = 0.147$, respectively) and at least 2.1× and 1.9× more unique interactions than in invaded sites (Table 1; $z = -4.81$, $P < 0.001$; $z = -2.39$, $P = 0.016$, respectively; Fig. 1).

Is the tripartite mutualism fundamental to maintaining the structure and diversity of mutualistic networks?

Network complexity.—We found different complexity for both pollination (pseudo- $F_{1,7} = 7.021$, $P = 0.029$) and seed dispersal (pseudo- $F_{1,6} = 4.794$, $P = 0.028$) networks between tripartite sites. We found that in sites with the tripartite mutualism both pollination and seed dispersal networks were composed of 35% and 47% more different motifs, respectively, and had greater direct and indirect ecological interactions than networks in sites without this interaction (Fig. 2a, c). In addition, both pollination and seed dispersal networks had 29% and 12% greater frequency of largest motifs including six species in sites with the tripartite mutualism than in sites without it (Fig. 2b, d), which suggested a greater proportion of complex interaction motifs supporting these networks.

TABLE 1. Pollination and seed dispersal network parameters for each site.

Site	Network	Variable	Values (mean \pm standard error)
Intact forest with the tripartite mutualism	Pollination	No. of species	67 \pm 4.5 (21 \pm 2.4 plants, 46 \pm 3.1 pol.)
		No. of interactions	708.5 \pm 119.8
		No. of unique interactions	107.3 \pm 11.3
	Seed dispersal	No. of species	9.75 \pm 0.60 (7 \pm 0.4 plants, 2.8 \pm 0.2 seed disp.)
		No. of interactions	315 \pm 19.9
		No. of unique interactions	10 \pm 0.8
Intact forest without the tripartite mutualism	Pollination	No. of species	34.25 \pm 8.6 (9.8 \pm 1 plants, 24.5 \pm 2.9 pol.)
		No. of interactions	187.5 \pm 39.3
		No. of unique interactions	34.3 \pm 6.2
	Seed dispersal	No. of species	7.3 \pm 0.3 (3.7 \pm 0.3 plants, 3.7 \pm 0.3 seed disp.)
		No. of interactions	182.7 \pm 34.1
		No. of unique interactions	7 \pm 0.3
Invaded sites	Pollination	No. of species	40.25 \pm 2.3 (11.5 \pm 0.6 plants, 28.8 \pm 2.3 pol.)
		No. of interactions	379.3 \pm 62
		No. of unique interactions	50.5 \pm 5.6
	Seed dispersal	No. of species	6.25 \pm 1.3 (4 \pm 0.3 plants, 2.25 \pm 0.6 seed disp.)
		No. of interactions	169 \pm 33
		No. of unique interactions	5.25 \pm 1.3

Ecological importance of the tripartite mutualism members.—We found differences in the number of interactions of the mistletoe, number of species interacting with it, and its number of positions occupied between tripartite sites in pollination networks ($z = 6.923$, $P < 0.001$; $z = 2.17$, $P < 0.05$; $z = 3.452$, $P < 0.001$, respectively). In seed dispersal networks, the number of interactions of the mistletoe ($z = 3.21$, $P < 0.001$) but not its number of positions occupied ($z = 1.154$, $P = 0.248$) differed between tripartite sites. In sites with the tripartite mutualism, the mistletoe had a 9.6 \times and 17.5 \times greater number of pollination and seed dispersal interactions (Fig. 3a), interacted with 3 \times more number of species (3.75 ± 0.63 , $8 \pm 1.3\%$ of all species) and occupied 10 \times and 1.76 \times more number of pollination and seed dispersal positions (Fig. 3b) than in sites without this tripartite mutualism (1.25 ± 0.5 species, $5 \pm 1.8\%$ of all species). The hummingbird recorded 11.9 \times greater number of interactions (Fig. 3a) and occupied 29 \times more number of positions (Fig. 3b) in sites with the tripartite mutualism than in sites without it ($z = 6.810$, $P < 0.001$; $z = 4.270$, $P < 0.001$). We found no differences in the number of species interacting with the hummingbird between tripartite sites (1.75 ± 0.50 species, $10 \pm 3.3\%$ of all species in sites with the tripartite mutualism; 1.25 ± 0.50 species, $7 \pm 2.4\%$ of all species in sites without the tripartite mutualism; $z = 1.228$, $P = 0.220$). In addition, the marsupial was involved in 15 \times more interactions in sites with the tripartite mutualism (Fig. 3a; $z = 2.958$, $P < 0.05$), but did not differ in the number of species that it interacted (3.5 ± 0.60 , $52 \pm 11.9\%$ of all species in sites with the tripartite mutualism; 1.5 ± 0.6 species, $39.5 \pm 15.7\%$ of all species in sites without the tripartite mutualism; $z = 1.736$, $P = 0.082$) and its number of positions occupied between tripartite sites

(Fig. 3b; $z = 1.480$, $P = 0.139$). These results suggested a greater ecological importance of the mistletoe and hummingbird in the presence of the tripartite mutualism because they exerted more direct and indirect ecological interactions.

Does the disruption of this mutualism by non-native ungulates alter mutualistic network structure?

Network complexity.—We found differences in network complexity in pollination networks (pseudo- $F_{1,7} = 5.032$, $P = 0.027$) but only marginally in seed dispersal networks (pseudo- $F_{1,7} = 3.849$, $P = 0.094$) between invasion sites. The complexity of both pollination and seed dispersal networks was lower in invaded sites than in sites with the tripartite mutualism, exhibiting 23% and 59% fewer motifs, respectively and, therefore, fewer direct and indirect ecological interactions supporting the community (Fig. 4a, c). In addition, both pollination and seed dispersal networks exhibit 12% and 11% fewer frequency of largest motifs including six species in invaded sites than in sites with the tripartite mutualism (Fig 4b, d).

Ecological importance of the tripartite mutualism members.—We found that the number of interactions of the mistletoe and its number of positions occupied differed between invasion sites in pollination networks ($z = -5.55$, $P < 0.001$; $z = -2.998$, $P = 0.002$) but not in the number of species with which it interacted (1.5 ± 0.3 species, $5.25 \pm 1.3\%$ of all species in invaded sites; $z = 1.897$, $P = 0.057$). In sites with the tripartite mutualism, the mistletoe had 3.4 \times more pollination interactions (Fig. 3c) and occupied at least 3.5 \times more positions (Fig. 3d) than in invaded sites, suggesting a

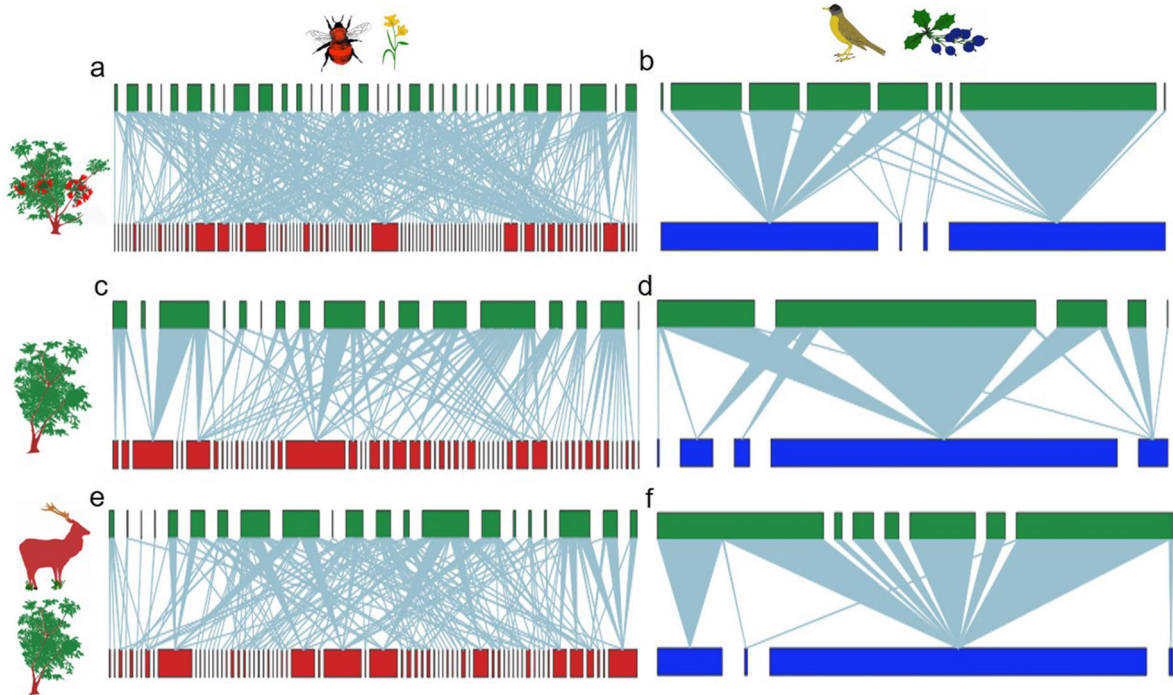


FIG. 1. Sites with the tripartite mutualism recorded more individual interactions in pollination and seed dispersal networks. Sites from top to bottom: intact forest sites with the tripartite mutualism (a and b), intact forest sites without the tripartite mutualism (c and d), and sites invaded by non-native ungulates (e and f). Left and right panels correspond to pollination and seed dispersal networks, respectively. In each panel, boxes represent species of plants (green), pollinators (red), and seed dispersers (blue). Lines represent ecological interactions between species. Box width is proportional to number of interactions.

greater ecological importance of this species in pollination networks. In addition, the hummingbird had $1.4\times$ more number of interactions in sites with the tripartite mutualism than in invaded sites (Fig. 3c; $z = -1.66$, $P = 0.095$). The number of species interacting with the hummingbird (2 ± 1 species, $17.5 \pm 1\%$ of all species in invaded sites) and its number of positions occupied did not change between invasion sites (Fig. 3d; $z = 0.258$, $P = 0.796$; $z = -0.891$, $P = 0.373$). Furthermore, we caught no individuals of *D. gliroides* in any field season in the invaded sites, which indicates that the marsupial may be ecologically extinct in these sites (Rodríguez-Cabal and Branch 2011). Consequently, we were unable to assess statistically the ecological importance of the marsupial and mistletoe in seed dispersal networks between invasion sites.

DISCUSSION

Ecosystems worldwide are gaining and losing species, therefore understanding how both processes simultaneously affect ecosystem functioning is crucial to determining the response of these systems to current and future human activities. Our results suggest that the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism has the potential to enhance the structural diversity, species diversity and interactions diversity of pollination and seed dispersal

networks in the temperate forests of Patagonia due to the key ecological role played by its members. Moreover, we found that gains of non-native ungulates and the loss of a tripartite mutualism might result in diverse direct and indirect effects that lead to the node-by-node disassembly of pollination and seed dispersal networks in the temperate forest of Patagonia. We suggest that the loss of keystone mutualisms due to species invasions can trigger cascades that result in species coextinctions and the disassembly of mutualistic networks. Finally, our findings emphasize how long-term plans to conserve biodiversity must focus not only in maintaining the elements that form biodiversity but also on the interactions among these elements, such as interspecific interactions, trophic webs, and ecological networks (Memmott et al. 2007).

Is the tripartite mutualism fundamental to maintaining the structure and diversity of mutualistic networks?

Both pollination and seed dispersal networks were more complex in intact forest sites with the tripartite mutualism than in forest sites without the mutualism. The diversity of motifs and the frequency of largest motifs suggest that networks are more complex in the presence of the hummingbird–mistletoe–marsupial interaction, with a wider range and a greater number of direct and

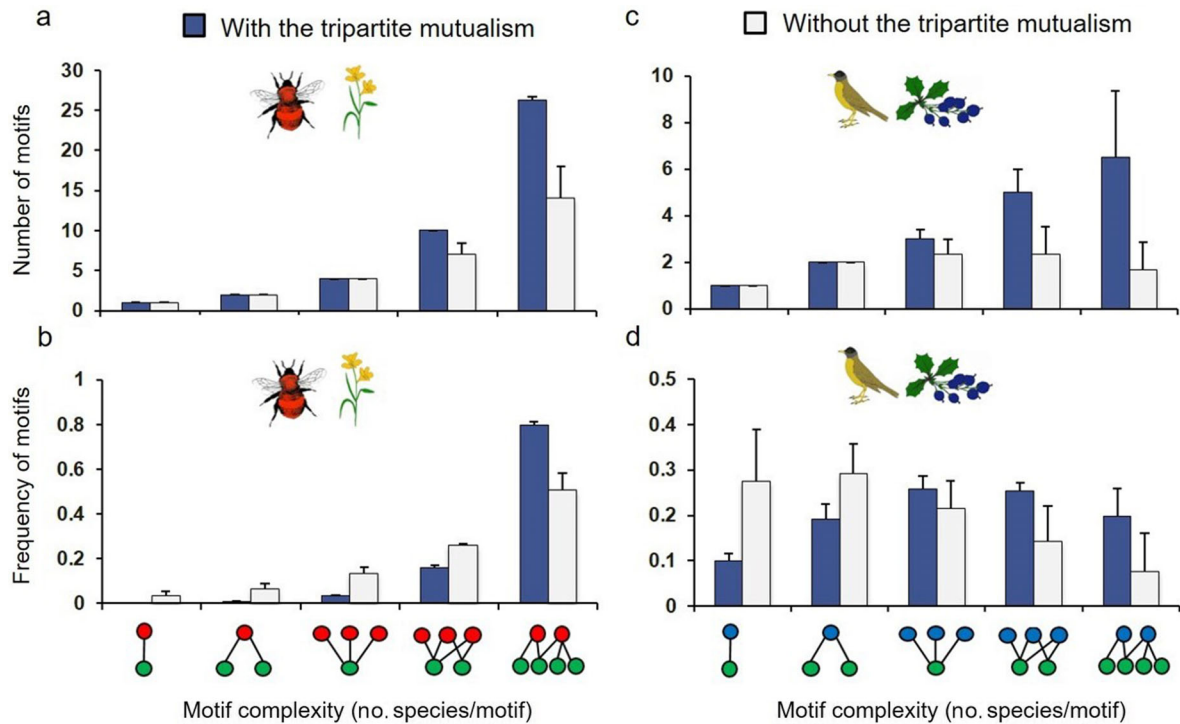


FIG. 2. The complexity of pollination and seed dispersal networks was greater in intact forest sites with the tripartite mutualism. Number and relative frequency of motifs related to their complexity (number of nodes/species per motif) for both pollination (a and b) and seed dispersal (c and d) networks. From left to right: motifs integrated by two, three, four, five, and six species. Bar color represents sites: intact forest sites with (violet) and without (white) the tripartite mutualism. Bars represent mean \pm standard error.

indirect interactions (Milo et al. 2002, Simmons et al. 2019b). This tripartite mutualism not only increased the species richness of the community but also the high diversity of interactions types found may enhance the propagation of cascading effects on the network, making species more vulnerable to perturbations (Vieira and Almeida-Neto 2015, Pires et al. 2020). In addition to affecting species persistence and community stability, the diversity of interactions may influence evolutionary processes. Ecological direct and mainly indirect interactions play an essential role on driving the selection of traits in multiple partner mutualism such as pollination and seed dispersal interactions (Guimarães and Jordano 2011, Guimarães et al. 2017). In intact forest sites with the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism, the high number of indirect pathways is likely to result in slower rates of trait evolution than in sites without this mutualism (Guimarães et al. 2011, 2017). Therefore, species in intact forest sites with the tripartite mutualism might have a lower adaptive capacity in terms of their interaction-relevant traits and, therefore, might be more vulnerable to rapid environmental change than those in sites without the tripartite mutualism. Conversely, the low vulnerability of sites without the tripartite mutualism might reflect the local extinction of the most susceptible species, with the remaining species representing the core of the network (Aizen and Sabatino 2012).

When the tripartite mutualism is present, the mistletoe and hummingbird are key members of the community by occupying a high number of positions and exerting great direct and indirect interactions. The increase in their ecological importance may be induced by the spatial distribution of the mistletoe and the co-evolutionary history between them. Since the mistletoe population has a clumped distribution (García et al. 2009, Sasal et al. 2021), the high mistletoe abundance in certain patches may increase its probability of interacting directly and indirectly with other species (Vázquez and Chacoff 2009). Moreover, the mistletoe–hummingbird interaction is more exclusive and specialized in winter because mistletoe flowers are the only nectar resource available for the hummingbird, promoting its permanence in patches with high mistletoe abundance (Smith-Ramírez 1993, Rodríguez-Cabal et al. 2013). By contrast, the seed dispersal role of the marsupial was similar in sites with and without tripartite mutualism despite the differences in its number of interactions. Its ample diet of insects, bird eggs, and fleshy fruits (Fontúrbel et al. 2012) may allow the marsupial to sustain a stable population without consuming large amounts of mistletoe fruits in sites with low mistletoe density. However, when minimum habitat requirements are met, marsupial abundance tracked the abundance of mistletoe plants, increasing the number of interactions between both

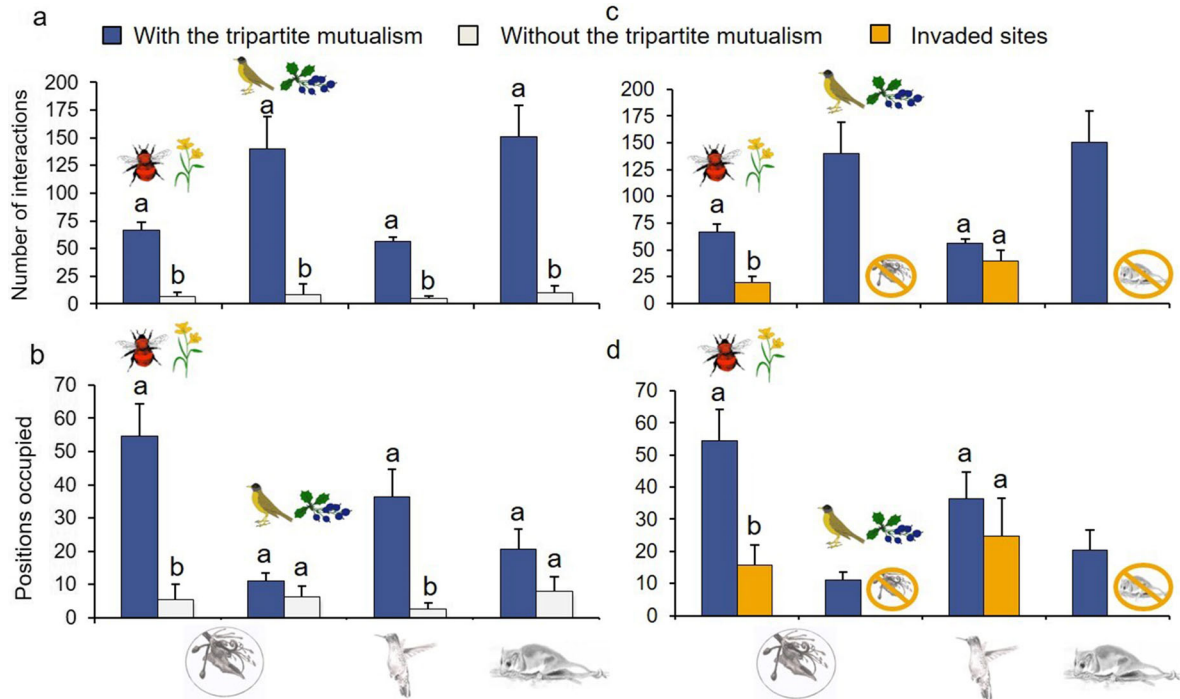


FIG. 3. Ecological importance—number of interactions and number of motif positions occupied in the network—of the mistletoe, hummingbird and marsupial were greater in intact forest sites with the tripartite mutualism than in sites without it (a and b) and sites invaded by non-native ungulates (c and d). Bar color represents sites: intact forest sites with (violet) and without (white) the tripartite mutualism and invaded sites by non-native ungulates (orange). From left to right: mistletoe (pollination and seed dispersal), hummingbird, and marsupial. Letters mean significant difference between sites. Bars represent mean \pm standard error.

species (Rodríguez-Cabal and Branch 2011). Indeed, the presence of the marsupial and mistletoe in these sites may be a potential source of the mistletoe contagious distribution (García et al. 2009, Amico and Rodríguez-Cabal 2011).

Does the disruption of this mutualism by non-native ungulates alter mutualistic network structure?

We found that non-native ungulates produce cascading effects on pollination networks and marginal impacts on seed dispersal networks by disrupting the tripartite mutualism. Our results indicate that by preferentially browsing on *A. chilensis*, non-native ungulates indirectly affected the persistence of the mistletoe, causing the local extinction of marsupials, which created a negative feedback loop preventing mistletoe recruitment (Appendix S1: Table S2), thereby reducing its ecological importance in pollination and seed dispersal networks. Although we found no significant reduction on the ecological importance of the hummingbird in invaded sites, the absence of regeneration of the mistletoe population could undoubtedly affect the permanence of this migratory bird in the future. Pollination networks were simpler in invaded sites than in sites with the tripartite mutualism, presumably because these sites support fewer direct and indirect interactions. For instance, the total erosion

of the motif numbers “17” and “44” from the networks, which involve pollinator species visiting four and five plant species respectively, indicates a potential reduction of generalist pollinators and a potential reduction of competition among specialist plants in invaded sites. Moreover, the low interactions diversity found in invaded sites concentrates the energy flow in few pathways, which may increase the persistence and stability of pollination networks to strong perturbations by reducing the propagation of cascading effects (Vieira and Almeida-Neto 2015, Pires et al. 2020). The high stability of pollination networks to perturbations in invaded sites might arise because species richness could have previously been reduced due to the activity of non-native ungulates and only an impoverished subset of core generalist species remains in invaded sites. Similarly, the simplification of ecological networks has been demonstrated for others human disturbances (Tylianakis and Tscharntke 2007, Galiana et al. 2014). Conversely, we found no cascading effects on seed dispersal networks despite the high vulnerability of this forest to the loss of mutualistic interactions. The impact of non-native ungulates on seed dispersal networks may be attenuated by the strong presence of the most generalist bird seed disperser of this forest, *Elaenia albiceps* (Amico and Aizen 2005). This migratory bird is abundant in summer, overlapping with fruit ripening and playing a critical role in

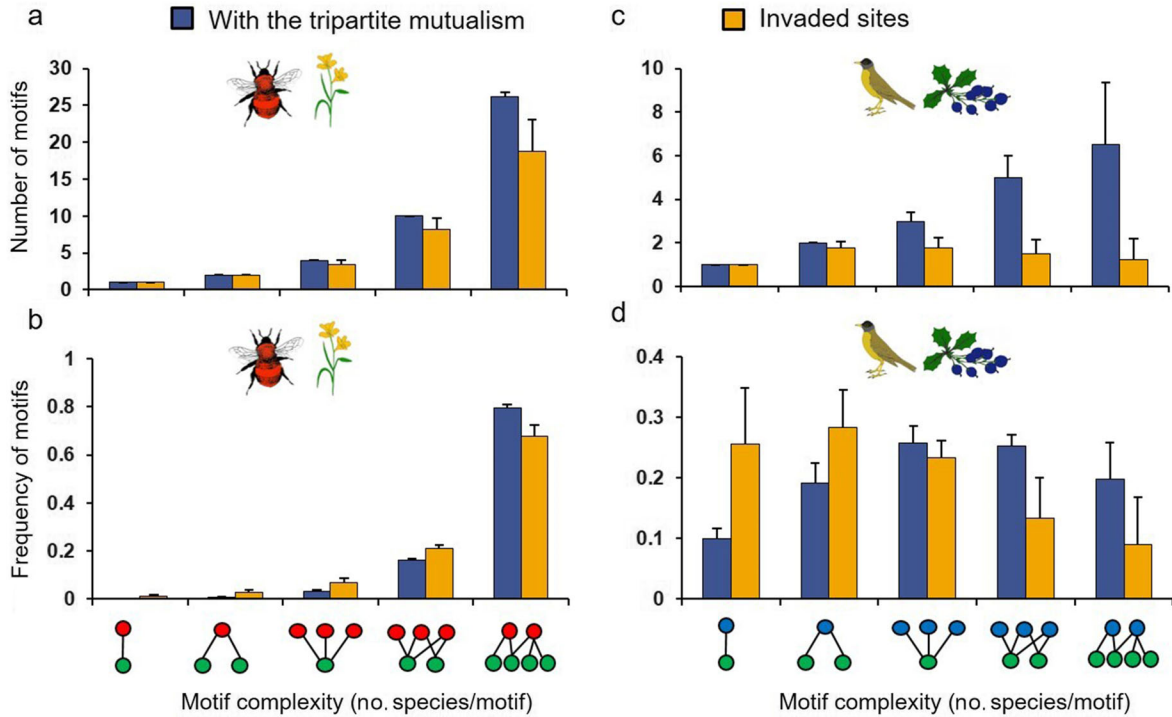


FIG. 4. Complexity of pollination and seed dispersal networks was greater in intact forest sites with the tripartite mutualism than in sites invaded by non-native ungulates. Number and relative frequency of motifs related to their complexity (number of nodes/species per motif) for both pollination (a and b) and seed dispersal (c and d) networks. From left to right: motifs integrated by two, three, four, five, and six species. Bar color represents sites: intact forest sites with the tripartite mutualism (violet) and sites invaded by non-native ungulates (orange). Bars represent mean \pm standard error.

forest regeneration (Bravo and Cueto 2015). However, the marsupial consumes fruits that cannot be detected or ingested by birds due to their color or the size of their seeds and even increases the germination rate of plants that are consumed by both taxa (Amico et al. 2009, 2011).

Considering the intermediate values of complexity found in invaded sites compared with intact forest sites with and without the tripartite mutualism, we can conclude that non-native ungulates are homogenizing the forest toward the simplest state. However, the natural state of the forest is historically related to the clumped distribution of the mistletoe, therefore, high and low complexity forest states would be the natural pattern without a disturbance scenario. Our results show that non-native ungulates erode the pollination and seed dispersal networks by disrupting the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism, however their impact on simpler forest patches without this tripartite mutualism remains unknown.

To the best of our knowledge this is the first study to evaluate the impacts of invasive species on mutualistic interactions by combining two ecological processes using network approach and detecting potential indirect effects. However, the accuracy and reliability of the statistical analysis could be improved with a larger set of networks. Similarly, other studies considering different

ecological interactions account for a low set of networks (Correia et al. 2018, Lima et al. 2020). Unfortunately, collecting the data necessary to represent the community at a network scale for two ecological processes is a high-effort task.

Here, we demonstrate the key role of a hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism in a Patagonian temperate forest. Recognizing keystone mutualisms is essential to achieve the conservation of communities due to their role in maintaining the structure and functionality of them, especially given current rates of global biodiversity loss and spread of invasive species (Díaz, 2019). Future studies are needed to understand how the effects of keystone mutualisms on the complexity of mutualistic networks affect other community properties. For instance, this tripartite mutualism may promote the community resistance against the impact of non-native pollinators by increasing the potential partners with whom native pollinators reassign interactions (Kaiser-Bunbury et al. 2010). Moreover, incorporating indirect effects in ecological studies is necessary to increase the realism of global changes impacts on communities, widely underestimated when direct effects are only considered.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank staff of Nahuel Huapi National Park, D. Mujica and C. Chehebar, staff of Parque Municipal Llao-Llao and

Dirección de Áreas Protegidas, M.S. Millerón for logistic support and permission to carry out fieldwork. We also thank A.P. Duarte, A. Fernández, A. Santone, B.R. Delgado, B. Lovazzano, E. Valfosca, I. Villa, J.G. Calzada, J. Gastaud, K. Buteler, L.M. Valfosca, M.E. Valfosca and P. San Pedro for valuable assistance in the field. Special thanks go to Ezequiel Rodríguez-Cabal who made the drawings. This research was supported with grants from “Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica” of Argentina (PICT 2014-2484) to MARC and from “The Rufford Foundation” to AV (ID 26510-1). AV, YS and MARC conceived the idea. AV collected and analyzed the data. AV, YS, DPV, MFM and MARC led the writing of the manuscript. All authors contributed substantially to the development of this manuscript and gave final approval for publication.

LITERATURE CITED

- Aizen, M. A. 2003. Influences of animal pollination and seed dispersal on winter flowering in a temperate mistletoe. *Ecology* 84:2613–2627.
- Aizen, M. A., and C. Ezcurra. 1998. High incidence of plant-animal mutualisms in the woody flora of the temperate forest of southern South America: Biogeographical origin and present ecological significance. *Ecologia Austral* 8:217–236.
- Aizen, M. A., M. Sabatino, and J. M. Tylianakis. 2012. Specialization and rarity predict nonrandom loss of interactions from mutualist networks. *Science* 335:1486–1489.
- Aizen, M. A., D. P. Vázquez, and C. Smith-Ramírez. 2002. Historia natural y conservación de los mutualismos planta-animal del bosque templado de Sudamérica austral. *Revista Chilena De Historia Natural* 75:79–97.
- Albrecht, J., D. G. Berens, B. Jaroszewicz, N. Selva, R. Brandl, and N. Farwig. 2014. Correlated loss of ecosystem services in coupled mutualistic networks. *Nature Communications* 5:1–8.
- Amico, G. C., and M. A. Aizen. 2000. Mistletoe seed dispersal by a marsupial. *Nature* 408:929–930.
- Amico, G. C., and M. A. Aizen. 2005. Dispersión de semillas por aves en un bosque templado de Sudamérica austral: ¿quién dispersa a quién? *Ecología Austral* 15:89–100.
- Amico, G. C., M. A. Rodríguez-Cabal, and M. A. Aizen. 2009. The potential key seed-dispersing role of the arboreal marsupial *Dromiciops gliroides*. *Acta Oecologica* 35:8–13.
- Amico, G. C., M. A. Rodríguez-Cabal, and M. A. Aizen. 2011. Geographic variation in fruit colour is associated with contrasting seed disperser assemblages in a South-Andean mistletoe. *Ecography* 34:318–326.
- Anderson, M. J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26:32–46.
- Armesto, J. J., R. Rozzi, P. Miranda, and C. Sabag. 1987. Plant/ frugivore interactions in South American temperate forests. *Revista Chilena De Historia Natural* 60:321–336.
- Aschehoug, E. T., and R. M. Callaway. 2015. Diversity increases indirect interactions, attenuates the intensity of competition, and promotes coexistence. *The American Naturalist* 186:452–459.
- Ashman, T. L., et al. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85:2408–2421.
- Baker, N. J., R. Kaartinen, T. Roslin, and D. B. Stouffer. 2015. Species’ roles in food webs show fidelity across a highly variable oak forest. *Ecography* 38:130–139.
- Bascompte, J., and P. Jordano. 2007. Plant-animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38:567–593.
- Bates, D., M. Mächler, B. M. Bolker, and S. C. Walker. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67:1–48.
- Bond, W. J. 1994. Do mutualisms matter? Assessing the impact of pollinator and disperser disruption on plant extinction. *Philosophical Transactions – Royal Society of London*, B 344:83–90.
- Bravo, S. P., V. R. Cueto, and G. C. Amico. 2015. Do animal-plant interactions influence the spatial distribution of *Aristotelia chilensis* shrubs in temperate forests of southern South America? *Plant Ecology* 216:383–394.
- Celis-Diez, J. L., J. Hetz, P. A. Marín-Vial, G. Fuster, P. Necochea, R. A. Vázquez, F. M. Jaksic, and J. J. Armesto. 2012. Population abundance, natural history, and habitat use by the arboreal marsupial *Dromiciops gliroides* in rural Chiloé Island, Chile. *Journal of Mammalogy* 93:134–148.
- Correia, M., R. Heleno, P. Vargas, and S. Rodríguez-Echeverría. 2018. Should I stay or should I go? Mycorrhizal plants are more likely to invest in long-distance seed dispersal than non-mycorrhizal plants. *Ecology Letters* 21:683–691.
- Delmas, E., et al. 2019. Analyzing ecological networks of species interactions. *Biological Reviews* 94:16–36.
- Díaz, S., et al. 2019. Pervasive human-driven decline of life on Earth points to the need for transformative change. *Science* 366:eaax3100.
- Donatti, C. I., P. R. Guimarães, M. Galetti, M. A. Pizo, F. M. D. Marquitti, and R. Dirzo. 2011. Analysis of a hyper-diverse seed dispersal network: Modularity and underlying mechanisms. *Ecology Letters* 14:773–781.
- Ellison, A. M., et al. 2005. Loss of foundation species: Consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 3:479–486.
- Fontúrbel, F. E. 2010. A methodological approach to assess the small mammal community diversity in the temperate rainforest of Patagonia. *Mammalian Biology* 75:294–301.
- Fontúrbel, F. E., M. Franco, M. A. Rodríguez-Cabal, M. D. Rivarola, and G. C. Amico. 2012. Ecological consistency across space: A synthesis of the ecological aspects of *Dromiciops gliroides* in Argentina and Chile. *Naturwissenschaften* 99:873–881.
- Fortuna, M. A., A. Krishna, and J. Bascompte. 2013. Habitat loss and the disassembly of mutualistic networks. *Oikos* 122:938–942.
- Galiana, N., M. Lurgi, J. M. Montoya, and B. C. López. 2014. Invasions cause biodiversity loss and community simplification in vertebrate food webs. *Oikos* 123:721–728.
- García, D., M. A. Rodríguez-Cabal, and G. C. Amico. 2009. Seed dispersal by a frugivorous marsupial shapes the spatial scale of a mistletoe population. *Journal of Ecology* 97:217–229.
- Guimarães, P. R., P. Jordano, and J. N. Thompson. 2011. Evolution and coevolution in mutualistic networks. *Ecology Letters* 14:877–885.
- Guimarães, P. R., M. M. Pires, P. Jordano, J. Bascompte, and J. N. Thompson. 2017. Indirect effects drive coevolution in mutualistic networks. *Nature* 550:511–514.
- Jácome-Flores, M. E., P. Jordano, M. Delibes, and J. M. Fedriani. 2020. Interaction motifs variability in a Mediterranean palm under environmental disturbances: the mutualism–antagonism continuum. *Oikos* 129:367–379.
- Jaksic, F. M., J. A. Iriarte, J. E. Jiménez, and D. R. Martínez. 2002. Invaders without frontiers: cross-border invasions of exotic mammals. *Biological Invasions* 4:157–173.
- Kaiser-Bunbury, C. N., S. Muff, J. Memmott, C. B. Müller, and A. Caflisch. 2010. The robustness of pollination networks to the loss of species and interactions: A quantitative approach incorporating pollinator behaviour. *Ecology Letters* 13:442–452.
- Koh, L. P., R. R. Dunn, N. S. Sodhi, R. K. Colwell, H. C. Proctor, and V. S. Smith. 2004. Species coextinctions and the biodiversity crisis. *Science* 305:1632–1634.
- Lima, G. D. O., C. S. Souza, C. C. Castro, E. Lucia, and D. S. Bezerra. 2020. A multilayer network in an herbaceous tropical community reveals multiple roles of floral visitors. *Oikos* 129:1141–1151.

- Martin, G. M. 2010. Geographic distribution and historical occurrence of *Dromiciops gliroides* Thomas (Metatheria: Microbiotheria). *Journal of Mammalogy* 91:1025–1035.
- Memmott, J., R. Gibson, L. G. Carvalheiro, K. Henson, R. H. Heleno, M. L. Mikel, and S. Pearce. 2007. The conservation of ecological interactions. Pages 226–244 in *Insect Conservation Biology: Proceedings of the Royal Entomological Society's 23rd Symposium*.
- Mermoz, M., and C. Martín. 1986. Mapa de vegetación del Parque y la Reserva Nacional Nahuel Huapi. Delegación Regional Patagonia, Bariloche, Argentina.
- Milo, R., S. Shen-Orr, S. Itzkovitz, N. Kashtan, D. Chklovskii, and U. Alon. 2002. Network motifs: simple building blocks of complex networks. *Science* 298:824–827.
- Oksanen, J., et al. 2012. Vegan: community ecology package. Software. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Ollerton, J., R. Winfree, and S. Tarrant. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120:321–326.
- Pires, M. M., J. L. O'Donnell, L. A. Burkle, C. Díaz-Castelazo, D. H. Hembry, J. D. Yeakel, E. A. Newman, L. P. Medeiros, M. A. M. de Aguiar, and P. R. Guimarães. 2020. The indirect paths to cascading effects of extinctions in mutualistic networks. *Ecology* 101:1–8.
- R Core Team. 2019. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>
- Rader, R., I. Bartomeus, J. M. Tylianakis, and E. Laliberté. 2014. The winners and losers of land use intensification: Pollinator community disassembly is non-random and alters functional diversity. *Diversity and Distributions* 20:908–917.
- Riveros, M. 1991. Aspectos sobre la biología reproductiva en dos comunidades del sur de Chile, 40°S. Pages xxxi+301. Tesis de Doctorado en Ciencias. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Rodríguez-Cabal, M. A., M. A. Aizen, and A. J. Novaro. 2007. Habitat fragmentation disrupts a plant-disperser mutualism in the temperate forest of South America. *Biological Conservation* 139:195–202.
- Rodríguez-Cabal, M. A., M. N. Barrios-García, G. C. Amico, M. A. Aizen, and N. J. Sanders. 2013. Node-by-node disassembly of a mutualistic interaction web driven by species introductions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 41:16503–16507.
- Rodríguez-Cabal, M. A., and L. C. Branch. 2011. Influence of habitat factors on the distribution and abundance of a marsupial seed disperser. *Journal of Mammalogy* 92:1245–1252.
- Rodríguez-Cabal, M. A., M. A. Nuñez, and A. S. Martínez. 2008. Quantity versus quality: endemism and protected areas in the temperate forest of South America. *Austral Ecology* 33:730–736.
- Rohr, R. P., S. Saavedra, and J. Bascompte. 2014. On the structural stability of mutualistic systems. *Science* 345:1253–1257.
- Sasal, Y., G. C. Amico, and J. M. Morales. 2021. Host spatial structure and disperser activity determine mistletoe infection patterns. *Oikos* 130:440–452.
- Säterberg, T., S. Sellman, and B. Ebenman. 2013. High frequency of functional extinctions in ecological networks. *Nature* 499:468–470.
- Simmons, B. I., A. R. Cirtwill, N. J. Baker, H. S. Wauchope, L. V. Dicks, D. B. Stouffer, and W. J. Sutherland. 2019a. Motifs in bipartite ecological networks: uncovering indirect interactions. *Oikos* 128:154–170.
- Simmons, B. I., W. J. Sutherland, L. V. Dicks, J. Albrecht, N. Farwig, D. García, P. Jordano, and J. P. González-Varo. 2018. Moving from frugivory to seed dispersal: Incorporating the functional outcomes of interactions in plant–frugivore networks. *Journal of Animal Ecology* 87:995–1007.
- Simmons, B. I., M. J. M. Sweering, M. Schillinger, L. V. Dicks, W. J. Sutherland, and R. Di Clemente. 2019b. bmotif: A package for motif analyses of bipartite networks. *Methods in Ecology and Evolution* 10:695–701.
- Smith-Ramírez, C. 1993. Los picaflores y su recurso floral en el bosque templado de la isla de Chiloé, Chile. *Revista Chilena De Historia Natural* 66:65–73.
- Sun, X., L. Zhao, D. Zhao, Y. Huo, and W. Tan. 2020. Keystone species can be identified based on motif centrality. *Ecological Indicators* 110:105877.
- Terborgh, J., and K. Feeley. 2010. Propagation of trophic cascades via multiple pathways in tropical forests. Pages 125–140 in J. Terborgh, and J. A. Estes, editors. *Trophic cascades: predators, prey, and the changing dynamics of nature*. Island Press, Washington, DC, USA.
- Traveset, A., and D. M. Richardson. 2014. Mutualistic interactions and biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45:89–113.
- Tylianakis, J. M., R. K. Didham, J. Bascompte, and D. A. Wardle. 2008. Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11:1351–1363.
- Tylianakis, J. M., T. Tscharnkte, and O. T. Lewis. 2007. Habitat modification alters the structure of tropical host–parasitoid food webs. *Nature* 445:202–205.
- Valiente-Banuet, A., et al. 2015. Beyond species loss: The extinction of ecological interactions in a changing world. *Functional Ecology* 29:299–307.
- Vázquez, D. P. 2002. Interactions among introduced ungulates, plants, and pollinators: a field study in the temperate forest of the southern Andes. Dissertation. University of Tennessee.
- Vázquez, D. P., N. P. Chacoff, and L. Cagnolo. 2009. Evaluating multiple determinants of the structure of plant–animal mutualistic networks. *Ecology* 90:2039–2046.
- Vázquez, D. P., C. J. Melián, N. M. Williams, N. Blüthgen, B. R. Krasnov, and R. Poulin. 2007. Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks. *Oikos* 116:1120–1127.
- Vieira, M. C., and M. Almeida-Neto. 2015. A simple stochastic model for complex coextinctions in mutualistic networks: robustness decreases with connectance. *Ecology Letters* 18:144–152.
- Vitali, A. 2021. Data_The disruption of a keystone interaction erodes pollination and seed dispersal networks. Figshare, Data Set. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.15032136.v1>
- Zuur, A., E. N. Ieno, N. Walker, A. A. Saveliev, and G. M. Smith. 2009. *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer Science & Business Media, Berlin, Germany.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found in the online version of this article at <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ecy.3547/supinfo>

OPEN RESEARCH

Data (Vitali 2021) are archived in Figshare: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.15032136>.

RESEARCH ARTICLE

A keystone mutualism promotes resistance to invasion

Agustin Vitali¹  | Diego P. Vázquez^{2,3}  | María F. Miguel² | Yamila Sasal¹  |
Mariano A. Rodríguez-Cabal^{1,4}

¹Grupo de Ecología de Invasiones & Laboratorio Ecotono, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) - CONICET-Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Argentina

²Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas, CONICET & Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

³Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

⁴Rubenstein School of Environment and Natural Resources, University of Vermont, Burlington, VT, USA

Correspondence

Agustin Vitali

Email: agustinvitali@comahue-conicet.gob.ar

Funding information

Rufford Foundation, Grant/Award Number: ID 26510-1; Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Grant/Award Number: PICT 2014-2484

Handling Editor: Elisa Thébault**Abstract**

1. It is not uncommon for one or a few species, and their interactions, to have disproportionate effects on other species in ecological communities. Such keystone interactions might affect how communities respond to the invasion of non-native species by preventing or inhibiting the establishment, spread or impact of non-native species.
2. We explore whether a keystone mutualism among a hummingbird–mistletoe–marsupial promotes ecological resistance to an invasive pollinator, the bumblebee *Bombus terrestris*, by comparing data collected at sites prior to bumblebee invasion to data collected 11 years after the invasion in sites with and without the keystone mutualism.
3. We built pollination networks and focused on network motifs, regarded as building blocks of networks, to identify the central pollinators and estimate the change in their interactions after invasion of *B. terrestris*. We also estimated the interaction rewiring across the season in post-invasion networks and tested it as a possible mechanism explaining how the keystone mutualism increased ecological resistance to invasion.
4. We found two times more species in post-invasion sites with the keystone mutualism than in post-invasion sites without the keystone mutualism. Moreover, we found that invasive bumblebee reduced the strength and interaction niche of the five central pollinator species while increasing its own strength and interaction niche, suggesting a replacement of interactions. Also, we found that the keystone mutualism promoted resistance to *B. terrestris* invasion by reducing its negative impacts on central species. In the presence of the keystone mutualism, central species had three times more direct interactions than in sites without this keystone mutualism. The higher interaction rewiring, after invasion of *B. terrestris*, in sites with the keystone mutualism indicates greater chances of central pollinators to form new interactions and reduces their competence for resources with the non-native bumblebee.
5. Our results demonstrate that a keystone mutualism can enhance community resistance against the impacts of a non-native invasive pollinator by increasing species diversity and promoting interaction rewiring in the community. This study

suggests that the conservation of mutualisms, especially those considered keystone, could be essential for long-term preservation of natural communities under current and future impacts of global change.

KEYWORDS

community resistance, interaction rewiring, network motifs, non-native species, pollination networks

1 | INTRODUCTION

Human activities and globalization cause communities to rapidly gain non-native species and lose native species, leading to community disassembly and the loss of ecosystem functions and services (Bellard et al., 2016; Sanders et al., 2003; Tylianakis et al., 2008). For example, the introduction of non-native pollinators threatens native plant communities and crop production by disrupting the interactions among plants and native pollinators (Aizen et al., 2008, 2019; Traveset & Richardson, 2014). Invasive pollinators reduce the abundance of native pollinators by direct interference (e.g. aggression between individuals) and indirectly by consumption of shared resources (Balfour et al., 2015; Vanbergen et al., 2018). The loss of native pollinators may affect plant reproductive success (Dohzono & Yokoyama, 2010), disrupt the structure and functionality of pollination networks (Traveset & Richardson, 2014; Valido et al., 2019) and alter evolutionary processes (Vanbergen et al., 2018). Yet, generalist native pollinators may respond to the increasing competition with invasive species by interacting more frequently with those species that do not interact with invasive ones (CaraDonna et al., 2017; Montero-Castaño & Vilà, 2017). Thus, the impact of invasive pollinators on communities depends not only on their traits (e.g. foraging efficiency), but also on the properties of the invaded community (e.g. number of species) that increase the species pool with which native pollinators may interact and escape competition (Dafni et al., 2010; Kaiser-Bunbury et al., 2010; Valdovinos et al., 2018).

Several studies have demonstrated that only few species and their interactions may be essential to maintain community structure and ecosystem processes (e.g. keystone species and interactions), although many more species coexist and interact (Ellison et al., 2005; Rodríguez-Cabal et al., 2013; Valiente-Banuet et al., 2015). The importance of keystone interactions lies in their ability to generate knock-on effects that propagate through the community, allowing the keystone interaction to indirectly impact many processes occurring at the community level, including species coexistence, co-extinction and co-evolution (Aschehoug & Callaway, 2015; Guimarães et al., 2017; Pires et al., 2020). In particular, mutualistic interactions involving plants supporting generalist animals may favour the persistence of several species (i.e. keystone host and keystone mutualist; Mills et al., 1993). These keystone mutualisms play an important role in communities subject to stressful or harsh environmental conditions (e.g. limiting resources, extreme abiotic conditions) or in communities

where most plant reproduction depends on a few animal species (Bruno et al., 2003; Pringle et al., 2013; Stachowicz, 2001; Wilcock & Neiland, 2002). The role of keystone mutualisms to resist non-native species invasion has been seldom studied, despite the growing literature on keystone mutualisms. It has been demonstrated that species diversity hampers the establishment, spread and impacts of non-native species (i.e. biotic resistance, Elton, 1958; Levine et al., 2004; Rius et al., 2014); therefore, if keystone mutualisms increase biodiversity, they should make local communities more resistant to non-native species. Alternatively, if they reduce local species diversity, then local communities should be more susceptible to invasion.

Species are embedded in ecological networks. Most mutualistic networks are formed by a core of central generalist species that interact with other generalist and specialist species, and peripheral specialist species that interact only with generalist species (Bascompte et al., 2003). These central species have a strong influence on the persistence and evolution of other species in the community (González et al., 2010; Kaiser-Bunbury et al., 2010; Thébault & Fontaine, 2008). Thus, any change to central species, in response to invasive species or some other external driver, could lead to cascading effects on other species in the network. Importantly, network structure might change across seasons for two reasons: because of changes in species composition (i.e. species turnover) or because of the reassembly of interactions among the same species pool (i.e. interaction rewiring; CaraDonna et al., 2017; Poisot et al., 2012). Interaction rewiring often depends on species diversity: when diversity increases, so does rewiring due to the presence of more potential partners with whom species might interact (Kaiser-Bunbury et al., 2010); in contrast, rewiring decreases as species diversity decreases. Therefore, incorporating the interaction rewiring process should help to understand how species respond differently to the same threat under disparate scenarios.

In the temperate forests of Patagonia, the invasive buff-tailed bumblebee *Bombus terrestris* has spread quickly since its first record in 2006, and currently its distribution covers the entire region, causing negative impacts on the flora, fauna and economy (Geslin & Morales, 2015; Torretta et al., 2006). In addition, the northern portion of these forests harbours a unique mutualistic interaction among a hummingbird *Sephanoides sephanioides*, a mistletoe *Tristerix corymbosus* and a marsupial seed disperser *Dromiciops gliroides*. In spring and summer, the hummingbird pollinates nearly 20% of the endemic woody genera in this region (Aizen & Ezcurra, 1998; Aizen et al., 2002). The nectar produced by the mistletoe is the only nectar resource

for the hummingbird during winter, and the hummingbird is the almost exclusive pollinator of the mistletoe, which allows it to achieve full reproductive success (Aizen, 2003; Aizen et al., 2002; Smith-Ramírez, 1993). In addition, the marsupial disperses seeds of more than 16 fleshy-fruited species, including large fruits (>11 mm) not dispersed by the native birds (Amico et al., 2009), and is the only seed disperser of the mistletoe (Amico et al., 2011), which thus depends fully on the marsupial for its persistence. Due to the high proportion of plant species that require mutualistic animals for pollination and seed dispersal in the Patagonian temperate forest (Aizen & Ezcurra, 1998), the hummingbird–mistletoe–marsupial interaction has been labelled as a keystone mutualism (Rodríguez-Cabal et al., 2013). For example, this proposed keystone mutualism increases the complexity of pollination and seed dispersal networks, and the richness and abundance of foliar arthropods and plants (Rodríguez-Cabal et al., 2019; Vitali et al., 2021). By indirectly increasing species diversity (Rodríguez-Cabal et al., 2013; Vitali et al., 2021), this keystone mutualism may increase community resistance to the impacts of non-native bumblebees by promoting interaction rewiring of native pollinators.

Here, we used data collected at four sites in 1999–2000, prior to invasion by the bumblebee *B. terrestris*, to construct pollination networks. We compared those pre-invasion networks to networks constructed 11 years after invasion to assess how *B. terrestris* affected the ecological importance of central pollinator species in the temperate forest of Patagonia. Additionally, we evaluated whether the hummingbird–mistletoe–marsupial keystone mutualism enhances ecological resistance to invasion by *B. terrestris* constructing networks in sites with and without this keystone mutualism. Specifically, we ask the following question: (a) does the non-native bumblebee *B. terrestris* affect the ecological importance of central pollinators in these networks? We expect that the dependence of plants on central species and the frequency of unique direct and indirect interactions (interaction niche) of central species will be greater in pre-invasion sites than in post-invasion sites. (b) Does the hummingbird–mistletoe–marsupial keystone mutualism promote ecological resistance to invasion by *B. terrestris*? We expect that plant dependence on central species and the frequency of unique direct and indirect interactions (interaction niche) involving central species will be greater in post-invasion sites with the keystone mutualism than in post-invasion sites without it. (c) Is the interaction rewiring the mechanism by which this occurs? We expect that the keystone mutualism may increase species diversity in the community, promoting interaction rewiring and reducing the impacts of the non-native bumblebee *B. terrestris* on central species. We propose that interaction rewiring will be greater in sites with the keystone mutualism than in sites without it.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study area and natural history

The study was conducted in Nahuel Huapi National Park and Llao Llao Municipal Park in northwestern Patagonia, Argentina. In the study area, the native forest vegetation belongs to the Subantarctic

biogeographical region (Cabrera & Willink, 1980). The climate comprises two distinct seasons: a dry season in spring–summer and a wet season in autumn–winter, an average temperature of 9°C, and annual rainfall totalling 1,800 mm. This site has a high relative rate of endemism and a high relative incidence of plant–animal mutualism, where most plant species depend on only a few mutualistic partners for their reproduction (Aizen & Ezcurra, 1998; Heywood, 1995; Riveros, 1991). The forest canopy is dominated by the evergreen southern beech *Nothofagus dombeyi* and cordilleran cypress *Austrocedrus chilensis*, with an understorey dominated by the shrub *Aristotelia chilensis* and bamboo *Chusquea culeou* (Mermoz & Martín, 1986).

We selected eight sites with a typical native plant community (Appendix S1: Figure S1). Four sites were evaluated in 1999–2000 before the introduction of *B. terrestris*; hereafter 'pre-invasion sites'. Data used to represent these sites are from a published study (see Vázquez and Simberloff (2002) for more details) where sampling was carried out during one season. Although eight sites were evaluated in Vázquez and Simberloff (2002), here we included only the four sites that had no cattle because its presence has multiple effects on the community, including on pollinators (Vázquez, 2002). The other four sites were studied in 2017–2018 and 2018–2019, more than 11 years after the first record of this non-native pollinator. Two of the new sites had a high density of mistletoes (>400 reproductive individuals per hectare; hereafter 'post-invasion sites with the keystone mutualism'), and two sites with low density of mistletoes (<20 reproductive individuals per hectare; hereafter 'post-invasion sites without the keystone mutualism'). Such variation in mistletoe density is typical of the Patagonian temperate forest due to the mistletoe's clumped distribution resulting from the spatial distribution of its main host (*A. chilensis*) and the marsupial activity (García et al., 2009; Sasal et al., 2021; see Appendix S2 for further details). Post-invasion sites are ecologically similar and present all the factors required to support the keystone mutualism (see Appendix S2 for further details about site description). Data collection in post-invasion sites was carried out during two consecutive seasons. The area of each pre-invasion site ranged between 6 and 12 ha, while the area of the post-invasion sites was 1 ha to match recent pollination research projects (Sasal et al., 2021). The sampling effort was defined according to plant species richness at each site and not according to site area because communities with a higher number of species and potential interactions require more sampling effort to be equally characterized than less diverse communities (Roswell et al., 2021; see Appendix S1: Table S1 for details of the sampling effort). Moreover, the smoothed accumulation curves of species interaction richness at all sites suggest a robust sampling effort (Appendix S1: Figure S2). In each site, we conducted pollination censuses per plant to represent the plant–pollinator community (data collection protocol is fully described in Appendix S1).

2.2 | Data analysis

For each pre-invasion site of *B. terrestris*, we built a pollinator network, while for each post-invasion site we built one pollinator

network per season, giving a total of 12 plant–pollinator networks. Of these networks, four correspond to pre-invasion sites, four to post-invasion sites with the keystone mutualism, and four to post-invasion sites without the keystone mutualism.

We built regression models to check whether the number of species and interactions in networks differ among pre-invasion sites of *B. terrestris* and post-invasion sites with and without the keystone mutualism. We selected the number of species and interactions as response variables and invasion state with presence or absence of the keystone mutualism of the site as a fixed factor (pre-invasion, post-invasion with the keystone mutualism and post-invasion without the keystone mutualism). We added 'Site' and 'Year' as random factors in the model to control for differences among sites and years and to consider repeated measures from the same site, respectively. We used the Poisson distribution with a log link function because the number of species and interactions consists in count data, but used a negative binomial distribution instead when we found overdispersion in the data (Zuur et al., 2009). To compare the number of species and interactions among pre-invasion sites of *B. terrestris* and post-invasion sites with and without the keystone mutualism, we conducted a posteriori False Discovery Rate test (Benjamini & Hochberg, 1995). GLMM models were conducted using the `LME4` package of R software (Bates et al., 2015; R Core Team, 2019).

2.2.1 | Central species

We focus on central species due to their critical role on maintaining the structure of the network and their great influence on the persistence and evolution of other species in the network (González et al., 2010). Centrality of species was calculated using weighted closeness in the `BIPARTITE` package of R (Dormann et al., 2008), which considers the distance to other species in the network and the frequency of their interactions. We calculated the centrality of all pollinators in pre-invasion sites and ranked the species from higher to lower centrality values. Finally, we selected those species occupying central positions in at least three sites. This procedure resulted in a total of five central species with centrality values higher than 0.0075. Including more species would incorporate peripheral species with low centrality in networks and not consistent presence in the sites.

2.2.2 | Central species strength

We calculated the index 'species strength' for each central species to measure its importance as pollinator. This index is defined as the sum of dependences of the plants relying on the central pollinators (Bascompte et al., 2006) and was calculated with the `BIPARTITE` package of R. We conducted regression analyses to check whether the species strength of each central pollinator differs between pre-invasion sites versus post-invasion sites with the keystone mutualism, and between pre-invasion sites versus post-invasion sites without the

keystone mutualism. To this end, for each central pollinator, we built two regression models using species strength as the response variable with a different combination of fixed factors (pre-invasion sites and post-invasion sites with the keystone mutualism, or pre-invasion sites and post-invasion sites without the keystone mutualism). We used the gamma distribution with an inverse link function because data were not normally distributed and the response variable is continuous and has positive values (Zuur et al., 2009). We added 'Site' and 'Year' as random factors in the models. GLMM models were performed using the `LME4` package of R software.

2.2.3 | Central interaction niche

We analysed the pollination networks focusing on network 'motifs', defined as subgraphs representing patterns of interactions between a small number of species (Simmons, Cirtwill, et al., 2019). Each motif comprises at least two unique positions representing different ecological patterns with direct and indirect interactions and which can be occupied simultaneously by different species (Appendix S1: Figure S3; Baker et al., 2015). Unlike common network indices (e.g. nestedness, species strength), motif analysis allows detecting indirect interactions between species (Simmons, Cirtwill, et al., 2019; see example in Appendix S1: Figure S4). Therefore, the interaction niche of a species, considering both direct and indirect effects, can be defined as the frequency of positions that the species occupies in the ecological network (Baker et al., 2015; Simmons, Cirtwill, et al., 2019; Simmons, Sweering, et al., 2019). Thus, the greater the occurrence of a species across all motif positions (motif centrality measure), the broader its interaction niche and, thus, its ecological importance because the species participates in different paths regulating the structure and functionality of the network (Sun et al., 2020). Detecting and considering indirect interactions is critical due to their relevance for many processes occurring at community level, such as co-evolution, coexistence and co-extinction between species (Aschehoug & Callaway, 2015; Guimarães et al., 2017; Pires et al., 2020).

We first estimated the frequency of positions occupied by the central species (interaction niche) previously selected in all sites using the `BMOTIF` package of R (Simmons, Sweering, et al., 2019). Data were normalized using the method 'contribution', which expresses position counts of a particular species as the proportion of the total weight of that motif occurrence considering all the species strength that appears in the position. In addition, we defined the central interaction niche of each treatment as the set of positions occupied by central species subjected to that treatment. This definition resulted in three central interaction niches: central interaction niche of pre-invasion sites, central interaction niche of post-invasion sites with the keystone mutualism and central interaction niche of post-invasion sites without the keystone mutualism. Changes on the central interaction niche will promote a strong impact on networks due to the importance of the central species to their support (González et al., 2010; Thébaud & Fontaine, 2008).

Second, we used two nonparametric permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) to test dissimilarity of the central interaction niche between pre-invasion sites versus post-invasion sites with the keystone mutualism, and between pre-invasion sites versus post-invasion sites without the keystone mutualism. This method uses a pseudo F -statistic to compare dissimilarities among and within groups (Anderson, 2001). We selected Bray–Curtis dissimilarity index because it is robust for multiple ecological properties, including motifs (Anderson, 2001; Baker et al., 2015; Simmons, Sweering, et al., 2019). In both models, we used the invasion state of the site (pre-invasion and post-invasion) as fixed factor, stratified by site to account for repeated measures using ‘strata’ with the `adonis2` function. We conducted the PERMANOVA tests with the `VEGAN` package of R software (Oksanen et al., 2012), using 9,999 permutations to calculate the null distribution. In addition, we estimated the data dispersion with the `betadisp` function in the `VEGAN` package and tested whether it varied between the invasion state of the site (fixed factor) with a one-way ANOVA to validate the results. ANOVAs test were performed using the `LME4` package of R (Bates et al., 2015). The results of the PERMANOVAs test were not caused by a heterogeneous dispersion of the data, as we found no significant differences of dispersion values between sites with different invasion state.

Finally, we used non-metric multidimensional scaling (NMDS) to visualize the changes of the central interaction niche between pre-invasion sites versus post-invasion sites with the keystone mutualism, and between pre-invasion sites versus post-invasion sites without the keystone mutualism. Following Simmons, Cirtwill, et al. (2019), we assigned the ecological meaning to the NMDS axes by associating each axis with the corresponding motif positions (see Appendix S3 for more details). NMDS was performed with the `metaMDS` function of the `VEGAN` package of R software.

2.2.4 | Interaction rewiring

For each post-invasion site, we disassembled the entire network in temporal subnetworks of 2-week intervals to estimate the interaction rewiring across the season. We built a total of 7–10 temporal subnetworks per site (Appendix S1: Table S1). At least two 2-weekly sampling visitation surveys to plants were performed and each consecutive temporal subnetwork was separated by 6–8 days. The number of temporal subnetworks varied according to the presence of flowering plants in the site and interactions recorded. Thus, we excluded data from subnetworks with no interaction records and absence of flowering plants. First, we calculated the interaction turnover (β_{int}) which quantifies the interactions dissimilarity between two successive temporal subnetworks. We selected Bray–Curtis dissimilarity index because it considers the frequency of interaction between species. Interaction turnover values range from 0 to 1 and higher values indicate greater changes in links between successive temporal subnetworks (CaraDonna et al., 2017; Poisot

et al., 2012). Furthermore, interaction turnover can be partitioned as $\beta_{\text{int}} = \beta_{\text{st}} + \beta_{\text{rw}}$, where changes in β_{int} can arise because of turnover of species (β_{st}) and/or interaction rewiring among species (β_{rw} ; Poisot et al., 2012). This partition allows us to estimate interaction rewiring among species. Although interaction turnover partition is robust to reduced sampling effort (Poisot et al., 2012), we assessed the sampling completeness of each 2-weekly network by comparing the observed interaction richness with the value of interaction richness estimated using an abundance–richness estimator (Chao 1). The abundance–richness estimator suggests that we detected most of the pairwise interactions that occurred in each 2-weekly network (on average 86%–93% of interactions, see Appendix S1: Table S2 for more detail).

Second, we compared the interaction rewiring (β_{rw}) between post-invasion sites with and without the keystone mutualism. We built a regression model with the values of interaction rewiring (β_{rw}) as response variable and presence or absence of the keystone mutualism as fixed factor. We incorporate ‘Year’ nested in ‘Site’ as random factor in the model to include repeated measures (temporal subnetworks) from the same year in each site. We used Beta distribution because the response variable is continuous and have values between 0 and 1. We include both seasons in the model because evidence shows that interaction rewiring is consistent across years (CaraDonna et al., 2017). We performed ‘Ljung-Box’ tests to check the temporal independence in the interaction rewiring variable within each season and site; we found no temporal autocorrelation ($p > 0.05$). The analyses were performed with `bipartite`, `GLMMADMB` and `STATS` packages (Fournier et al., 2012) of R software.

3 | RESULTS

The number of species was higher in post-invasion sites with the keystone mutualism (21 ± 2 plants and 46 ± 3 pollinators; mean \pm standard error) than in post-invasion sites without the keystone mutualism (10 ± 1 plants and 24 ± 2 pollinators) and in pre-invasion sites (11 ± 0.3 plants and 39 ± 2 pollinators; $z = -5.851$, $p < 0.001$; $z = -6.389$, $p < 0.001$). Similarly, we found a greater number of interactions in post-invasion sites with the keystone mutualism (708 ± 103 direct interactions) than in post-invasion sites without the keystone mutualism (187 ± 34 direct interactions; $z = -6.237$, $p < 0.001$), but no differences were found with pre-invasion sites (821 ± 90 direct interactions; $z = 0.651$, $p = 0.791$). The proportion of interactions involving the central species was $79 \pm 6\%$ (665 ± 111 interactions) in pre-invasion sites, $15 \pm 4\%$ (120 ± 49 interactions) in post-invasion sites with the keystone mutualism and only $3 \pm 1\%$ (6 ± 3 interactions) in post-invasion sites without the keystone mutualism. Moreover, the non-native pollinator *B. terrestris* was involved in $16 \pm 1\%$ of the direct interactions (110 ± 16 interactions) in sites with the keystone mutualism and in $27 \pm 8\%$ of the direct interactions (41 ± 10 interactions) in sites without the keystone mutualism.

3.1 | Central species strength

We found that species strength of some central pollinators differed between pre-invasion sites and post-invasion sites with the keystone mutualism. In sites with the keystone mutualism, the central native bumblebee *B. dahlbomii* reduced almost 7× its strength suggesting a reduction on its importance for plant community after *B. terrestris* invasion ($F = 10.688$, $p < 0.001$). In addition, two central species increased at least 4.9× their strength (the bees *Ruizantheda mutabilis* and *Manuelia gayi*) and, thus, the dependence of plants on them after *B. terrestris* invasion but no statistical differences were found ($F = 2.915$, $p = 0.348$; $F = 3.533$, $p = 0.338$, respectively). Furthermore, we did not record any or enough visits of two central species (the bee *Policana albopilosa* and the bumblebee *B. ruderatus*) in post-invasion sites with the keystone mutualism to assess statistically the change in their species strength (Figure 1A). Similarly, we could not assess statistically the central species strength between pre-invasion sites and post-invasion sites without the keystone mutualism. The absence of central pollinator visits in post-invasion sites without the keystone interaction suggests an abrupt reduction on their importance as pollinators in the ecological networks after the invasion of *B. terrestris* (Figure 1B). On the other hand, *B. terrestris* had high values of species strength in sites with and without the keystone mutualism suggesting a high importance for plants in the community (Figure 1A,B).

3.2 | Central interaction niche

Before the introduction of *B. terrestris*, the central interaction niche occupied a larger portion of the multivariate space defined by the two NMDS axes (Figure 2) and all central species had a high contribution to motif positions (Figure 3A), suggesting a high interaction niche and a great role in regulating the structure and functionality of the networks. Moreover, according to the association between highest and lowest values on NMDS axes and motif positions (Figure 2; Appendix S3: Tables S1–S4), central pollinators competed with generalist and specialist pollinators and visited both generalist and specialist plants. After the introduction of *B. terrestris*, the central interaction niche changed at sites with the keystone mutualism ($F_{1,29} = 3.862$, $p = 0.029$, Figure 2A). When the keystone mutualism was present, only one central species (*P. albopilosa*) was completely displaced from the networks (purple line in Figure 3B) and two central species (*B. dahlbomii* and *B. ruderatus*) reduced at least 2.4 and 2.2× their contribution across all motif positions (motif centrality measure, 6.87 ± 1.10 and 1.96 ± 1.20 , respectively) and, thus their interaction niche (blue and green lines in Figure 3B). In addition, two central species (*M. gayi* and *R. mutabilis*) increased almost 1.9 and 1.2× their motif centrality measure (8.54 ± 2.29 and 12.23 ± 2.28), their frequency of unique direct and indirect interactions, and their role in maintaining network structure and functionality (brown and grey lines in Figure 3B). More positive values of the first and second NMDS axes suggest that central pollinators tended to compete

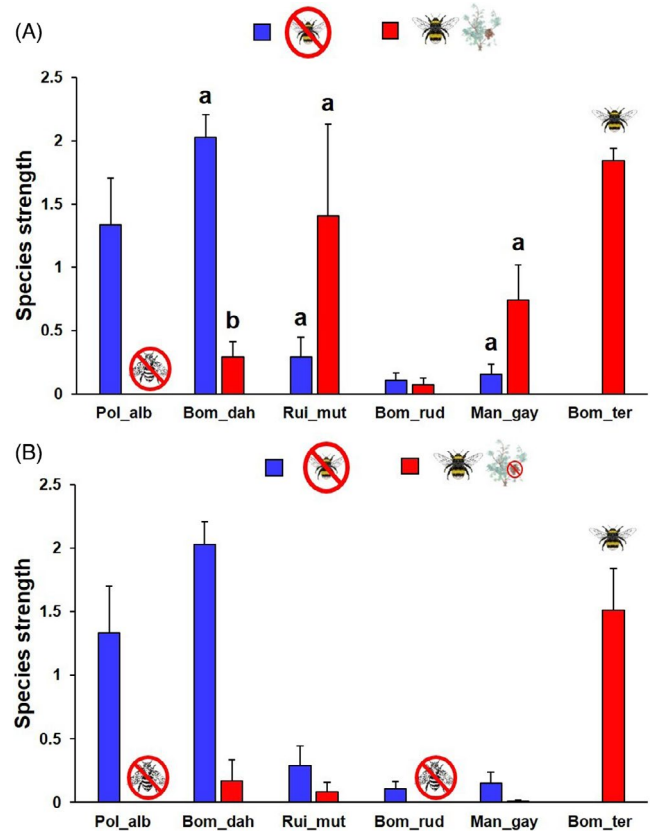


FIGURE 1 Changes of species strength for each central species between pre-invasion sites and post-invasion sites with the keystone mutualism (A) and post-invasion sites without the keystone mutualism (B). Bar colour represents sites: pre-invasion sites (blue) and post-invasion sites with and without the keystone mutualism (red). Central species from left to right: *Policana albopilosa*, *Bombus dahlbomii*, *Ruizantheda mutabilis*, *Bombus ruderatus*, *Manuelia gayi* and the non-native pollinator *Bombus terrestris*. Letters mean significant differences between sites. Bars represent mean \pm standard error

mostly with specialist species and mainly for specialist plants, decreasing the competition pressure to low and medium levels after the introduction of *B. terrestris* (Figure 2A; Appendix S3: Tables S1 and S2).

Similarly, the central interaction niche of the networks changed at sites without the keystone mutualism after the invasion of *B. terrestris* ($F_{1,19} = 4.677$, $p = 0.012$, Figure 2B). The impact of *B. terrestris* was stronger in the absence of the keystone mutualism: two central species (*P. albopilosa* and *B. ruderatus*) were completely displaced from the networks (green and purple lines in Figure 3C) while the remaining central species (*B. dahlbomii*, *M. gayi*, and *R. mutabilis*) reduced almost 40, 13.7 and 2.3 times their contribution across all motif positions (0.42 ± 0.42 , 0.55 ± 0.55 and 2.88 ± 2.21 , respectively), which suggests a shrinkage of their interaction niche and their contribution in maintaining network structure and functionality (blue, brown and grey lines in Figure 3C). Moreover, central pollinators

FIGURE 2 Changes of the central interaction niche between pre-invasion sites and post-invasion sites with the keystone mutualism (A) and post-invasion sites without the keystone mutualism (B). Each point and diamond represent the frequency of positions occupied by the species before and after the introduction of the non-native pollinator. Colour of polygon represents the area of the central interaction niche in pre-invasion sites of *Bombus terrestris* (blue) and post-invasion sites (red). The ecological interpretation of the NMDS axes was obtained by associating the five highest and lowest values of the axes with the motif positions (see Appendix S3 for more details). Upper and lower circles in motifs represent pollinator and plant species. Filled black circles indicate the motif positions occupied by central pollinators and associated with the extreme values of NMDS axes

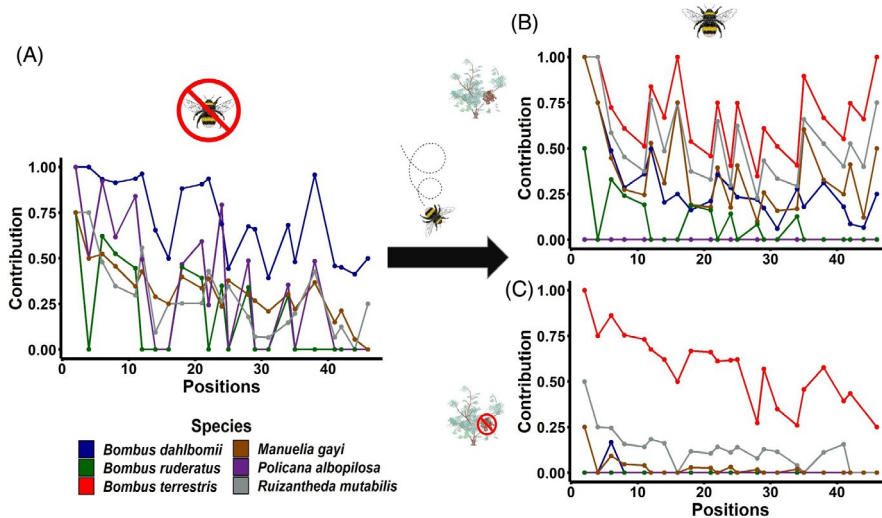
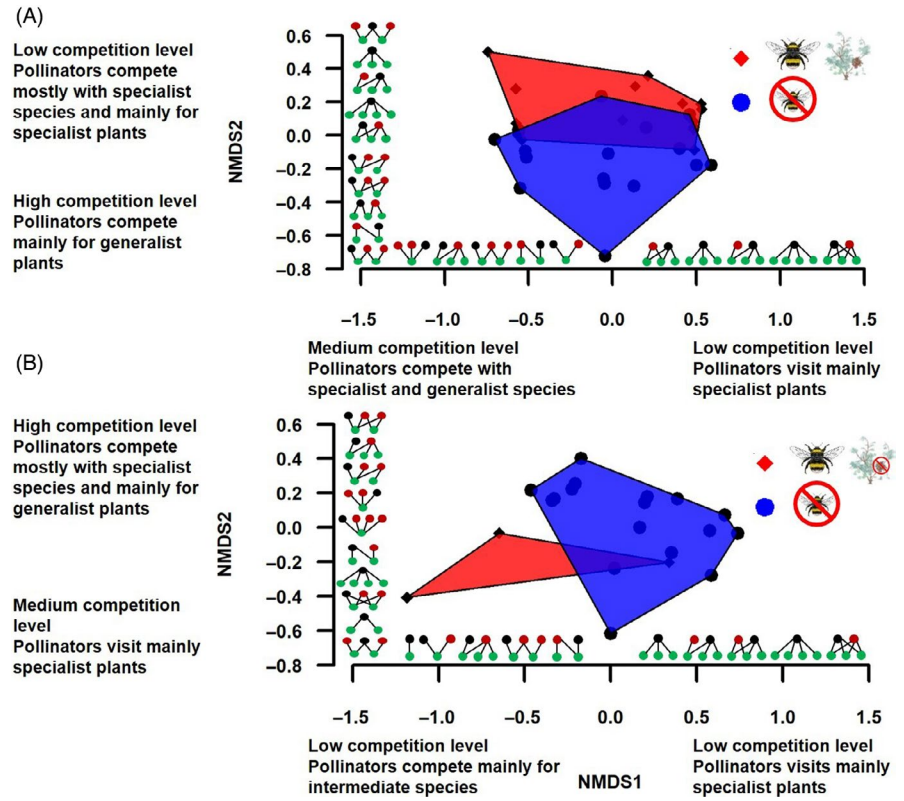


FIGURE 3 Contribution of each central species to motif positions in pre-invasion sites of *Bombus terrestris* (A) and in post-invasion sites with (B) and without (C) the keystone mutualism. Values near to 1 and 0 indicate high and low contribution to a particular motif position, respectively. The greater the contribution of a species in the different motif positions, the greater its importance in the pollination network. Colour of lines corresponds to the five most central pollinator species: *Bombus dahlbomii* (blue), *Bombus ruderatus* (green), *Manuelia gayi* (brown), *Policana albopilosa* (purple) and *Ruizantheda mutabilis* (grey). The non-native pollinator species, *Bombus terrestris*, is represented with a red line

competed mostly with intermediate foraging species (negative values of the first NMDS axis) mainly for specialist plants (positive and negative values of the first and second NMDS axes), experiencing a low and medium level of competition (Figure 2B; Appendix S3: Tables S3 and S4). In addition, *B. terrestris* had the greatest contribution across all motif positions in sites with (15.64 ± 0.68) and without

(12.62 ± 2.44) the keystone mutualism (red line in Figure 3B,C), suggesting a high frequency of direct and indirect interactions and a high contribution to network structure and function. However, the frequency of direct and indirect interactions of some central pollinators was close to those values recorded for *B. terrestris* in sites with the keystone mutualism (Figure 3b).

3.3 | Interaction rewiring

Interaction rewiring was at least 4× higher in post-invasion sites with the keystone mutualism than in sites without the keystone mutualism ($z = 2.28, p = 0.023$, Figure 4). On average, the contribution of interaction rewiring to interaction turnover was 50% in post-invasion sites with the keystone mutualism (44% in 2017 and 55% in 2018) versus 12% in post-invasion sites without the keystone mutualism (13% in 2017 and 11% in 2018; Figure 4).

4 | DISCUSSION

Our results provide insights into the keystone role played by positive interactions in the maintenance of community structure through direct and indirect interactions. We observed that a hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism promotes community resistance to the invasion of a generalist pollinator by reducing its negative effect on central species. Our results suggest that interaction rewiring supported by the keystone mutualism might be the mechanism behind the increase in resistance of central species to the invasion.

In post-invasion sites without the keystone mutualism, the non-native bumblebee *B. terrestris* produced strong negative effects on pollinator networks by reducing the species strength and interaction niche of central pollinator species. *Bombus terrestris* replaced a high number of direct interactions of native species and reduced the dependency of plants on them, suggesting that *B. terrestris* is a super-generalist pollinator in the networks. Similarly, other authors found that some pollinator species, including *B. terrestris* and *Apis mellifera*, become super-generalist pollinators when invading and play a central role in the network (Aizen et al., 2008; Norfolk et al., 2018). Furthermore, we also found that *B. terrestris* reduced the size of

networks' central interaction niche suggesting a loss on central species direct and indirect interactions and on their contribution to the structure and functionality of pollination webs (Simmons, Sweering, et al., 2019; Sun et al., 2020). It is known that invasive pollinators have a strong negative effect on congener native species (Inoue et al., 2008; Morales et al., 2013). For example, LeCroy et al. (2020) have recently demonstrated how the presence of a non-native mason bee *Osmia taurus* leads to declines in the abundance of six native congener species (*Osmia* spp.). Our study shows that an invasive pollinator not only can drastically affect congener species interactions (*B. dalhombii* and *B. ruderatus*), but also reduces direct and indirect ecological interactions of native non-congener species (*P. albopilosa*, *M. gayi* and *R. mutabilis*). Although we did not measure abundance of central species, the strong reduction in their interactions suggests a decrease in their abundances (Vázquez et al., 2009). In addition to produce the decline of central species, *B. terrestris* might compromise pollination services and negatively affect plant reproduction in certain contexts because it has been recorded robbing nectar from some native plants at high densities (Aizen et al., 2019; Vanbergen et al., 2018). Moreover, *B. terrestris* has also been recorded damaging flowers in frequent visits and reducing the fruit set and fruit quality of plants (Kenta et al., 2007; Sáez et al., 2014). Additionally, *B. terrestris* might also increase the invasibility of non-native plants by forming positive interactions with them after their introduction due to its role as super-generalist (Aizen et al., 2008; Morales & Aizen, 2002).

Our study shows that the hummingbird–mistletoe–marsupial interaction promotes community resistance to *B. terrestris* invasion by reducing its negative effect on the central species of the networks. The increase in community resistance found in sites with the keystone mutualism may be related to the higher rewiring of interactions. Similarly, other studies show that native pollinators can reduce direct and indirect competition with invasive species by simply visiting different plants (Montero-Castaño & Vilà, 2017; Valdovinos et al., 2018). For example, Magrach et al. (2017) found that pollinator species change their diets and reassemble their interactions to avoid plants frequently visited by honeybees in response to an increase in honeybee population. The highest ecological importance of *B. terrestris* found in networks, regardless of the keystone mutualism presence, suggests that the keystone mutualism might not offer resistance to the introduction and establishment of *B. terrestris*, but it offered resistance to late stages of invasion by reducing its impacts. Additionally, other authors have demonstrated that interaction rewiring also attenuates the effect of species loss on the network structure by allowing species to withstand their partner extinction (Vizentin-Bugoni et al., 2020) and plays an important role in hastening the restoration of pollination networks in grazed grasslands communities (Noreika et al., 2019). In the Patagonian forests, the high potential of species to switch among host plants over time may be triggered by the high diversity of species in the presence of the keystone mutualism because the number of species in the community and their phenological synchrony increase their probability to find a new partner (CaraDonna et al., 2017; Kaiser-Bunbury et al., 2010). Therefore, by increasing at least 2× the diversity of species in the

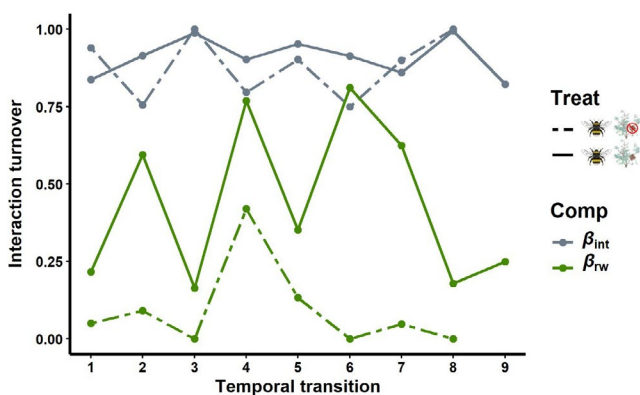


FIGURE 4 Contribution of interaction rewiring to the total interaction turnover within-seasonal temporal dynamics in post-invasion sites of *Bombus terrestris* with and without the keystone mutualism. High values of β_{int} and β_{rw} indicate high interactions dissimilarity between successive temporal subnetworks and high contribution of rewiring to the interaction turnover, respectively. Line colour represents total interaction turnover (grey) and interaction rewiring (green). Solid and dashed lines represent post-invasion sites with the keystone mutualism and without it

community, the hummingbird–mistletoe–marsupial mutualism indirectly increases the chances available for central pollinators to form new interactions, which allow them to explore different interaction niches and reduce their competence for resources with non-native pollinators.

Most of the studies evaluating biotic resistance are based on richness or diversity of native species in the communities and plant invaders (Catford et al., 2020; Levine et al., 2004). Here, we show for the first time the potential role of a keystone mutualism on promoting community resistance to an invasive pollinator impact by indirectly increasing species diversity in the community. In addition, our study increases the realism of the invasive pollinator impact on native pollinators by considering direct and indirect interactions in the analysis, which allow to detect changes in competition levels for resources. Similarly, an emerging trend seeks to understand how indirect effects influence on invasion dynamics (Allen et al., 2020; Petruzzella et al., 2020) due to their great role on co-evolution, coexisting and co-extinction processes in communities (Aschehoug & Callaway, 2015; Guimarães et al., 2017; Pires et al., 2020). As the assembly of communities is driven by direct and indirect links among species, considering both effects simultaneously is fundamental to understand the processes that lead to community structure. Despite the novel findings of our study, a more robust design would be desirable to allow stronger inference (Christie et al., 2019, 2020). For example, incorporating uninvaded sites with and without the keystone mutualism would increase the reliability that the buffering effect of the mutualism may be attributed only to invasion of *B. terrestris* per se and not to a combination of events that occurred since such invasion (e.g. climate change). Unfortunately, finding sites not invaded by *B. terrestris* is unlikely due to its rapid spread after its local establishment (Geslin & Morales, 2015).

One of the major challenges in conservation is being able to manage and restore native ecosystems, especially under current and future impacts of global change (Newbold et al., 2015; Tylianakis et al., 2008). Here we show that the high ecological importance of *B. terrestris* found in pollination networks suggests a reproductive and evolutionary dependence of plants upon this non-native species (Aizen et al., 2008), which could lead to a cascade effect on the network after its eradication (Kaiser-Bunbury et al., 2010). Because the removal of invasive species might trigger accidental and adverse effects on native communities, it is necessary to integrate eradication with restoration plans to avoid unpredictable negative effects (Bergstrom et al., 2009; Zavaleta et al., 2001). For example, a management plan including the removal of *B. terrestris* along with the restoration of native pollinator populations might allow plants to further withstand the adverse effects of losing this invasive central pollinator by increasing pollination services provided from native species. Moreover, the closer role in maintaining the structure and functionality of the network of some central pollinators to those values recorded for *B. terrestris* and the higher dependence of plants on them in presence of the keystone mutualism might help to safeguard the reproduction of native plants after *B. terrestris* removal. Considering that the clumped distribution of the mistletoe determines the potential of the hummingbird–mistletoe–marsupial

interaction, we inferred that patches with high and low community resistance against the invasion of pollinators would be the prevailing pattern in the forest.

Our study highlights the importance of including mutualism interactions as one of the essential community-level processes. Understanding the importance of mutualism interactions to the structure of communities is critical for predicting how their disruption might alter natural communities (e.g. structure, stability and functionality; Rodríguez-Cabal et al., 2013; Valiente-Banuet et al., 2015) and ecosystem services (e.g. pollination; González-Varo et al., 2013). Additionally, our results shed light on how conservation of natural communities might be achieved by protecting not just species, but also the interactions among them.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank N.J. Sanders for their valuable comments and suggestions to the early versions of this paper that has greatly improved the manuscript. We thank the staff of Nahuel Huapi National Park, D. Mujica and C. Chehebar, staff of Parque Municipal Llao-Llao and Dirección de Áreas Protegidas, M.S. Millerón for logistic support and permission to carry out fieldwork. We also thank A.P. Duarte, A. Fernández, A. Santone, B.R. Delgado, B. Lovazzano, E. Valfosca, I. Villa, J.G. Calzada, J. Gastardo, K. Buteler, L.M. Valfosca, M.E. Valfosca and P. San Pedro for valuable assistance in the field. Special thanks go to Ezequiel Rodríguez-Cabal who made the drawings. This research was supported with grants from 'Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica' of Argentina (PICT 2014-2484) to MARC and from 'The Rufford Foundation' to AV (ID 26510-1).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

A.V., D.P.V., YS and M.A.R.-C. conceived the idea; A.V. and D.P.V. collected the data; A.V. analysed the data; A.V., D.P.V., M.F.M., Y.S. and M.A.R.-C. led the writing of the manuscript; All authors contributed substantially to the development of this manuscript and gave final approval for publication. All authors agree to be accountable for the aspects of the work.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Dataset required to build the pollination networks in pre-invasion sites are available in the Supporting Information in Vázquez and Simberloff (2003). In addition, dataset required to build the pollination networks and temporal subnetworks in post-invasion sites are available in the Figshare repository <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.15032136> (Vitali, 2021a) and <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.16649167> (Vitali, 2021b).

ORCID

Agustin Vitali  <https://orcid.org/0000-0002-0642-4520>

Diego P. Vázquez  <https://orcid.org/0000-0002-3449-5748>

Yamila Sasal  <https://orcid.org/0000-0001-6826-6225>

REFERENCES

- Aizen, M. A. (2003). Influences of animal pollination and seed dispersal on winter flowering in a temperate mistletoe. *Ecology*, *84*(10), 2613–2627. <https://doi.org/10.1890/02-0521>
- Aizen, M. A., & Ezcurra, C. (1998). High incidence of plant-animal mutualisms in the woody flora of the temperate forest of southern South America: Biogeographical origin and present ecological significance. *Ecologia Austral*, *8*(2), 217–236.
- Aizen, M. A., Morales, C. L., & Morales, J. M. (2008). Invasive mutualists erode native pollination webs. *PLoS Biology*, *6*(2), 0396–0403. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060031>
- Aizen, M. A., Smith-Ramírez, C., Morales, C. L., Vieli, L., Sáez, A., Barahona-Segovia, R. M., Arbetman, M. P., Montalva, J., Garibaldi, L. A., Inouye, D. W., & Harder, L. D. (2019). Coordinated species importation policies are needed to reduce serious invasions globally: The case of alien bumblebees in South America. *Journal of Applied Ecology*, *56*(1), 100–106. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13121>
- Aizen, M. A., Vázquez, D. P., & Smith-Ramírez, C. (2002). Historia natural y conservación de los mutualismos planta-animal del bosque templado de Sudamérica austral. *Revista Chilena de Historia Natural*, *75*(1), 79–97. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2002000100008>
- Allen, W. J., Wainer, R., Tylaniakis, J. M., Barratt, B. I. P., Shadbolt, M. R., Waller, L. P., & Dickie, I. A. (2020). Community-level direct and indirect impacts of an invasive plant favour exotic over native species. *Journal of Ecology*, *108*(6), 2499–2510. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13433>
- Amico, G. C., Rodríguez-Cabal, M. A., & Aizen, M. A. (2009). The potential key seed-dispersing role of the arboreal marsupial *Dromiciops gliroides*. *Acta Oecologica*, *35*(1), 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2008.07.003>
- Amico, G. C., Rodríguez-Cabal, M. A., & Aizen, M. A. (2011). Geographic variation in fruit colour is associated with contrasting seed disperser assemblages in a south-Andean mistletoe. *Ecography*, *34*(2), 318–326. <https://doi.org/10.1111/j.16000587.2010.06459.x>
- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, *26*(1), 32–46. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x>
- Aschehoug, E. T., & Callaway, R. M. (2015). Diversity increases indirect interactions, attenuates the intensity of competition, and promotes coexistence. *The American Naturalist*, *186*(4), 452–459. <https://doi.org/10.1086/682901>
- Baker, N. J., Kaartinen, R., Roslin, T., & Stouffer, D. B. (2015). Species' roles in food webs show fidelity across a highly variable oak forest. *Ecography*, *38*(2), 130–139. <https://doi.org/10.1111/ecog.00913>
- Balfour, N. J., Gandy, S., & Ratnieks, F. L. W. (2015). Exploitative competition alters bee foraging and flower choice. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *69*(10), 1731–1738. <https://doi.org/10.1007/s00265-015-1985-y>
- Bascompte, J., Jordano, P., Melián, C. J., & Olesen, J. M. (2003). The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(16), 9383–9387. <https://doi.org/10.1073/pnas.1633576100>
- Bascompte, J., Jordano, P., & Olesen, J. M. (2006). Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Science*, *312*(5772), 431–433. <https://doi.org/10.1126/science.1123412>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. M., & Walker, S. C. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, *67*(1), 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Bellard, C., Cassey, P., & Blackburn, T. M. (2016). Alien species as a driver of recent extinctions. *Biology Letters*, *12*(2), 20150623. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2015.0623>
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, *57*(1), 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
- Bergstrom, D. M., Lucieer, A., Kiefer, K., Wasley, J., Belbin, L., Pedersen, T. K., & Chown, S. L. (2009). Indirect effects of invasive species removal devastate World Heritage Island. *Journal of Applied Ecology*, *46*(1), 73–81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2008.01601.x>
- Bruno, J. F., Stachowicz, J. J., & Bertness, M. D. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, *18*(3), 119–125. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)00045-9)
- Cabrera, A. L., & Willink, A. (1980). *Biogeografía de América Latina* (22^o ed., corr.). Organización de los Estados Americanos.
- CaraDonna, P. J., Petry, W. K., Brennan, R. M., Cunningham, J. L., Bronstein, J. L., Waser, N. M., & Sanders, N. J. (2017). Interaction rewiring and the rapid turnover of plant–pollinator networks. *Ecology Letters*, *20*(3), 385–394. <https://doi.org/10.1111/ele.12740>
- Catford, J. A., Dwyer, J. M., Palma, E., Cowles, J. M., & Tilman, D. (2020). Community diversity outweighs effect of warming on plant colonization. *Global Change Biology*, *26*(5), 3079–3090. <https://doi.org/10.1111/gcb.15017>
- Christie, A. P., Abecasis, D., Adjeroud, M., Alonso, J. C., Amano, T., Anton, A., Sutherland, W. J., Baldigo, B. P., Barrientos, R., Bicknell, J. E., Buhl, D. A., Cebrian, J., Ceia, R. S., Cibils-Martina, L., Clarke, S., Claudet, J., Craig, M. D., Davoult, D., De Backer, A., Sutherland, W. J. (2020). Quantifying and addressing the prevalence and bias of study designs in the environmental and social sciences. *Nature Communications*, *11*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20142-y>
- Christie, A. P., Amano, T., Martin, P. A., Shackelford, G. E., Simmons, B. I., & Sutherland, W. J. (2019). Simple study designs in ecology produce inaccurate estimates of biodiversity responses. *Journal of Applied Ecology*, *56*(12), 2742–2754. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13499>
- Dafni, A., Kevan, P., Gross, C. L., & Goka, K. (2010). *Bombus terrestris*, pollinator, invasive and pest: An assessment of problems associated with its widespread introductions for commercial purposes. *Applied Entomology and Zoology*, *45*(1), 101–113. <https://doi.org/10.1303/aez.2010.101>
- Dohzono, I., & Yokoyama, J. (2010). Impacts of alien bees on native plant–pollinator relationships: A review with special emphasis on plant reproduction. *Applied Entomology and Zoology*, *45*(1), 37–47. <https://doi.org/10.1303/aez.2010.37>
- Dormann, C., Gruber, B., & Fründ, J. (2008). Introducing the bipartite package: Analyzing ecological networks. *R News*, *8*(2), 8–11.
- Ellison, A. M., Bank, M. S., Clinton, B. D., Colburn, E. A., Elliott, K., Ford, C. R., Foster, D. R., Kloeppel, B. D., Knoepp, J. D., Lovett, G. M., Mohan, J., Orwig, D. A., Rodenhouse, N. L., Sobczak, W. V., Stinson, K. A., Stone, J. K., Swan, C. M., Thompson, J., Von Holle, B., & Webster, J. R. (2005). Loss of foundation species: Consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *3*(9), 479–486. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2005\)003%5B0479:LOFSCF%5D2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2005)003%5B0479:LOFSCF%5D2.0.CO;2)
- Elton, C. S. (1958). *The ecology of invasions by animals and plants* (1st ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7214-9>
- Fournier, D. A., Skaug, H. J., Ancheta, J., Iannelli, J., Magnusson, A., Maunder, M. N., Nielsen, A., & Sibert, J. (2012). AD Model Builder: Using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models. *Optimization Methods and Software*, *27*(2), 233–249. <https://doi.org/10.1080/10556788.2011.597854>
- García, D., Rodríguez-Cabal, M. A., & Amico, G. C. (2009). Seed dispersal by a frugivorous marsupial shapes the spatial scale of a mistletoe population. *Journal of Ecology*, *97*(2), 217–229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01470.x>
- Geslin, B., & Morales, C. L. (2015). New records reveal rapid geographic expansion of *Bombus terrestris* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), an invasive species in Argentina. *Check List*, *11*, 1620. <https://doi.org/10.15560/11.3.1620>

- González, A. M. M., Dalsgaard, B., & Olesen, J. M. (2010). Centrality measures and the importance of generalist species in pollination networks. *Ecological Complexity*, 7(1), 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2009.03.008>
- González-Varo, J. P., Biesmeijer, J. C., Bommarco, R., Potts, S. G., Schweiger, O., Smith, H. G., Steffan-Dewenter, I., Szentgyörgyi, H., Woyciechowski, M., & Vilà, M. (2013). Combined effects of global change pressures on animal-mediated pollination. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(9), 524–530. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.05.008>
- Guimarães, P. R., Pires, M. M., Jordano, P., Bascompte, J., & Thompson, J. N. (2017). Indirect effects drive coevolution in mutualistic networks. *Nature*, 550(7677), 511–514. <https://doi.org/10.1038/nature24273>
- Heywood, V. H. (1995). *Global biodiversity assessment*. Cambridge University Press.
- Inoue, M. N., Yokoyama, J., & Washitani, I. (2008). Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Conservation*, 12(2), 135–146. <https://doi.org/10.1007/s10841-007-9071-z>
- Kaiser-Bunbury, C. N., Muff, S., Memmott, J., Müller, C. B., & Cafilisch, A. (2010). The robustness of pollination networks to the loss of species and interactions: A quantitative approach incorporating pollinator behaviour. *Ecology Letters*, 13(4), 442–452. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01437.x>
- Kenta, T., Inari, N., Nagamitsu, T., Goka, K., & Hiura, T. (2007). Commercialized European bumblebee can cause pollination disturbance: An experiment on seven native plant species in Japan. *Biological Conservation*, 134(3), 298–309. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.07.023>
- LeCroy, K. A., Savoy-Burke, G., Carr, D. E., Delaney, D. A., & Roulson, T. H. (2020). Decline of six native mason bee species following the arrival of an exotic congener. *Scientific Reports*, 10(1), 18745. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75566-9>
- Levine, J. M., Adler, P. B., & Yelenik, S. G. (2004). A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology Letters*, 7(10), 975–989. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00657.x>
- Magrach, A., González-Varo, J. P., Boiffier, M., Vilà, M., & Bartomeus, I. (2017). Honeybee spillover reshuffles pollinator diets and affects plant reproductive success. *Nature Ecology and Evolution*, 1(9), 1299–1307. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0249-9>
- Mermoz, M., & Martín, C. (1986). *Mapa de vegetación del Parque y la Reserva Nacional Nahuel Huapi*. Delegación Regional Patagonia.
- Mills, L. S., Soulé, M. E., & Doak, D. F. (1993). The keystone-species concept in ecology and conservation. *BioScience*, 43(4), 219–224. <https://doi.org/10.2307/1312122>
- Montero-Castaño, A., & Vilà, M. (2017). Influence of the honeybee and trait similarity on the effect of a non-native plant on pollination and network rewiring. *Functional Ecology*, 31(1), 142–152. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12712>
- Morales, C. L., & Aizen, M. A. (2002). Does invasion of exotic plants promote invasion of exotic flower visitors? A case study from the temperate forests of the southern Andes. *Biological Invasions*, 4(1–2), 87–100. <https://doi.org/10.1023/A:1020513012689>
- Morales, C. L., Arbetman, M. P., Cameron, S. A., & Aizen, M. A. (2013). Rapid ecological replacement of a native bumble bee by invasive species. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(10), 529–534. <https://doi.org/10.1890/120321>
- Newbold, T., Hudson, L. N., Hill, S. L. L., Contu, S., Lysenko, I., Senior, R. A., Börger, L., Bennet, D. J., Choimes, A., Collen, B., Day, J., De Palma, A., Díaz, S., Echeverría-Londoño, S., Edgar, M. J., Feldman, A., Garon, M., Harrison, M. L. K., Alhusseini, T., ... Purvis, A. (2015). Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature*, 520(7545), 45–50. <https://doi.org/10.1038/nature14324>
- Noreika, N., Bartomeus, I., Winsa, M., Bommarco, R., & Öckinger, E. (2019). Pollinator foraging flexibility mediates rapid plant-pollinator network restoration in semi-natural grasslands. *Scientific Reports*, 9(1), 15473. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51912-4>
- Norfolk, O., Gilbert, F., & Eichhorn, M. P. (2018). Alien honeybees increase pollination risks for range-restricted plants. *Diversity and Distributions*, 24(5), 705–713. <https://doi.org/10.1111/ddi.12715>
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., Minchin, P., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2012). *Vegan: Community ecology package*. <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>
- Petruzzella, A., van Leeuwen, C. H. A., van Donk, E., & Bakker, E. S. (2020). Direct and indirect effects of native plants and herbivores on biotic resistance to alien aquatic plant invasions. *Journal of Ecology*, 108(4), 1487–1496. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13380>
- Pires, M. M., O'Donnell, J. L., Burkle, L. A., Díaz-Castelazo, C., Hembry, D. H., Yeakel, J. D., Newman, E. A., Medeiros, L. P., Aguiar, M. A. M., & Guimarães, P. R. (2020). The indirect paths to cascading effects of extinctions in mutualistic networks. *Ecology*, 101(7), 1–8. <https://doi.org/10.1002/ecy.3080>
- Poisot, T., Canard, E., Mouillot, D., Mouquet, N., & Gravel, D. (2012). The dissimilarity of species interaction networks. *Ecology Letters*, 15(12), 1353–1361. <https://doi.org/10.1111/ele.12002>
- Pringle, E. G., Akçay, E., Raab, T. K., Dirzo, R., & Gordon, D. M. (2013). Water stress strengthens mutualism among ants, trees, and scale insects. *PLoS Biology*, 11(11), e1001705. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001705>
- R Core Team. (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org>
- Rius, M., Potter, E. E., Aguirre, J. D., & Stachowicz, J. J. (2014). Mechanisms of biotic resistance across complex life cycles. *Journal of Animal Ecology*, 83(1), 296–305. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12129>
- Riveros, M. (1991). Aspectos sobre la biología reproductiva en dos comunidades del sur de Chile, 40°S. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad de Chile.
- Rodríguez-Cabal, M. A., Barrios-García, M. N., Amico, G. C., Aizen, M. A., & Sanders, N. J. (2013). Node-by-node disassembly of a mutualistic interaction web driven by species introductions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(41), 16503–16507. <https://doi.org/10.1073/pnas.1300131110>
- Rodríguez-Cabal, M. A., Barrios-García, M. N., Greyson-Gaito, C. J., Slinn, H. L., Tapella, M. P., Vitali, A., & Crutsinger, G. M. (2019). Non-native ungulates indirectly impact foliar arthropods but not soil function. *Biological Invasions*, 21(10), 3077–3084. <https://doi.org/10.1007/s10530-019-02030-9>
- Roswell, M., Dushoff, J., & Winfree, R. (2021). A conceptual guide to measuring species diversity. *Oikos*, 130, 321–338. <https://doi.org/10.1111/oik.07202>
- Sáez, A., Morales, C. L., Ramos, L. Y., & Aizen, M. A. (2014). Extremely frequent bee visits increase pollen deposition but reduce drupelet set in raspberry. *Journal of Applied Ecology*, 51(6), 1603–1612. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12325>
- Sanders, N. J., Gotelli, N. J., Heller, N. E., & Gordon, D. M. (2003). Community disassembly by an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(5), 2474–2477. <https://doi.org/10.1073/pnas.0437913100>
- Sasal, Y., Amico, G. C., & Morales, J. M. (2021). Host spatial structure and disperser activity determine mistletoe infection patterns. *Oikos*, 130(3), 440–452. <https://doi.org/10.1111/oik.07771>
- Simmons, B. I., Cirtwill, A. R., Baker, N. J., Wauchope, H. S., Dicks, L. V., Stouffer, D. B., & Sutherland, W. J. (2019). Motifs in bipartite ecological networks: Uncovering indirect interactions. *Oikos*, 128(2), 154–170. <https://doi.org/10.1111/oik.05670>
- Simmons, B. I., Sweering, M. J. M., Schillinger, M., Dicks, L. V., Sutherland, W. J., & Di Clemente, R. (2019). bmotif: A package for motif analyses of bipartite networks. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(5), 695–701. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13149>

- Smith-Ramírez, C. (1993). Los picaflores y su recurso floral en el bosque templado de la isla de Chiloé, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 66(1), 65–73.
- Stachowicz, J. J. (2001). Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. *BioScience*, 51(3), 235–246. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0235:MFATSO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0235:MFATSO]2.0.CO;2)
- Sun, X., Zhao, L., Zhao, D., Huo, Y., & Tan, W. (2020). Keystone species can be identified based on motif centrality. *Ecological Indicators*, 110, 105877. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105877>
- Thébaud, E., & Fontaine, C. (2008). Does asymmetric specialization differ between mutualistic and trophic networks? *Oikos*, 117(4), 555–563. <https://doi.org/10.1111/j.2008.0030-1299.16485.x>
- Torretta, J. P., Medan, D., & Abrahamovich, A. H. (2006). First record of the invasive bumblebee *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae) in Argentina. *Transactions of the American Entomological Society*, 132(3), 285–289. [https://doi.org/10.3157/0002-8320\(2006\)132\[285:FROTI B\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3157/0002-8320(2006)132[285:FROTI B]2.0.CO;2)
- Traveset, A., & Richardson, D. M. (2014). Mutualistic interactions and biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45, 89–113. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091857>
- Tylianakis, J. M., Didham, R. K., Bascompte, J., & Wardle, D. A. (2008). Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11(12), 1351–1363. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01250.x>
- Valdovinos, F. S., Berlow, E. L., Moisset De Espanés, P., Ramos-Jiliberto, R., Vázquez, D. P., & Martínez, N. D. (2018). Species traits and network structure predict the success and impacts of pollinator invasions. *Nature Communications*, 9, 2153. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04593-y>
- Valido, A., Rodríguez-Rodríguez, M. C., & Jordano, P. (2019). Honeybees disrupt the structure and functionality of plant–pollinator networks. *Scientific Reports*, 9, 4711. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41271-5>
- 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. *Functional Ecology*, 29(3), 299–307. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12356>
- Vanbergen, A. J., Espíndola, A., & Aizen, M. A. (2018). Risks to pollinators and pollination from invasive alien species. *Nature Ecology & Evolution*, 2(1), 16–25. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0412-3>
- Vázquez, D. P. (2002). *Interactions among introduced ungulates, plants, and pollinators* (PhD thesis). University of Tennessee. https://trace.tennessee.edu/utk_grad Diss/2169/
- Vázquez, D. P., Chacoff, N. P., & Cagnolo, L. (2009). Evaluating multiple determinants of the structure of plant–animal mutualistic networks. *Ecology*, 90(8), 2039–2046. <https://doi.org/10.1890/08-1837.1>
- Vázquez, D. P., & Simberloff, D. (2002). Ecological specialization and susceptibility to disturbance: Conjectures and refutations. *The American Naturalist*, 159(6), 606–623. <https://doi.org/10.1086/339991>
- Vázquez, D. P., & Simberloff, D. (2003). Changes in interaction biodiversity induced by an introduced ungulate. *Ecology Letters*, 6(12), 1077–1083. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00534.x>
- Vitali, A. (2021a). Data_The disruption of a keystone interaction erodes pollination and seed dispersal networks. *Figshare*, <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.15032136.v1>
- Vitali, A. (2021b). Data to build temporal subnetworks. *Figshare*, <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.16649167.v1>
- Vitali, A., Sasal, Y., Vázquez, D. P., Miguel, M. F., & Rodríguez-Cabal, M. A. (2021). The disruption of a keystone interaction erodes pollination and seed dispersal networks. *Ecology*.
- Vizentin-Bugoni, J., Debastiani, V. J., Bastazini, V. A. G., Maruyama, P. K., & Sperry, J. H. (2020). Including rewiring in the estimation of the robustness of mutualistic networks. *Methods in Ecology and Evolution*, 11(1), 106–116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13306>
- Wilcock, C., & Neiland, R. (2002). Pollination failure in plants: Why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science*, 7(6), 270–277. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02258-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02258-6)
- Zavaleta, E. S., Hobbs, R. J., & Mooney, H. A. (2001). Viewing invasive species removal in a whole-ecosystem context. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(8), 454–459. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02194-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02194-2)
- Zuur, A., Ieno, E. N., Walker, N., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-87458-6>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found in the online version of the article at the publisher's website.

How to cite this article: Vitali, A., Vázquez, D. P., Miguel, M. F., Sasal, Y., & Rodríguez-Cabal, M. A. (2021). A keystone mutualism promotes resistance to invasion. *Journal of Animal Ecology*, 00, 1–12. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13597>