

ESCOLA DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
MESTRADO EM ZOOLOGIA

MARIANA BEAL NEVES

**INFLUÊNCIA DA MATRIZ URBANA
NA ESTRUTURA DE REDES DE INTERAÇÃO
PLANTA-VISITANTE FLORAL
EM FRAGMENTOS DE VEGETAÇÃO CAMPESTRE
DO SUL DO BRASIL**

Porto Alegre
2018

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**INFLUÊNCIA DA MATRIZ URBANA
NA ESTRUTURA DE REDES DE INTERAÇÃO
PLANTA-VISITANTE FLORAL
EM FRAGMENTOS DE VEGETAÇÃO CAMPESTRE
DO SUL DO BRASIL**

Mariana Beal Neves

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
Av. Ipiranga 6681 - Caixa Postal 1429
Fone: (051) 3320-3500
CEP 90619-900 Porto Alegre - RS
Brasil
2018

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**INFLUÊNCIA DA MATRIZ URBANA
NA ESTRUTURA DE REDES DE INTERAÇÃO
PLANTA-VISITANTE FLORAL
EM FRAGMENTOS DE VEGETAÇÃO CAMPESTRE
DO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Mariana Beal Neves

Orientador: Dr. Pedro Maria de Abreu Ferreira

Coorientadora: Dr^a. Betina Blochtein

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
PORTO ALEGRE - RS - BRASIL 2018

MARIANA BEAL NEVES

**INFLUÊNCIA DA MATRIZ URBANA
NA ESTRUTURA DE REDES DE INTERAÇÃO
PLANTA-VISITANTE FLORAL
EM FRAGMENTOS DE VEGETAÇÃO CAMPESTRE
DO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Aprovada em: ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Gerhard Ernst Overbeck

Prof. Dr. Milton de Souza Mendonça Junior

Prof. Dr. Paulo Roberto Guimarães Junior

Porto Alegre

2018

iii

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Pedro Maria de Abreu Ferreira e Betina Blochtein pelo incondicional apoio que me deram desde o início. Pela confiança que depositaram em mim, mesmo sabendo que eu vinha de uma área completamente diferente. Pelos ensinamentos ao longo de todo o processo e, principalmente, pelos incentivos quando algo dava errado. Sem dúvida vocês foram fundamentais para que eu conseguisse concluir essa etapa da minha vida.

Ao meu professor e amigo Júlio César Bicca-Marques, que é um profissional excepcional. Foi quem me incentivou desde o início da graduação. Foi meu orientador original, porém por acaso do destino eu acabei indo para outro caminho, que hoje posso dizer que foi o certo. Agradeço imensamente por todo o apoio e pelos “tocs” que me fizeram melhorar muito, pessoalmente e profissionalmente.

A Marjorie Westerhofer Esteves que esteve ao meu lado desde o início e foi quem passou os “perrengues” junto comigo. Sem dúvida esse apoio foi fundamental, sem ele eu não teria conseguido vencer todas as etapas desse trabalho a tempo. Nunca me esquecerei das várias risadas que demos uma da outra e dos “passeios” de trator para subir o morro quando as pernas já não andavam mais.

A Cleusa Vogel Ely que conheci no início deste trabalho e que hoje posso dizer que é uma grande amiga! Com quem fiz “um curso intensivo” de vegetação campestre e também dei muitas risadas.

As minhas amigas e colegas de laboratório, Kássia Ramos, Nicole Garcia e Renata Souza pelas conversas, pela ajuda em campo e na identificação dos bichos. E é claro pela amizade que foi fundamental psicologicamente.

Ao pessoal do LevCamp da UFRGS que assim como a Cleusa ajudaram na identificação das plantas e especialmente a Juliana Schaefer e Josimar Kulkamp que também foram a campo.

Aos gestores (Maria Carmen, Gerson e Dayse) e aos guardas-parque (Josimar, Balejo, Osmar, Correia, Rubilar e Chico) que fizeram de tudo para que eu pudesse fazer os campos da melhor forma possível. E também a cachorra (que hoje é a Mel) que foi minha grande guarda no parque Saint'Hilaire e hoje está comigo em casa.

A minha prima, parceira e irmã Giuliana Beal Maroso que sempre está comigo nos bons e maus momentos. Que foi a campo junto comigo, me apoia desde sempre e me aconselha quando preciso.

A minha vó Dileta Beal e meu vô Tranquilo Beal que são meus incentivadores desde pequena. Pelo carro emprestado para fazer todos os campos e por todo o apoio incondicional desde sempre.

Aos meus pais Mirian e José Leonir pelo incondicional apoio.

Aos meus irmãos Artur e Bruno que fazem minha vida ser mais alegre e que, também, ajudaram em algumas etapas desta trajetória.

A minha amiga e irmã Luana Feula que me incentiva, diverte e apoia. Quem está sempre ao meu lado, mesmo que nem sempre fisicamente.

A minha grande família (pai, mãe, avós, tios, primos, e agregados) por sempre me apoiarem. Se hoje eu sou quem eu sou é graças a eles.

Também a Deus e ao meu anjo da guarda por sempre me guiarem pelo caminho certo, ele sendo pedregoso ou não.

What is Success?

To laugh often and much;

To win the respect of intelligent people

and the affection of children;

To earn the appreciation of honest critics

and endure the betrayal of false friends;

To appreciate beauty;

To find the best in others;

To leave the world a bit better, whether by

a healthy child, a garden patch

or a redeemed social condition;

To know even one life has breathed

easier because you have lived;

This is to have succeeded.

Ralph Waldo Emerson

RESUMO

As relações mutualísticas entre plantas e animais desempenham um papel chave nos processos ecológicos e evolutivos. Estas relações são vistas como redes complexas de interação, que apresentam padrões estruturais recorrentes e estão severamente ameaçadas por ações antropogênicas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do isolamento causado pela urbanização nas redes de interação entre plantas e visitantes florais. Foram amostrados 12 fragmentos campestres na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. A amostragem foi realizada durante a primavera e o verão de 2016/17, em parcelas circulares de 1 hectare através do método focal (10 minutos de observação/planta). Estimamos o grau de isolamento dos fragmentos calculando a área coberta por matriz urbana em uma área tampão de 2000 metros em torno de cada parcela. Realizamos um levantamento qualitativo da vegetação como variável explanatória para os padrões de redes encontrados. Para construir as matrizes de interação dividimos os visitantes em potenciais polinizadores e não polinizadores. Construímos matrizes quantitativas de interação para cada fragmento, calculando as métricas disponíveis na função *networklevel* do pacote *bipartite* do programa R. Estimamos a correlação entre o logaritmo da área urbanizada em um raio de 2000 metros e cada métrica de rede calculada com modelo linear generalizado. Foram amostradas 1240 plantas (182 espécies). A abundância total de visitantes florais foi de 1840 espécimes (94% potenciais polinizadores). A riqueza de espécies de plantas foi maior em áreas mais isoladas pela urbanização, o que se deve ao fato destas áreas pegarem fogo com mais frequência. A riqueza de visitantes também foi maior nestas áreas, o que se deve por um efeito “bottom up” dado pelo aumento na riqueza de plantas. Os resultados sugerem que as redes aumentam a conectância e aninhamento (em áreas mais urbanizadas) como uma forma de “driblar” o distúrbio, aumentando assim a estabilidade do sistema. Além disto, áreas mais afastadas da urbanização permitem um maior nível de especialização das redes, pois possuem maior amplitude de nichos. Concluimos que essas descobertas destacam a importância do investimento na conservação e manutenção de áreas naturais nas grandes cidades, embora possam parecer isoladas em meio a uma densa matriz urbana. Estas áreas ainda são um bom refúgio para a vida selvagem e precisam ser mantidas intactas.

Palavras-chave: Campos sulinos; Artrópodes; Estrutura do habitat; Contexto da paisagem; Diversidade.

ABSTRACT

Mutualistic relationships between plants and animals play a key role in ecological and evolutionary processes. These relationships are seen as complex networks of interaction, which present recurrent structural patterns and are severely threatened by anthropogenic factors. The objective of this work was to evaluate the influence of the isolation caused by urbanization on the interaction networks between plants and floral visitors. Twelve South Brazilian fragments were sampled in the metropolitan area of Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Sampling was performed during spring and summer of 2016/17 in 1-hectare circular plots using the focal method (10 minutes observation / plant). We estimated the degree of isolation of the fragments by calculating the area covered by urban matrix in a buffer of 2000 meters around each plot. We performed a qualitative-quantitative sampling of vegetation as part of the explanatory data observed for the network patterns. To construct interaction matrices, we divide visitors into potential pollinators and non-pollinators. We construct quantitative interaction matrices for each fragment/plot by calculating the metrics available in the *networklevel* function of the bipartite package of the R program. We estimate the correlation between the logarithm of the urbanized area in a radius of 2000 meters and each network metric calculated with the generalized linear model. We sampled 1240 plants (182 species). The total abundance of floral visitors was 1840 specimens (94% potential pollinators). The richness of plant species was greater in areas more isolated by urbanization, which is due to the fact that these areas catch fire more frequently. The richness of visitors was also higher in these areas, which is due to a "bottom up" effect given by the increase in plant richness. The results suggest that networks increase connectance and nestedness (in more urbanized areas) as a way of protection against the disturbance, increasing system stability. In addition, areas further away from urbanization allow a greater level of network specialization, since they have a greater range of niches. We conclude that these findings highlight the importance of investing in the conservation and maintenance of natural areas within large cities, although they may seem isolated in the midst of a dense urban matrix. These areas are still a good haven for wildlife and need to be kept intact.

Keywords: South Brazilian Campos; Arthropods; Habitat structure; Landscape context; Diversity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1

Figura 1: padrão recorrente de aninhamento encontrado para redes mutualísticas. Fonte: modificado de Bascompte and Jordano 2007.....8

Figura 2: localização das áreas de estudo. Classes de cobertura vegetal atual do Rio Grande do Sul segundo Cordeiro e Hasenack 2009.....18

Figura 3: localização do Parque Natural Morro Osso ($30^{\circ}06'55.58''S$ $51^{\circ}14'17.57''O$), o qual se encontra imerso em matriz urbana. Os círculos brancos (1-3) mostram as respectivas áreas de amostragem.....19

Figura 4: localização do Parque Saint'Hilaire ($30^{\circ}06'04.47''S$ $51^{\circ}05'45.12''O$), o qual encontra-se rodeado por matriz urbana. Os círculos brancos (1-3) mostram as respectivas áreas de amostragem.....20

Figura 5: localização do Morro São Pedro ($30^{\circ}10'34.73''S$ $51^{\circ}06'27.23''O$), o qual encontra-se em uma transição de área urbana para rural. Os círculos brancos (1-3) mostram as respectivas áreas de amostragem.....21

Figura 6: Figura 6: localização do Parque Estadual de Itapuã ($30^{\circ}22'07.43''S$ $51^{\circ}01'48.63''O$), o qual encontra-se em área rural rodeada pelo lago guaíba. Os círculos brancos (1-3) mostram as respectivas áreas de amostragem.....21

Capítulo 2

Figure 1: Map. Map of the 12 grassland fragments (black circles) in each hill: Morro do Osso Natural Park (MO), Saint’Hilaire Municipal Park (SH), São Pedro Wildlife Refuge (SP) and Itapuã State Park (PI). Black lines enclose 2 km buffer zone for urbanization measurement. Land cover categories follow Cordeiro & Hasenack (2009).....48

Figure 2: Species richness correlations. (a) Positive correlation between plants species richness (Chao) and urbanized area; (b) positive correlation between visitors species richness and urbanized area.50

Figure 3: Networks and metrics. (a) Networks topology of each fragment (Frag) ordered from the least isolated to the most isolated by urbanization. For each network its respective dimensions (Dim) given by the number of visitors (HL = Higher level) and plants (LL = Lower level). Yellow nodes represent visitors and green nodes represent plants. Fragment acronyms as in Figure 1. (b) Percentage of urban area in a buffer of 2000 meters and the variation of each network metrics in each fragment.....52

Figure 4: Richness and Diversity of plants. (a) plant species richness (Chao estimator) in each plot per area; (b) plant diversity (Simpson D) in each plot per area.....53

Figure 5: (a) positive correlation between nestedness (NODF2) and urbanized area; (b) positive correlation between weighted connectance and urbanized area.....54

Figure 6: (a) negative correlation between specialization (H_2') and urbanized area; (b) negative correlation between *Apis mellifera* degree and urbanized area.....55

LISTA DE SIGLAS

MO – Parque Natural Morro do Osso

SH – Parque Municipal Sain't Hilaire

SP – Refúgio de Vida Silvestre São Pedro

PI – Parque Estadual de Itapuã

SUMÁRIO

Apresentação	1
Referências.....	3
Capítulo 1: Introdução geral	6
A percepção das interações mutualísticas como redes complexas.....	7
Os visitantes florais: quem são e o que eles procuram nas flores?.....	11
O estado atual de riqueza e diversidade de visitantes florais no globo.....	13
Efeitos da matriz urbana sobre a biodiversidade e as redes de interação.....	14
O ecossistema campestre e os campos dos morros de Porto Alegre.....	16
Objetivo.....	17
Previsões.....	18
Locais de coleta.....	18
Delineamento amostral.....	22
Referências.....	23
Capítulo 2: Variation in mutualistic networks in grassland fragments under different degrees of isolation within an urban matrix	32
Abstract.....	33
Introduction.....	34
Methods.....	36
Results.....	38
Discussion.....	39
Acknowledgments.....	42
Literature cited.....	42
Supplementary material.....	53

Apresentação

Charles Darwin já observava em campo a incrível compatibilidade entre algumas espécies de orquídeas e os insetos que as polinizavam. Ele compreendeu que um não sobrevive sem o outro, pois estão intimamente relacionados. Se um dos pares, inseto ou planta, viesse a desaparecer, o outro também desapareceria (Darwin 1862).

As relações mutualísticas desempenham um papel extremamente importante na manutenção da biodiversidade. Isto é corroborado pelo fato de que mais de 90% das espécies de plantas tropicais dependem da dispersão por animais (Jordano 2000) e, que das espécies de plantas com flores, 90% são polinizadas por animais (Bawa 1990, Nabhan and Buchmann 1997). Dentre as diversas interações interespecíficas que formam as redes de interações, a interação planta-polinizador desempenha uma função crítica na montagem e dinâmica das comunidades (Memmott 1999), influenciando a reprodução das plantas e a história de vida dos animais (Jordano et al. 2002). As consequências em cascata do desaparecimento de dispersores ou polinizadores é uma grande ameaça para a biodiversidade (Dirzo and Miranda 1990, Kearns et al. 1998, Wright 2003).

A dependência das espécies de plantas por visitas frequentes de polinizadores e a necessidade dos animais de buscar recurso em diferentes plantas faz com que estes estejam conectados em uma complexa rede de interações (Vosgueritchian 2010). O campo de redes de interações complexas tem crescido extraordinariamente nos últimos anos (Amaral et al. 2000, Strogatz 2001, Albert and Barabasi 2002, Dorogovtsev and Mendes 2002, Newman 2003, 2004). Vários sistemas que vão desde redes genéticas até as redes da Internet têm sido descritos com uma estrutura comum onde os elementos (entidades, genes, proteínas ou espécies) são nós conectados por links, que representam as interações entre os elementos. As redes mutualísticas formam padrões bem definidos e previsíveis de interdependência, fornecendo uma perspectiva de toda a comunidade e se tornando uma ferramenta útil para o

entendimento de processos ecológicos, evolutivos e para a conservação da biodiversidade (Bascompte and Jordano 2007).

Atualmente a maior causa do declínio de polinizadores no globo tem origem antropogênica (Kearns et al. 1998, Delariva and Agostinho 1999, Biesmeijer et al. 2006, Grixti et al. 2009, Martins and Melo 2010). A globalização tem sido relatada como uma das principais causas da introdução de plantas e animais exóticos (Banks et al. 2015, Capinha et al. 2015). Dentre as principais causas do declínio de polinizadores está a destruição e fragmentação de habitat, envolvendo principalmente a urbanização (Kearns et al. 1998, Biesmeijer et al. 2006, Martins and Melo 2010). Edifícios, estradas e áreas industriais aumentam com a crescente diminuição de áreas verdes, transformando-as em áreas impermeáveis para a fauna (Ahrné et al. 2009). Esta devastação e fragmentação de habitat geram, portanto, consequências graves para a fauna e flora. No entanto estas consequências ainda não são suficientemente conhecidas em diversos sistemas biológicos.

Neste sentido esta dissertação tem como principal objetivo mostrar as alterações que a urbanização gera em comunidades naturais, através de uma abordagem de redes de interações complexas entre plantas e seus visitantes florais.

O primeiro capítulo traz uma introdução geral sobre o tema de redes de interações complexas, explicando quem são os visitantes florais, abordando o estado atual da riqueza e diversidade de visitantes florais e mostrando os efeitos da urbanização na biodiversidade e redes de interações, com exemplos de estudos já realizados. Além disto, traz uma contextualização do bioma Pampa e dos locais que foram utilizados para a realização do trabalho. Por fim, traz uma breve descrição da metodologia geral que foi empregada.

O segundo capítulo traz resultados encontrados do efeito da matriz urbana na estrutura das redes de interação entre plantas e seus potenciais polinizadores. Este capítulo foi redigido

em inglês seguindo o formato *Article* da revista *Ecology*. Nossas descobertas trazem evidências de que as redes mais próximas a aglomerados urbanos (i.e., mais isoladas) apresentam maiores conectância e aninhamento, o que foi interpretado como uma forma de “driblar” o distúrbio, aumentando a estabilidade do sistema. Além disso, o baixo grau de uma espécie altamente generalista e invasora (*Apis mellifera*) que foi encontrado em áreas mais isoladas implica que, uma maior riqueza de espécies nativas e maior aninhamento e conectância impedem que uma espécie invasora se estabeleça com um alto grau na rede. A maior especialização encontrada em áreas menos isoladas pela matriz urbana indica que as espécies possuem uma maior variedade de recursos disponíveis, permitindo que espécies mais especializadas em algum tipo de recurso possam coexistir na comunidade.

Referências

- Ahrné, K., J. Bengtsson, and T. Elmqvist. 2009. Bumble bees (*Bombus* spp) along a gradient of increasing urbanization. *PLoS ONE* 4:e5574.
- Albert, R., and A. L. Barabasi. 2002. Statistical mechanics of complex networks. *Reviews of Modern Physics* 74:47–97.
- Amaral, L. A. N., A. Scala, M. Barthelemy, and H. E. Stanley. 2000. Classes of small-world networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:11149–11152.
- Banks, N. C., D. R. Paini, K. L. Bayliss, and M. Hodda. 2015. The role of global trade and transport network topology in the human-mediated dispersal of alien species. *Ecology Letters* 18:188–199.
- Bascompte, J., and P. Jordano. 2007. Plant-Animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38:567–593.

Bawa, K. S. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:399–422.

Biesmeijer, J. C., S. P. M. Roberts, M. Reemer, R. Ohlemüller, M. Edwards, T. Peeters, A. P. Schaffers, S. G. Potts, R. Kleukers, C. D. Thomas, J. Settele, and W. E. Kunin. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313:351–354.

Capinha, C., F. Essl, H. Seebens, D. Moser, and H. M. Pereira. 2015. The dispersal of alien species redefines biogeography in the Anthropocene. *Science* 348:1248–1251.

Darwin, C. 1862. On the contrivances by which British and foreign orchids are fertilized by insects, and on the good effects of intercrossing.

Delariva, R. L., and A. A. Agostinho. 1999. Introdução de espécies: uma síntese comentada. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 21:255–262.

Dirzo, R., and A. Miranda. 1990. Contemporary neotropical defaunation and forest structure, function, and diversity—a sequel to John Terborgh. *Conservation Biology* 4:444–447.

Dorogovtsev, S. N., and J. F. F. Mendes. 2002. Evolution of networks. *Advances in Physics* 51:1079–1187.

Grixti, J. C., L. T. Wong, S. A. Cameron, and C. Favret. 2009. Decline of bumble bees (*Bombus*) in the North American Midwest. *Biological Conservation* 142:75–84.

Jordano, P. 2000. Fruits and frugivory. Pages 125-166 in M. Fenner, editor. *Seeds: the ecology of regeneration in natural plant communities*, 2nd edition. CABI Publ., Wallingford, UK.

Jordano, P., J. Bascompte, and J. M. Olesen. 2002. Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions. *Ecology Letters* 6:69–81.

Kearns, A. C., W. D. Inouye, and N. M. Waser. 1998. endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:83–112.

Martins, A. C., and G. A. R. Melo. 2010. Has the bumblebee *Bombus bellicosus* gone extinct in the northern portion of its distribution range in Brazil? *Journal of Insect Conservation* 14:207–210.

Memmott, J. 1999. The structure of a plant-pollinator food web. *Ecology Letters* 2:276–280.

Nabhan, G. P., and S. L. Buchmann, 1997. Services provided by pollinators. Pages 133–150 in G. Daily, editor. *Nature's services*. Island Press, Washington, D.C.

Newman, M. E. J. 2003. The structure and function of complex networks. *SIAM Rev* 45:167–256.

CAPÍTULO 1

Introdução geral



Coleóptero da família Melyridae em uma flor de *Aspilia montevidensis*.

Fonte: Mariana Beal Neves

Introdução geral

A percepção das interações mutualísticas como redes complexas

Uma rede de interação nada mais é do que uma representação utilizada para mostrar a interação entre as espécies, onde as espécies são representadas por nós e as interações são os links entre elas. A ecologia tem uma longa tradição no estudo de redes, tais como teias alimentares (Pimm 1979, Paine 1980, Dunne et al. 2002). Porém, nos últimos anos têm surgido diversos estudos sobre redes mutualísticas (Memmot 1999, Memmott and Waser 2002, Jordano et al. 2003, Vázquez and Aizen 2004, Thompson 2006, Bascompte and Jordano 2007). As redes mutualistas formam padrões bem definidos e previsíveis de interdependência, fornecendo uma perspectiva de toda a comunidade e se tornando uma ferramenta para a conservação das espécies (Bascompte and Jordano 2007). Sendo assim, com a crescente preocupação com a preservação de ecossistemas, estes estudos se tornaram extremamente úteis.

Em redes mutualísticas, como as interações entre plantas e polinizadores, um grande número de ligações entre espécies pode ser estabelecido. Estas ligações podem ser suscetíveis a mudanças ocasionadas por alterações bióticas e abióticas como, por exemplo, variações ambientais e a introdução de espécies exóticas. Estas alterações podem levar a uma modificação na estrutura da rede, ou seja, a perda e/ou deslocamento de links entre as espécies (Aizen et al. 2012). Alterações na composição de espécies de plantas e/ou de polinizadores na comunidade têm a capacidade de alterar a frequência de interação entre os mesmos. Sendo assim, a avaliação da distribuição nas frequências de interação entre as espécies se torna uma ferramenta útil para entender a dinâmica das comunidades (Kay and Schemske 2004). Ainda neste contexto alguns autores afirmam que as análises de estruturas de redes podem permitir

inferências ou até mesmo previsões sobre as consequências de perturbações como, por exemplo, a extinção de espécies (Pascual and Dunne 2006).

Com os estudos de redes de interações que vêm sendo realizados, principalmente entre planta-polinizador, diversos índices para elucidar questões ecológicas foram desenvolvidos. Um deles é o índice de aninhamento da rede (Bascompte et al. 2003, Almeida-Neto and Ulrich 2011), que considera a distribuição dos links que representam as interações entre as espécies. Os trabalhos sobre redes de interações têm revelado diferentes propriedades, podendo apresentar uma estrutura compartimentalizada, aninhada, em gradiente ou combinada (Lewinsohn et al. 2006a, 2006b). As redes mutualísticas costumam apresentar um padrão aninhado recorrente (Bascompte et al. 2003; Figura 1), caracterizado por um núcleo coeso onde as espécies generalistas interagem entre si, ao qual as demais espécies se conectam (Pigozzo and Viana 2010). No entanto as redes de interações não mutualistas são usualmente não aninhadas (Bascompte et al. 2003).

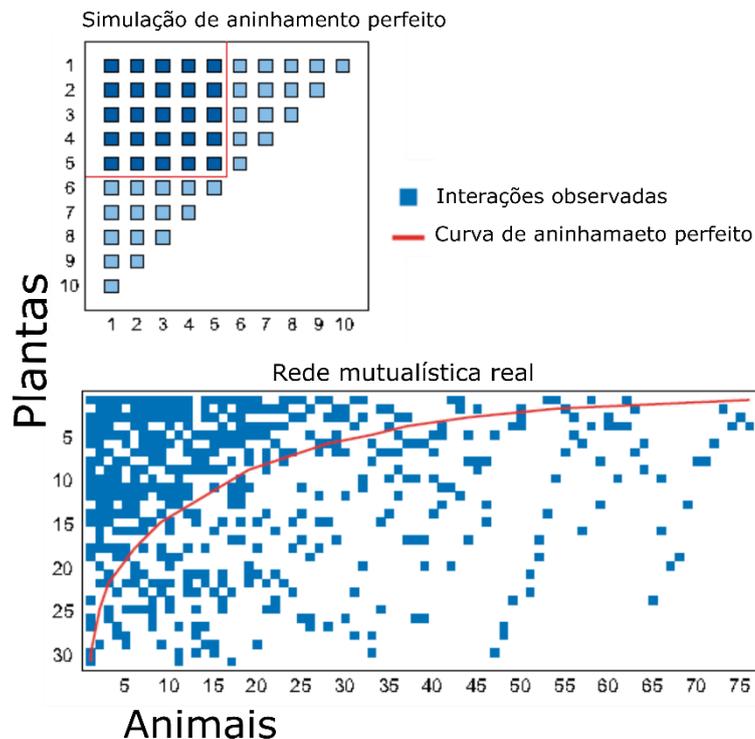


Figura 1: padrão recorrente de aninhamento encontrado para redes mutualísticas. Fonte: modificado de Bascompte and Jordano 2007.

Além do índice de aninhamento, outros índices foram desenvolvidos, tais como centralidade (Dormann 2011), robustez (Solé and Montoya 2001, Dunne et al. 2002, Memmott et al. 2004) e conectância. O índice de centralidade é utilizado para identificar as espécies-chave presentes na rede. Espécie-chave é aquela cuja atividade e abundância determina a integridade da comunidade e sua persistência inalterada ao longo do tempo, ou seja, mantém a sua estabilidade (Paine 1969). A medida de robustez da rede indica quão sensível é a rede às extinções de espécies. Já a conectância se dá pela razão entre o número de interações existentes e o número total de interações possíveis. Ou seja, ela mede o percentual de interações que ocorrem em uma rede e revela sua coesão.

Existem alguns trabalhos que demonstram como estes índices funcionam e são utilizados para mostrar os padrões formados pelas diferentes redes. Em um trabalho realizado por Pigozzo e Viana (2010), em um ambiente de caatinga na Bahia, foi analisada uma rede de interações entre plantas e a apifauna visitante. A rede compreendeu 70 espécies de abelhas e 40 espécies botânicas. Dentre as 296 interações realizadas, 28% foram estabelecidas por abelhas eussociais (*Apis mellifera*; *Trigona spinipes* e *Frieseomelitta doederleini*), revelando o caráter predominantemente generalista das interações nessa rede, uma vez que essas abelhas são tipicamente generalistas no uso de recursos e seleção do habitat. A conectância encontrada para a rede (das 2.800 interações possíveis, 10,6% foram estabelecidas) foi similar às conectâncias calculadas para outras redes estabelecidas entre abelhas e flores em áreas abertas. Em ambientes de Restinga, das 1.044 interações possíveis, 13,9% foram encontradas (Viana and Kleinert 2006) e para Caatinga das 1.722 interações possíveis, 13,9% aconteceram (Rodarte et al. 2008). Porém, a conectância encontrada, foi menor do que os valores obtidos por Biesmeijer et al. (2005) para diversos biomas brasileiros (Pigozzo and Viana 2010).

Memmott et al. (2004) tentaram explorar os padrões de extinção em duas grandes redes de plantas e visitantes florais, simulando a remoção de polinizadores e a consequente perda das espécies vegetais que dependem destes polinizadores para a reprodução. Em cada rede foram removidos polinizadores sistematicamente, do mais especializado ao mais generalista e do mais generalista ao mais especializado. A diversidade de espécies de plantas declinou mais rapidamente com a remoção preferencial dos polinizadores mais generalistas. Em ambas as redes de polinização, os polinizadores mais ligados foram as mamangabas e algumas abelhas solitárias. Os autores ressaltam que estes animais devem receber atenção especial nos esforços de conservação em sistemas de polinização temperados.

González (2010) analisou 34 redes de polinização a partir de uma variedade de regiões climáticas em diferentes altitudes, incluindo algumas redes em ilhas. Para cada espécie foi medido o nível de generalização e centralidade. Foi observado que a maioria das espécies é importante para a conectância global da rede, ao passo que apenas 40% das espécies mais generalistas desempenham um papel chave como conectores. Em geral, para que uma espécie seja um conector, ela deve interagir com quase metade das outras espécies na rede. Os dados mostraram que as espécies generalistas conectam os subgrupos da rede e a sua extinção pode levar à fragmentação da comunidade.

Sendo assim, estas métricas são capazes de fornecer diversas informações ecológicas e evolutivas que são responsáveis pela geração de padrões recorrentes em redes que envolvam diferentes táxons em diferentes localidades (Bascompte et al. 2003, Lewinsohn et al. 2006b, Bascompte and Jordano 2007). Além disto, o fato de as redes mutualísticas formarem padrões bem definidos e previsíveis de interdependência fornece uma perspectiva de toda a comunidade como ferramenta para a conservação da biodiversidade (Bascompte and Jordano 2007).

Os visitantes florais: quem são e o que eles procuram nas flores?

Existem quatro ordens principais de Hexapoda que fazem parte da gama de insetos que visitam as flores: Lepidoptera (Cruden and Hermann-Parker 1979), Coleoptera (Armstrong and Irvine 1989, Thien et al. 2000), Hymenoptera, onde se destacam as abelhas (Janzen 1971), e Diptera (Thien et al. 2000, Rech et al. 2014). Mas nem todos os insetos que visitam as flores polinizam e nem todos os polinizadores são insetos, como é o caso de alguns lagartos (Olesen and Valido 2003), aves (Roubik 1982, Sazima et al. 1994) e mamíferos, especialmente os morcegos (Baker and Harris 1957, Heithaus et al. 1974, Sazima and Sazima 1978), roedores e marsupiais (Janson et al. 1981).

Os polinizadores desempenham um papel funcional chave na maioria dos ecossistemas terrestres e para a manutenção das comunidades de plantas (Ashman et al. 2004, Aguilar et al. 2006). A busca pelos diferentes recursos florais, dos quais os animais se utilizam, resulta em diferentes categorias (síndromes) de polinização. O conjunto de espécies que subsiste de um mesmo tipo de recurso e que o explora de forma similar é denominado de guilda. Ou seja, é um agrupamento que tem como base a similaridade no uso de recursos pelas espécies (Simberloff and Dayan 1991). Um tipo funcional constitui um conjunto de espécies com respostas similares às condições ambientais ou com efeitos semelhantes em determinado processo ecossistêmico (Podgaiski et al. 2011) como, por exemplo, o processo de polinização.

Na psicofilia (polinização por borboletas) o forrageio é em busca de néctar, as flores geralmente apresentam o néctar no fundo do tubo da corola, onde apenas um aparato bucal especializado pode alcançar (Cruden and Hermann-Parker 1979). Na cantarofilia (polinização por coleópteros) as flores têm odores frutados ou desagradáveis. As câmaras florais, formadas pelas pétalas, geralmente exalam esses odores específicos que atraem os besouros. No interior destas flores os besouros são protegidos da luz do dia e de predadores, encontrando alimento

(tecidos e pólen), bem como oportunidade de acasalamento (Gottsberger 1977, 1999, Armstrong and Irvine 1989). Já na melitofilia (polinização por abelhas) o principal recurso é o alimento, que inclui pólen, néctar e óleo. No entanto, as abelhas procuram outros recursos florais por serem utilizados como componentes das células de cria (óleo, resina), na construção dos ninhos (resina) e no comportamento reprodutivo (perfumes) (Rech et al. 2014). Já as vespas geralmente visitam flores em busca de néctar para sua própria alimentação ou manutenção da colônia (nas espécies sociais) e, nesse processo, transportam o pólen sobre o corpo (Somavilla and Köhler 2012) Rech et al. 2014). Na miofilia (polinização por moscas), alguns grupos, como Syrphidae, especializaram-se em se alimentar quase exclusivamente de recursos florais, como néctar e pólen (Rech et al. 2014).

Em 2008 foi realizado um trabalho em uma comunidade campestre do P. E. de Itapuã (Rio Grande do Sul, Brasil), onde o objetivo foi identificar as espécies de insetos visitantes das flores, as espécies vegetais utilizadas como fontes de alimento e os recursos florais que são utilizados por estes animais. Foram utilizadas flores de 106 espécies de angiospermas (73 gêneros e 34 famílias) como fontes de recursos florais para 219 espécies e 2.767 espécimes de insetos. Como resultados, 91,5% das espécies vegetais foram visitadas por abelhas, 53,8% por moscas, 34,9% por vespas, 22,6% por borboletas e 12,3% por besouros. O néctar foi o principal recurso consumido pelos visitantes (41,1%). Asteraceae foi a família botânica mais rica (38 spp.) e a mais visitada, com 63,1% das espécies e 49,5% de todos os espécimes de insetos registrados. Além disto, as abelhas foram os insetos mais representativos (33,2% spp., 65% indiv.; Pinheiro et al. 2008).

O estado atual de riqueza e diversidade de visitantes florais no globo

Os polinizadores desempenham um papel funcional chave na maioria dos ecossistemas terrestres, o qual é vital para a manutenção das comunidades de plantas silvestres (Ashman et

al. 2004, Aguilar et al. 2006) e também para a produtividade agrícola (Klein et al. 2007, Ricketts et al. 2008). Os insetos, especialmente as abelhas, são os principais polinizadores da maioria das culturas agrícolas e plantas selvagens. Os serviços de polinização dependem tanto das populações de polinizadores domésticos quanto das populações de polinizadores selvagens (Potts et al. 2010a).

Dentre todos os grupos animais, os insetos são o grupo com maior número de indivíduos e espécies. Estes animais podem ser encontrados nos mais diversos ambientes. Do total de 1,5 milhão de espécies de animais descritas em todo o mundo, 865 mil são insetos (Wilson 1999). O número de espécies de insetos descritas em um período de 18 anos (1980 a 1998) sofreu um acréscimo de 114 mil, uma média de 7.700 espécies novas por ano (Wilson 1999). Uma estimativa do número real de espécies de insetos feita pelo *Global Biodiversity Assessment* em 1995, chega ao número de 10 milhões (Watson et al. 1995). O Brasil destaca-se por ser um dos mais ricos países em termos de biodiversidade. Lewinsohn e Prado estimam que, para o Brasil, sejam conhecidas entre 91 a 126 mil espécies de insetos (Lewinsohn and Prado 2002).

Em 1991 Gaston fez uma estimativa da riqueza global de espécies descritas das principais ordens de insetos. Este trabalho traz a ordem Coleoptera com o maior número de espécies descritas, cerca de 370.000. Logo após vem Diptera e Lepidoptera com cerca de 120.000 espécies, seguidos por Hymenoptera com cerca de 130.000 espécies (Gaston 1991).

No entanto, a partir de 1990 diversas mudanças antropogênicas resultaram em reduções substanciais na biodiversidade de muitos táxons de vertebrados (Pimm et al. 1995) e também de insetos (Thomas et al. 2004). Vários estudos têm mostrado um declínio acentuado no número de polinizadores em todo o mundo (Biesmeijer et al. 2006, Martins and Melo 2010, Potts et al. 2010a, Burkle et al. 2013). Há uma clara evidência de declínios regionais

graves no número de abelhas domésticas nos EUA (perda de 59% das colônias entre 1947 e 2005 [National Research Council 2007, VanEngelsdorp et al. 2008]) e na Europa (perda de 25% das colônias na Europa Central entre 1985 e 2005 [Potts et al. 2010b]).

Efeitos da matriz urbana sobre a biodiversidade e as redes de interação

O declínio de polinizadores no globo tem como principal causa a ação do homem (Kearns et al. 1998, Delariva and Agostinho 1999, Biesmeijer et al. 2006, Grixti et al. 2009, Martins and Melo 2010). A globalização tem sido relatada como uma das principais causas da introdução de plantas e animais exóticos (Banks et al. 2015, Capinha et al. 2015), e há estudos que indicam que o aquecimento global facilita a expansão e o estabelecimento das espécies exóticas (Tylianakis et al. 2008, Walther et al. 2009). Dentre as principais causas do declínio de polinizadores está a destruição e fragmentação de habitat, envolvendo principalmente a urbanização (Kearns et al. 1998, Biesmeijer et al. 2006, Martins and Melo 2010). As atividades humanas, tais como a crescente expansão de áreas urbanas e de fronteiras agrícolas, geram modificações extensivas e drásticas, da paisagem e meio ambiente (Ahrné et al. 2009). É provável que a urbanização cresça cada vez mais no futuro, juntamente com o aumento da população humana (McKinney 2006). Edifícios, estradas e áreas industriais em conjunto são frequentemente denominadas áreas impermeáveis para a fauna, e, conseqüentemente, aumentam com a crescente diminuição de áreas verdes (Ahrné et al. 2009). Esta devastação e fragmentação de habitat geram, portanto, conseqüências graves para a fauna e flora. O conhecimento da resposta a esta devastação em abelhas selvagens ainda está bastante limitado (Cane 2001, Steffan-Dewenter et al. 2002, Bhattacharya et al. 2003, Ahrné et al. 2009). Em um trabalho com abelhas e vespas realizado em Belo Horizonte (Brasil), a abundância de abelhas eusociais sem ferrão foi negativamente afetada pela perda da cobertura vegetal e o

aumento de edifícios associados à urbanização (Zanette et al. 2005). Outro estudo mais recente realizado no interior da cidade de Estocolmo (Suécia) com abelhas *Bombus* também relatou uma diminuição da diversidade de abelhas com o aumento da urbanização (Ahrné et al. 2009).

Além do estudo da fragmentação de habitat sobre populações de polinizadores ainda estar limitado, a maioria destes estudos é direcionado apenas para espécies de abelhas (Cane 2001, Steffan-Dewenter et al. 2002, Bhattacharya et al. 2003, Zanette et al. 2005, Ahrné et al. 2009). Somente mais recentemente os pesquisadores começaram a avaliar o efeito da urbanização sobre comunidades inteiras de polinizadores através da análise de estrutura de rede (Geslin et al. 2013). Biesmeijer e colaboradores (2005) revelaram que o grau de conectância de rede entre abelhas e plantas é influenciado por mudanças estruturais do ambiente, em diferentes biomas e também em ambientes urbanos. A conectância das redes entre abelhas sociais e plantas variou entre habitats brasileiros de cerrado, mata atlântica, ambientes urbanos, dunas e caatinga.

Geslin (2013) utilizou uma abordagem experimental para analisar como níveis crescentes de urbanização geram impacto em redes mutualísticas planta-polinizador. Os resultados demonstraram que a urbanização afeta negativamente não só o número de interações entre polinizadores e plantas, mas também a diversidade destas interações. Ainda neste contexto, os últimos trabalhos sobre o impacto das áreas urbanas sobre redes de interação entre organismos não são somente focados em redes mutualísticas, como as redes planta-polinizador. Um estudo realizado por Calegari-Marques e Amato (2014), no município de Porto Alegre, mostrou que as redes de interação parasito-hospedeiro são diretamente afetadas pela substituição de ambientes naturais por edifícios. Esta substituição de ambiente rompe as interações parasito-hospedeiro (Calegari-Marques and Amato 2014).

Portanto, a fragmentação de habitat e a constante substituição de áreas naturais por matriz urbana prejudicam não só a riqueza e diversidade de organismos como também altera a dinâmica de interações entre os mesmos. Neste contexto, os remanescentes de áreas naturais de Porto Alegre se tornam uma boa ferramenta para avaliar o efeito do isolamento dentro a urbana sobre comunidades naturais.

O ecossistema campestre e os campos dos morros de Porto Alegre

Os ecossistemas campestres cobrem em torno de 40% da superfície da terra e são caracterizados pela alta diversidade de plantas herbáceas e lenhosas de porte pequeno. Estes ecossistemas são marcados por distúrbios, como pastejo e fogo e, ainda, climas secos e/ou frios. Estas características em conjunto fazem com que se mantenha a fisionomia marcante da paisagem campestre (White et al. 2000, Cordova 2009). O bioma Pampa, que se estende desde a metade sul do estado do Rio Grande do Sul até Uruguai, Argentina e Paraguai, é bastante heterogêneo, contendo diferentes tipos de solo, relevo e fitofisionomias (Boldrini et al. 2010). Os campos sulinos estão distribuídos nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul e são componentes importantes na paisagem e na economia destes estados (Overbeck et al. 2007).

Os campos dos morros de Porto Alegre estão inseridos no bioma Pampa. Estes morros fazem parte de uma unidade granítica que foi formada em um mesmo evento geológico. Este evento ocorreu pela colisão de duas placas tectônicas há cerca de 800 milhões de anos. O conjunto de morros de Porto Alegre, de modo geral, está localizado em faixas de direção nordeste/sudoeste. Tais feições possuem altitudes predominantes entre 210 a 240 m e declividades médias entre 10% a 20% (Setubal et al. 2011).

Por detrás de uma fitofisionomia aparentemente monótona e homogênea, os campos dos morros de Porto Alegre apresentam uma alta riqueza de espécies e diversidade de plantas. Nos morros ocorrem 737 espécies de plantas nativas (somente angiospermas), correspondendo a 28% das cerca de 2.600 espécies campestres com registro conhecido no RS (Setubal et al. 2011). Em Porto Alegre, as famílias botânicas com maior número de espécies campestres são representadas pelas compostas (Asteraceae), gramíneas (Poaceae), leguminosas (Fabaceae) e ciperáceas (Cyperaceae), as quais correspondem por aproximadamente 60% do total de espécies campestres dos morros. Apesar do maior número de espécies ser representante da família das Asteraceae (25% do total), as espécies de gramíneas (20%) possuem maior abundância, dominando a cobertura vegetal e determinando a fitofisionomia desta vegetação (Setubal et al. 2011).

Os campos do Rio Grande do Sul são ecossistemas extremamente ricos e diversos, abrigando uma flora bastante específica. Das 2.148 espécies, 341 são espécies endêmicas. Em Porto Alegre ocorrem 44 das 341 espécies endêmicas. Além das espécies endêmicas, nos morros também são encontradas espécies de plantas raras e ameaçadas de extinção (Setubal et al. 2011). Os remanescentes de vegetação natural de Porto Alegre, hoje, estão quase totalmente restritos às cadeias de morros graníticos, com exceção da zona rural que ainda tem boa parte da sua vegetação original.

Objetivo

O objetivo central da pesquisa foi avaliar o efeito que as áreas urbanas têm sobre as redes de interação entre plantas e seus visitantes florais em áreas inseridas em diferentes graus de urbanização.

Previsões

- A urbanização tem um efeito negativo na estrutura das redes de interação
- Áreas próximas da urbanização terão menor riqueza de espécies
- Áreas mais afastadas da urbanização terão um maior nível de especialização das redes

Locais de coleta

O presente trabalho foi realizado em quatro áreas com remanescentes campestres naturais na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil (Figura 2).

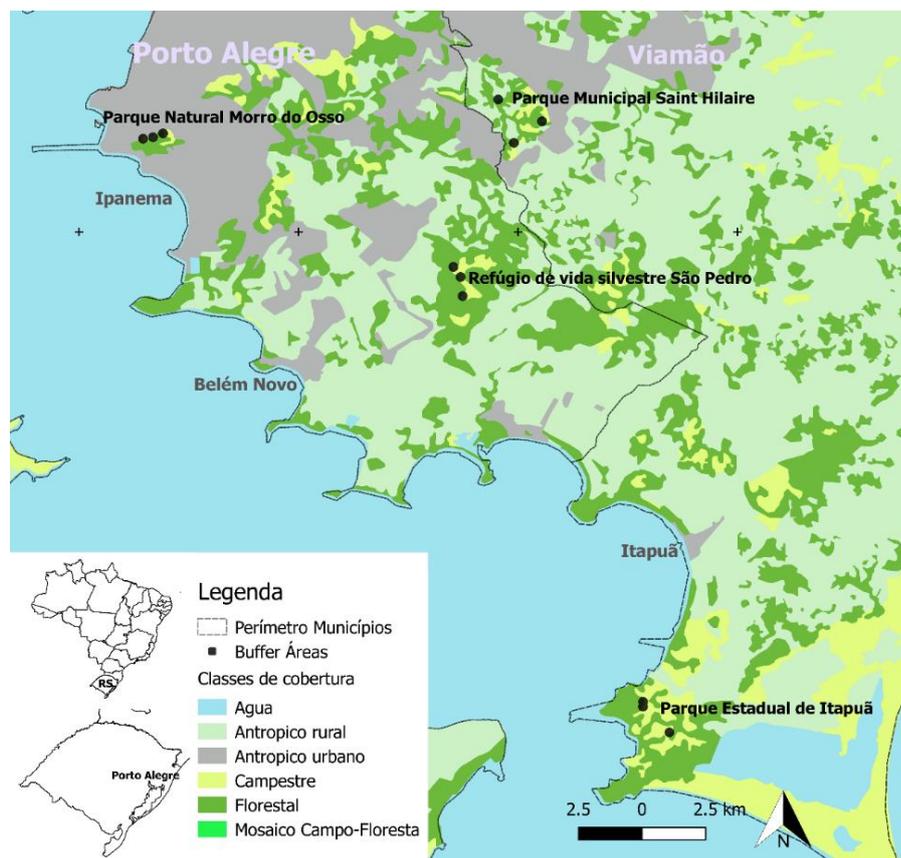


Figura 2: localização das áreas de estudo. Classes de cobertura vegetal atual do Rio Grande do Sul adaptadas de Cordeiro e Hasenack 2009.

O primeiro fragmento é Parque Natural Morro do Osso (PNMO; Figura 3), localizado na zona sul do município de Porto Alegre. Este morro possui 143 m de altura, faz parte da

cadeia dos morros graníticos de Porto Alegre e localiza-se próximo à margem do Lago Guaíba. Possui 220 ha de área natural, a qual constitui-se em um importante reduto biológico, praticamente isolado pela urbanização dos bairros Tristeza, Ipanema, Camaquã e Cavallhada. Atualmente, o parque abrange uma área de 57 ha, já desapropriados, com ampliação prevista pelo Plano Diretor para 127 hectares. Aproximadamente 60% da vegetação natural do Morro do Osso é constituída por formações florestais de dois tipos: a floresta alta e a floresta baixa. O restante é constituído por comunidades herbáceo-arbustivas, formadas pelos campos pedregosos e pelas capoeiras e vassourais (Sestren-Bastos 2006).



Figura 3: localização do Parque Natural Morro Osso ($30^{\circ}06'55.58''S$ $51^{\circ}14'17.57''O$), o qual se encontra imerso em matriz urbana. Os círculos brancos (1-3) mostram as respectivas áreas de amostragem.

A segunda área está situada no Parque Municipal Saint'Hilaire (Figura 4). O Parque Natural Municipal Saint'Hilaire é uma Unidade de Conservação da Natureza do grupo de Proteção Integral de 1.148 ha. A Prefeitura de Porto Alegre adquiriu a área em 1944, com fins de proteção da qualidade ambiental da bacia hidrográfica e suas águas, sendo então administrado pelo Departamento Municipal de Água e Esgotos da Secretaria Municipal de Obras e Viação (Smov). Com a criação da Secretaria Municipal do Meio Ambiente de Porto

Alegre (Smam), em 1977 o Parque passou a ser administrado por esta secretaria sob a denominação de “Parque Saint’Hilaire”, sendo separado em duas áreas: uma de Preservação Permanente com 950 ha e outra de 230 ha destinada à recreação pública.



Figura 4: localização do Parque Saint’Hilaire ($30^{\circ}06'04.47''S$ $51^{\circ}05'45.12''O$), o qual encontra-se rodeado por matriz urbana. Os círculos brancos (1-3) mostram as respectivas áreas de amostragem.

Estas áreas possuem uma característica em comum, que é a grande urbanização no seu entorno. A expansão das áreas urbanas em Porto Alegre vem crescendo cada vez mais e há um interesse político e econômico cada vez maior na zona sul da cidade, onde ainda temos a vegetação original. Portanto, é imprescindível a conscientização da população para conservar os remanescentes naturais que ainda restam.

As outras duas áreas estão localizadas em uma região mais afastada dos aglomerados urbanos. Uma delas, o Morro São Pedro, está situada na zona rural do município de Porto Alegre e a outra, o Parque Estadual de Itapuã, já pertencente ao município de Viamão. O Morro São Pedro e está inserido no maior fragmento de Mata Atlântica de Porto Alegre, com vegetação florestal e campestre (Smam 2017; Figura 5). O Parque Estadual de Itapuã (Figura 6), fica a 57 km do centro de Porto Alegre, sendo uma Unidade de Conservação de Proteção

Integral que abriga uma das últimas amostras dos ambientes originais da região metropolitana da capital gaúcha (SEMA 2010).



Figura 5: localização do Morro São Pedro ($30^{\circ}10'34.73''S$ $51^{\circ}06'27.23''O$), o qual encontra-se em uma transição de área urbana para rural. Os círculos brancos (1-3) mostram as respectivas áreas de amostragem.

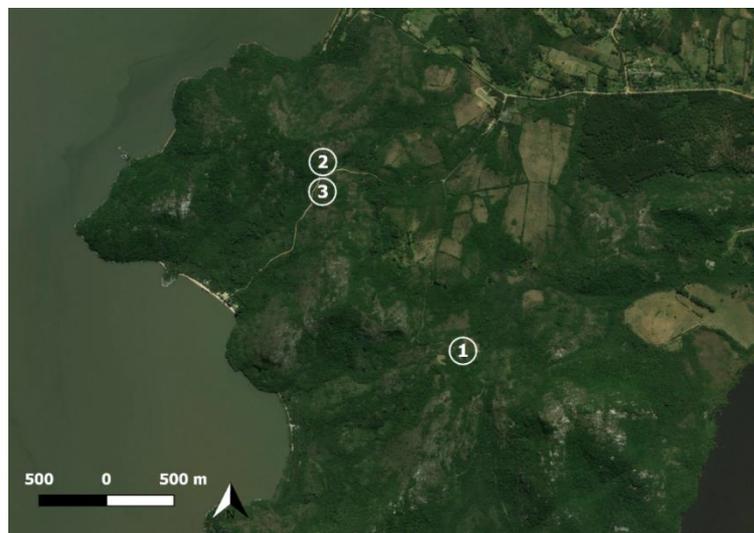


Figura 6: localização do Parque Estadual de Itapuã ($30^{\circ}22'07.43''S$ $51^{\circ}01'48.63''O$), o qual encontra-se em área rural rodeada pelo lago guaíba. Os círculos brancos (1-3) mostram as respectivas áreas de amostragem.

Delineamento amostral

Em cada área foram demarcados, com o auxílio de um GPS, três pontos centrais a partir dos quais foram feitas parcelas circulares de 100 metros de raio. Estas três parcelas foram alocadas em matriz campestre, com uma distância mínima de 200 m entre si. Em cada parcela, a amostragem consistiu da observação focal de plantas em fase reprodutiva e o tempo de permanência em cada indivíduo para a coleta e observação de visitantes florais foi de 10 minutos. A amostragem foi realizada em três períodos: manhã, meio do dia e tarde, intercalando os horários a fim de amostrar todas as parcelas em todos os horários. Para cada observação foi coletada uma amostra da espécie vegetal, como material testemunho.

Foram realizados dois dias de coleta em cada área por mês, totalizando oito dias de coleta no mês. O período de coleta teve início em setembro de 2016 e encerramento em março de 2017, totalizando sete meses de coleta. O esforço amostral total foi de 207 horas de observação focal.

Os visitantes florais foram coletados com o auxílio de uma rede entomológica e colocados em frascos contendo acetato de etila para conservação (Azevedo Filho & Prates Júnior 2000). O material foi levado para laboratório, onde foi feita a separação e morfoespeciação. Os coleópteros e abelhas foram morfoespeciados (alguns identificados em nível específico) por especialistas. Todas as coletas (animais e vegetais) foram depositadas nas coleções do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS.

Em cada parcela foi realizado levantamento quali-quantitativo da vegetação (fitossociologia). Esta etapa consistiu em elaborar uma listagem das espécies vegetais observadas na área. Neste método é feita uma parcela de 10 x 10 m e todos os indivíduos dentro desta parcela são identificados e têm sua cobertura estimada através da escala de Londo (Mueller-Dumbois & Ellenberg 1974, Pielou 1975, Londo 1976). Foram amostrados

também dados da estrutura da vegetação como descritores de heterogeneidade local de habitat (altura da vegetação). Estes dados foram utilizados como parte do conjunto de variáveis explanatórias para os padrões de rede observados.

Referências

Aguilar, R., L. Ashworth, L. Galetto, and M. A. Aizen. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters* 9:968–980.

Ahrné, K., J. Bengtsson, and T. Elmqvist. 2009. Bumble bees (*Bombus* spp) along a gradient of increasing urbanization. *PLoS ONE* 4:e5574.

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.

Almeida-Neto, M., and W. Ulrich. 2011. A straightforward computational approach for measuring nestedness using quantitative matrices. *Environmental Modelling & Software* 26:173–178.

Armstrong, J. E., and A. K. Irvine. 1989. Floral biology of *Myristica insipida* (Myristicaceae), a distinctive beetle pollination syndrome. *American Journal of Botany* 76:86.

Ashman, T.-L., T. M. Knight, J. A. Steets, P. Amarasekare, M. Burd, D. R. Campbell, M. R. Dudash, M. O. Johnston, S. J. Mazer, R. J. Mitchell, M. T. Morgan, and W. G. Wilson. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85:2408–2421.

Baker, H. G., and B. J. Harris. 1957. The pollination of *Parkia* by bats and its attendant evolutionary problems. *Evolution* 11:449.

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., 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 of the United States of America* 100:9383–9387.

Bhattacharya, M., R. B. Primack, and J. Gerwein. 2003. Are roads and railroads barriers to bumblebee movement in a temperate suburban conservation area? *Biological Conservation* 109:37–45.

Biesmeijer, J. C., E. J. Slaa, M. S. de Castro, B. F. Viana, A. de M. P. Kleinert, and V. L. Imperatriz-Fonseca. 2005. Connectance of Brazilian social bee: food plant networks is influenced by habitat, but not by latitude, altitude or network size. *Biota Neotropica* 5:85–93.

Biesmeijer, J. C., S. P. M. Roberts, M. Reemer, R. Ohlemüller, M. Edwards, T. Peeters, A. P. Schaffers, S. G. Potts, R. Kleukers, C. D. Thomas, J. Settele, and W. E. Kunin. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313:351–354.

Burkle, L. A., J. C. Marlin, and T. M. Knight. 2013. Plant-pollinator interactions over 120 years: loss of species, co-occurrence, and function. *Science* 339:1611–1615.

Calegario-Marques, C., and S. B. Amato. 2014. Urbanization breaks up host-parasite interactions: a case study on parasite community ecology of rufous-bellied thrushes (*Turdus rufiventris*) along a rural-urban gradient. *PLoS ONE* 9:e103144.

Cane, J. H. 2001. Habitat fragmentation and native bees: a premature verdict? *Ecology and Society* 5:1–10.

- Cordeiro, J. L. P., and H. Hasenack. 2009. Cobertura vegetal atual do Rio Grande do Sul. Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade. 285–299.
- Cordova, C. 2009. Grasslands and Grassland Ecology by Gibson, David J. *Journal of Vegetation Science* 20:1191–1191.
- Cruden, R. W., and S. M. Hermann-Parker. 1979. Butterfly pollination of *Caesalpinia Pulcherrima*, with observations on a psychophilous syndrome. *The Journal of Ecology* 67:155.
- Dormann, C. F. 2011. How to be a specialist ? Quantifying specialisation in pollination networks. *Network Biology* 1:1–20.
- Dunne, J. A., R. J. Williams, and N. D. Martinez. 2002. Network structure and biodiversity loss in food webs: Robustness increases with connectance. *Ecology Letters* 5:558–567.
- Gaston, K. J. 1991. The magnitude of global insect species richness. *Conservation Biology* 5:283–296.
- Geslin, B., B. Gauzens, E. Thébault, and I. Dajoz. 2013. Plant pollinator networks along a gradient of urbanisation. *PLoS ONE* 8:e63421.
- Gottsberger, G. 1977. some aspects of beetle pollination in the evolution of flowering plants. Pages 211–226. *Flowering Plants*. Springer Vienna, Vienna.
- Gottsberger, G. 1999. Pollination and evolution in neotropical Annonaceae. *Plant Species Biology* 14:143–152.
- Grixti, J. C., L. T. Wong, S. A. Cameron, and C. Favret. 2009. Decline of bumble bees (*Bombus*) in the North American Midwest. *Biological Conservation* 142:75–84.

- Heithaus, E. R., P. A. Opler, and H. G. Baker. 1974. Bat activity and pollination of *Bauhinia Pauletia*: plant-pollinator coevolution. *Ecology* 55:412–419.
- Janson, C. H., J. Terborgh, and L. H. Emmons. 1981. Non-flying mammals as pollinating agents in the amazonian Forest. *Biotropica* 13:1.
- Janzen, D. H. 1971. Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. *Science, New Series* 171:203–205.
- Jordano, P. 2000. Fruits and frugivory. Pages 125-166 in M. Fenner, editor. *Seeds: the ecology of regeneration in natural plant communities*, 2nd edition. CABI Publ., Wallingford, UK.
- Jordano, P., J. Bascompte, and M. J. Olesen. 2003. Invariant properties in coevolutionary networks of plant – animal interactions. *Ecology letters* 6:69–81.
- Kay, K. M., and D. W. Schemske. 2004. Geographic patterns in plant–pollinator mutualistic networks: comment. *Ecology* 85:875–878.
- Kearns, A. C., W. D. Inouye, and N. M. Waser. 1998. Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:83–112.
- 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* 274:66, 95–96, 191.
- Lewinsohn, T. M., P. Inácio Prado, P. Jordano, J. Bascompte, and J. M. Olesen. 2006a. Structure in plant-animal interaction assemblages. *Oikos* 113:174–184.

- Lewinsohn, T. M., R. D. Loyola, and P. I. Prado. 2006b. Matrizes, redes e ordenações: a detecção de estrutura em comunidades interativas. *Oecologia Brasiliensis*, ISSN-e 1981-9366, Vol. 10, No. 1, 2006 (Exemplar dedicado a: II Simpósio de Ecologia Teórica) 10:6.
- Lewinsohn, Thomas M. Prado, P. I. 2002. Biodiversidade Brasileira: Síntese do estado atual do conhecimento. Editora Contexto, São Paulo.
- Londo, G. 1976. The decimal scale for relevés of permanent quadrats. *Vegetatio* 33:61–64.
- Martins, A. C., and G. A. R. Melo. 2010. Has the bumblebee *Bombus bellicosus* gone extinct in the northern portion of its distribution range in Brazil? *Journal of Insect Conservation* 14:207–210.
- McKinney, M. L. 2006. Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological Conservation* 127:247–260.
- Memmott, J., and N. M. Waser. 2002. Integration of alien plants into a native flower-pollinator visitation web. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 269:2395–9.
- Memmott, J., N. M. Waser, and M. V Price. 2004. Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 271:2605–11.
- Mueller-dumbois, D., and H. Ellenberg, 1974. *Aims and methods of vegetation ecology*. John Wiley & Sons, New York. 574p.
- Nabhan, G. P., and S. L. Buchmann, 1997. Services provided by pollinators. Pages 133–150 in G. Daily, editor. *Nature's services*. Island Press, Washington, D.C.
- National Research Council. 2007. *Status of pollinators in north america*. The National Academies Press, Washington, D.C.

- Olesen, J. M., and A. Valido. 2003. Lizards as pollinators and seed dispersers: an island phenomenon. *Trends in Ecology and Evolution* 18:177–181.
- Paine, R. T. 1969. A note on trophic complexity and community stability. *The American Naturalist* 103:91–93.
- Paine, R. T. 1980. Food Webs: Linkage, Interaction Strength and Community Infrastructure. *The Journal of Animal Ecology* 49:666.
- Pascual, M., and J. A. Dunne. 2006. From small to large ecological networks in a dynamic world. In: Pascual, M. & Dunne, J. A. *Ecological Networks: Linking Structure to Dynamics in Food Webs*. First edition. Oxford University Press, New York.
- Pielou, E. C. 1975. *Ecological diversity*. John Wiley & Sons, New York. 165p.
- Pigozzo, C. M., and B. F. Viana. 2010. Estrutura da rede de interações entre flores e abelhas em ambiente de caatinga. *Oecologia Australis* 14:100–114.
- Pimm, S. L. 1979. The structure of food webs. *Theoretical Population Biology* 16:144–158.
- Pimm, S. L., G. J. Russell, J. L. Gittleman, and T. M. Brooks. 1995. The future of biodiversity. *Science (New York, N.Y.)* 269:347–50.
- Pinheiro, M., B. E. de Abrão, B. Harter-Marques, and S. T. S. Miotto. 2008. Floral resources used by insects in a grassland community in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 31:469–489.
- Podgaiski, L. R., M. de S. Mendonça, and V. D. Pillar. 2011. O uso de atributos funcionais de invertebrados terrestres na ecologia : o que , como e por quê ? *Oecologia Australis* 15:835–853.

- Potts, S. G., J. C. Biesmeijer, C. Kremen, P. Neumann, O. Schweiger, and W. E. Kunin. 2010a. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution* 25:345–353.
- Potts, S. G., S. P. M. Roberts, R. Dean, G. Marris, M. A. Brown, R. Jones, P. Neumann, and J. Settele. 2010b. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.02> 49:15–22.
- Ricketts, T. H., J. Regetz, I. Steffan-Dewenter, S. A. Cunningham, C. Kremen, A. Bogdanski, B. Gemmill-Herren, S. S. Greenleaf, A. M. Klein, M. M. Mayfield, L. A. Morandin, A. Ochieng', and B. F. Viana. 2008. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? *Ecology Letters* 11:499–515.
- Rodarte, A. T. A., F. O. da Silva, and B. F. Viana. 2008. A flora melitófila de uma área de dunas com vegetação de caatinga, Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 22:301–312.
- Roubik, D. W. 1982. The ecological impact of nectar-robbing bees and pollinating hummingbirds on a tropical shrub. *Ecology* 63:354–360.
- Sazima, M., and I. Sazima. 1978. Bat pollination of the passion flower, *Passiflora mucronata*, in Southeastern Brazil. *Biotropica* 10:100.
- Sazima, M., I. Sazima, and S. Buzato. 1994. Nectar by day and night: *Siphocampylus sulfureus* (Lobeliaceae) pollinated by hummingbirds and bats. *Plant Systematics and Evolution* 191:237–246.
- Secretaria Municipal do Meio Ambiente (Smam). Refúgio de Vida Silvestre São Pedro. Disponível em: http://www2.portoalegre.rs.gov.br/smam/default.php?p_secao=326 Acesso em: 19 de dezembro de 2017

- Simberloff, D., and T. Dayan. 1991. The guild concept and the structure of ecological communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22:115–143.
- Solé, R. V., and J. M. Montoya. 2001. Complexity and fragility in ecological networks. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 268:2039–45.
- Somavilla, A., and A. Köhler. 2012. Preferência Floral de Vespas (Hymenoptera, Vespidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomo Brasilis* 5:21–28.
- Steffan-Dewenter, I., U. Münzenberg, C. Bürger, C. Thies, and T. Tscharntke. 2002. Scale dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology* 83:1421–1432.
- Thien, L. B., H. Azuma, and S. Kawano. 2000. New Perspectives on the Pollination Biology of Basal Angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* 161:S225–S235.
- Thomas, C. D., A. Cameron, R. E. Green, M. Bakkenes, L. J. Beaumont, Y. C. Collingham, B. F. N. Erasmus, M. F. de Siqueira, A. Grainger, L. Hannah, L. Hughes, B. Huntley, A. S. van Jaarsveld, G. F. Midgley, L. Miles, M. A. Ortega-Huerta, A. Townsend Peterson, O. L. Phillips, and S. E. Williams. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature* 427:145–148.
- VanEngelsdorp, D., J. Hayes, R. M. Underwood, and J. Pettis. 2008. A survey of honey bee colony losses in the U. S., fall 2007 to spring 2008. *PLoS ONE* 3:e4071.
- Vázquez, D. P., and M. A. Aizen. 2004. Asymmetric specialization: a pervasive feature of plant–pollinator interactions. *Ecology* 85:1251–1257.
- Viana, B. F., and A. M. P. Kleinert. 2006. Structure of bee-flower system in the coastal sand dune of Abaeté, northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 50:53–63.
- Watson, R. T. et al. 1995. *Global biodiversity assessment: summary for policy-makers*. First edition. Cambridge University Press.

White, R. P., S. Murray, and M. Rohweder. 2000. Grassland ecosystems. World Resources Institute, Washington, DC.

Wilson, E. O. 1999. The diversity of life. W.W. Norton & Co. Inc., New York.

Zanette, L. R. S., R. P. Martins, and S. P. Ribeiro. 2005. Effects of urbanization on Neotropical wasp and bee assemblages in a Brazilian metropolis. *Landscape and Urban Planning* 71:105–121.

CAPÍTULO 2

Mutualistic networks in grassland fragments within an urban matrix

Neves MB¹, Ely CV², Esteves MW¹, Blochtein B³, Lahm RA⁴, Quadros ELL⁴, Ferreira PMA¹

¹: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Escola de Ciências, Laboratório de Ecologia de Interações, prédio 12, bloco C, sala 111, Porto Alegre, Brasil

²: Laboratório de Estudos em Vegetação Campestre/Grassland Vegetation Lab - UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9500, prédio 43432, Sala 109, Agronomia, Porto Alegre - RS - Brasil

³: Laboratório de Entomologia - Ecologia de Abelhas, sala 123, Museu de Ciências e Tecnologia, PUCRS, Porto Alegre - RS, Brasil

⁴: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Laboratório de Tratamento de Imagens e Geoprocessamento (L.T.I.G), Porto Alegre, Brasil

Short title: Mutualistic networks in urbanized grassland fragments

Corresponding author: Mariana Beal Neves

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Laboratório de Ecologia de Interações, prédio 12, bloco C, sala 111, Porto Alegre, RS, Brasil

E-mail: mariana.beal@acad.pucrs.br

Phone: (51)8169-6163

Manuscrito redigido no formato *Article* do periódico *Ecology*

Abstract

The mutualistic relationships play a key role in ecosystems as drivers of ecological and evolutionary processes. However, these relationships have been severely threatened by human-driven phenomena. This work aims to evaluate the influence of isolation of fragments caused by urban expansion on animal-plant mutualistic networks. We sampled floral visitors in 12 grassland fragments distributed in four hills inserted within an urban matrix in southern Brazil. Sampling was conducted in spring and summer, in one circular 1-hectare per fragment 2 days per month on each fragment. We sampled flower visitors (potential pollinators) with the focal method (10 minutes/plant; total sampling 207 hours). The degree of urbanization was estimated by calculating total urbanized area of one circular buffer of 2000 meters radius around each sampling point. We performed a quali-quantitative sampling of the vegetation as part of the explanatory variables for the observed network patterns. We constructed quantitative bipartite animal-plant interaction matrices for each plot, and calculated the following network metrics: weighted connectance, nestedness (NODF2), specialization (H_2') and *Apis mellifera* network degree, which is an important invasive species. We estimated correlation between urbanized area and each network metric with generalized linear models. We sampled 1240 plant individuals of 128 species and 1734 visitors. Plant richness was higher in more urbanized (isolated) fragments, as well as visitors richness. The degree of urbanization was positively correlated with weighted connectance and nestedness and negatively correlated with specialization and degree of *Apis mellifera*. The high species richness in more isolated areas is due to fire events, which maintains the physiognomy of the vegetation and provides resources for visitors. Higher specialization in less isolated areas implies in a greater variety of available resources, allowing for more specialized species to coexist. Here we suggest that networks may show increased nestedness and connectance in urbanized fragments to protect against disturbances, improving ecosystem stability. In

addition, the low degree of a super generalist and invasive species (*Apis mellifera*) in less urbanized areas indicates that a greater richness of native species and greater nestedness and connectance prevent an invasive species from settling with a higher degree in the network.

Key words: community ecology; habitat structure; landscape context; interaction webs; arthropods; pollination.

Introduction

The mutualistic relationships between plants and animals play a critical role in the dynamics and diversity of communities (Bawa 1990, Nabhan and Buchmann 1997, Jordano 2000). These relationships can be summarized as complex mutualistic networks of interacting organisms, which present recurrent structural patterns and provide valuable multi-taxonomic information that can be used as a tool to unravel ecological patterns and plan conservation efforts (Bascompte and Jordano 2007, Dormann et al. 2009).

Studies on the impact of human-driven phenomena on pollinating faunas have increased in the past few years, most of them focusing on the decrease in abundance and diversity of pollinators (Biesmeijer et al. 2006, Potts et al. 2010, Martins and Melo 2010, Burkle et al. 2013). Urbanization and habitat fragmentation are important drivers of these phenomena. However, factors such as the introduction of invasive species, like *Apis mellifera*, are also a cause in the decrease of populations of native bees (Ahrné et al. 2009).

In Brazil *A. mellifera* is present in all environments (urban, agricultural and natural in any state of preservation or degradation) (Roubik 1980). This species is also considered the species that competes more with native bees and is responsible for removing them from flowers and destabilizing pollination services in natural or converted environments (Roubik

1980), however the frequency and circumstances under which each category of mechanisms operates are also poorly known (Traveset and Richardson 2006).

Human activities, such as the increasing expansion of urban areas and agricultural frontiers, lead to extensive and drastic changes in landscapes (Ahrné et al. 2009).

Urbanization is likely to grow even further in the future, alongside the increasing human population (McKinney 2006). Buildings, roads and industrial areas are often defined as impermeable areas for wildlife, and consequently increase with the decrease of green areas (Ahrné et al. 2009). The loss of pollinators leads to a consequent loss of interactions in the network, which promotes cascading effects: once a species is lost, there is a tendency for other species to follow. The loss of mutualistic interactions leads to serious consequences in ecological and, in the long term, evolutionary processes (Bascompte and Jordano 2007, Tylianakis et al. 2008).

Some studies reveal that network connectance (the realized proportion of all possible links) between plants and pollinators is significantly influenced by environmental variables and also level of anthropization (Biesmeijer et al. 2005, Geslin et al. 2013). Mutualistic networks present a nested structure, which is a pattern of interaction in which specialists interact with species that form subsets of the species with which generalists interact (Bascompte and Jordano 2007). Nestedness plays an important role in increasing mutualistic-network stability (Bastolla et al. 2009, Saavedra et al. 2011, 2016, Suweis et al. 2013, Rohr et al. 2014). In pollination networks, nestedness may increase in response to increasing human impact on habitats (Takemoto and Kajihara 2016). This response may be related to persistence under stressful situations, since a highly connected and nested architecture promotes community stability in mutualistic networks (Thébault and Fontaine 2010).

Thus, habitat fragmentation and the constant replacement of natural areas by urban matrix not only affect the richness and diversity of organisms but also alter the interactions between them. The South Brazilian grasslands are a promising system to study animal-plant relationships due to their high diversity and richness in both taxonomic levels (Overbeck et al. 2007, Oleques et al. 2017). Moreover, this ecosystem is not adequately protected under current conservation policies, so it is very important to conduct research in this biome to raise public awareness regarding its value and vulnerability (Overbeck et al. 2007).

Here we use natural grassland remnants inserted in an urban matrix in South Brazil as a study system to evaluate the influence of the isolation caused by urban areas on animal-plant mutualistic networks. We expect (i) a greater species richness in areas less isolated by urbanization, and (ii) network metrics will vary according to the degree of isolation of fragments within the urban matrix, with more structured networks in less urbanized areas. We expect also a (iii) greater specialization level in less urbanized areas and (iv) a higher degree of *Apis mellifera* in more urbanized areas.

Methods

We sampled floral visitors in 12 natural grassland fragments (plots) in four hills/fragments inserted in the urban matrix of the metropolitan region of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil: Morro do Osso Natural Park (MO), Saint'Hilaire Municipal Park (SH), São Pedro Wildlife Refuge (SP) and Itapuã State Park (PI) (Figure 1). Grasslands in these hills are inserted in the Pampa biome which is characterized by high diversity of herbaceous plants (forbs and grasses) and shrubs. These hills are part of a granitic unit that was formed in the same geological event about 800 million years ago. The natural vegetation remnants of Porto Alegre today are almost totally restricted to the chains of granite hills and to the southern portion of the city (Figure 1).

Sampling was conducted from September 2016 to March 2017 in one 1-ha circular plot per fragment, with at least 200 meters between plots. Data was collected at least 2 days per month (during 7 months) in each fragment, alternating the sampling times between the plots of the same fragment during the day. We sampled flower visitors with the focal method (10 minutes of observation per plant; total sampling time = 207 hours). Although we sampled all floral visitors, we only included potential pollinators in the analyses. We considered as “potential pollinators” species that consumed floral resources or floral parts, spent time in contact with floral parts and those who are known to visit different plants. This criterion restricted visitors to the following orders: Hymenoptera, Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Orthoptera, Phasmatodea and Thysanoptera (Figure 2; Cruden and Hermann-Parker 1979, Gottsberger 1977, 1999, Sakai 2001, Micheneau et al. 2010, Somavilla and Köhler 2012, Rech et al. 2014). Observations were made prior to the collection of invertebrates. All floral visitors were morphotyped using morphological traits and all plants were identified to the species level by specialists (Cleusa Vogel Ely - UFRGS).

We estimated the degree of isolation of each fragment in the urban matrix by estimating the total urbanized area in a buffer of 2000 meters radius, later we used the logarithmic values of urbanized area in order to standardize the values. For these analyzes and map construction we used the QGIS software (QGIS Development Team, 2009). We used the coverage database of the municipality of Porto Alegre and adjacent municipalities were manually drawn using Google satellite images. All spatial analyzes were carried out in the Laboratory of Image Treatment and Geoprocessing (L.T.I.G) at PUCRS.

In each plot, a quali-quantitative sampling of the vegetation (phytosociology) was carried out. All plant species present in 1 x 1 m plots (10 per fragment) were identified and had their cover value estimated with Londo's scale (Mueller-Dumbois & Ellenberg 1974,

Pielou 1975, Londo 1976). Data from the plots were pooled in community matrices (one per area), and community descriptors were calculated and used as part of the set of explanatory variables for the observed network patterns. We calculated diversity index (Simpson-D) and non-parametric richness estimator (Chao) of plant communities in each plot/fragment.

For network analyses we used the R environment (R Core Team 2016) with packages *igraph* (Csárdi and Nepusz 2006) and *bipartite* (Dormann et al. 2008, 2009, Dormann 2011). We constructed quantitative bipartite animal-plant interaction matrices for each fragment and calculated independent network metrics for each fragment.

We calculated all metrics using the function *networklevel*, except to calculate *Apis mellifera* network degree to which we used the *specieslevel* function of the package *bipartite*. To estimate nestedness we used NODF2. NODF is a nestedness measure that does not have an overestimation problem and NODF2 is a variation that sorts the matrix before calculating the measure, so it is better suited for comparisons between different networks (Almeida-Neto and Ulrich 2011). We searched for relationships between urbanization (log values of urbanization coverage in 2000 meters radius) of plots and each network metric (weighted connectance, NODF2, H_2' and *Apis mellifera* network degree) and vegetation community descriptors using generalized linear models, assuming a probabilistic threshold of 95%.

Results

We sampled 1240 plant individuals distributed in 128 species. Total abundance of floral visitors was 1734 individuals (1118 Hymenoptera [64%], 389 Coleoptera [22%], 165 Diptera [10%], 12 Lepidoptera [1%], 13 Orthoptera [1%], 11 Phasmatodea [1%] and 26 Thysanoptera [1%]). Plant richness was higher in more urbanized fragments (glm $p=0.005$; Figure 3ab). However, we found no correlation between plant diversity (Simpson D) and

urbanized area (glm $p=0.20$; supplementary material [Figure 5]). In addition, the richness of visitor species also had a positive correlation with the urbanized area (glm $p=0.04$; Figure 3c).

All networks presented a positive nested pattern and the networks dimensions varied between the different fragments (Figure 4a). We found that urbanization was a good predictor of nestedness NODF2 (glm $p=0.02$) and weighted connectance (glm $p=0.02$; Figure 4b and supplementary material [Figure 6]). On the other hand we found a negative relationship between specialization (glm $p<0.001$) and degree of *Apis mellifera* (glm $p=0.004$) with urbanization cover (Figure 4b and supplementary material [Figure 7]).

Discussion

In this paper we evaluate the influence of the urban matrix on mutualistic networks present in natural grassland remnants. Regarding the lower trophic level, fragments more isolated by urbanization presented higher plant species richness. This pattern can be attributed to the fact that fragments inserted closer to urban areas are more likely to undergo frequent disturbance events such as accidental fires in comparison with fragments surrounded by natural vegetation. Grassland ecosystems are deeply linked to disturbance regimes that include grazing and fire. These regimes maintain the high species richness and vegetation physiognomy of these systems (White et al. 2000, Overbeck et al. 2005, 2007, Cordova 2009). In our study, all sampling sites were inserted in conservation units, which tend to exclude anthropogenic disturbances, prevent fire events and consequently affect the disturbance regime of the grasslands present in the areas. Despite this, the fragments more isolated by urbanization have a more recent accidental fire history, which explains the high richness of plant species.

The fact that areas closer to urban clusters have a greater plant species richness leads to a greater variety of resources for visitors, providing a greater visitor species richness as "bottom-up" effect (Hunter and Price 1992, Terborgh 2015).

In less isolated fragments we found a higher level of specialization (H_2). Ecological specialization in a network is defined by the number of realized links across all species in both trophic levels. The network-level specialization is unaffected by network size and form, and depicts biologically meaningful system-specific differences (Blüthgen et al. 2008). Specialists are usually better adapted to effectively use their selected resources. Therefore, in more preserved and less isolated areas, it is likely that more specialized interactions could be found. In less isolated areas species have a greater variety of available resources, allowing for more specialized species to coexist.

The asymmetric topology of the networks sampled, with few species concentrating most of the interactions, is an expected pattern for mutualistic networks (Bascompte and Jordano 2007). We found a positive relationship of coverage of urbanized area with nestedness (NODF2) and weighted connectance. Connectance is the realized proportion of possible links, while weighted connectance is linkage density divided by number of species in the network (Tylianakis et al. 2007). Nestedness is a pattern of interaction in which specialists interact with species that form perfect subsets of the species with which generalists interact. It is a measure of departure from systematic arrangement of species by niche width (Bascompte and Jordano 2007, Almeida-Neto and Ulrich 2011). Other similar studies have also shown that the mutualistic networks are affected by shifts in the environment. For example, connectance between bees and plants has been found to differ between biomes and to be lower in urban environments (Biesmeijer et al. 2005, Geslin et al. 2013). Connectance is a metric that shows a large variation in different studies, perhaps due to the fact that different

sampling methods are used and network dimensions are extremely variable (Dormann et al. 2009). It is likely that the positive relationship between level of urbanization and nestedness and weighted connectance we found is related to the promotion of stability under stressful scenarios, as proposed before for mutualistic networks (Thébault and Fontaine 2010).

In addition, we found a low degree of a highly generalist and invasive species (*Apis mellifera*) in more fragmented areas. This result implies that a greater richness of native species (plants and animals) and greater nestedness and connectance in more fragmented areas prevent an invasive species from settling with a higher degree in the network. A previous study showed that a native species of bee (*T. spinipes*) is positively affected by disturbed habitats compared to an invasive one (*A. mellifera*), that was indifferently affected, which makes these species prone to pollinate plant species in these disturbed areas (Giannini et al. 2015).

Here we analyzed how different levels of urbanization had an impact on plant-flower visitor interaction networks in grassland ecosystems. We found evidence that the degree of isolation of fragments within urban areas affects not only plant and animal diversity per se as documented before (Biesmeijer et al. 2006, Potts et al. 2010, Martins and Melo 2010, Burkle et al. 2013), but also the structure of the mutualistic interaction networks they shape. These findings highlight the importance of the investment in the conservation and maintenance of natural areas. Although we know the great value that large areas have for biodiversity preservation (McNeely 1994, Quinn and Harrison 1988), smaller areas should also be valued (Tschardt et al. 2002), especially in urban environments where there are no more continuous fragments available.

Acknowledgments

We gratefully acknowledge CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) and the postgraduate program for the scholarship and financial support to the first author. We acknowledge also park managers and rangers who gave all the support they could, despite the operational limitations. The members of LevCamp Laboratory of UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) which identified the plant species. Nicole Garcia and Kássia Ramos who assisted in several stages of the work. Luciano Moura who reviewed the morphospecies of Coleoptera. Rosana Halinski who reviewed the morphospecies of bees.

Literature cited

- Ahrné, K., J. Bengtsson, and T. Elmqvist. 2009. Bumble bees (*Bombus* spp) along a gradient of increasing urbanization. PLoS ONE 4:e5574.
- Almeida-Neto, M., and W. Ulrich. 2011. A straightforward computational approach for measuring nestedness using quantitative matrices. Environmental Modelling & Software 26:173–178.
- Bascompte, J., and P. Jordano. 2007. Plant-Animal Mutualistic Networks: The architecture of biodiversity. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 38:567–593.
- Bastolla, U., M. A. Fortuna, A. Pascual-García, A. Ferrera, B. Luque, and J. Bascompte. 2009. The architecture of mutualistic networks minimizes competition and increases biodiversity. Nature 458:1018–1020.
- Bawa, K. S. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. Annu. Rev. Ecol. Syst. 21:399–422.

- Biesmeijer, J. C., E. J. Slaa, M. S. de Castro, B. F. Viana, A. de M. P. Kleinert, and V. L. Imperatriz-Fonseca. 2005. Connectance of Brazilian social bee: food plant networks is influenced by habitat, but not by latitude, altitude or network size. *Biota Neotropica* 5:85–93.
- Biesmeijer, J. C., S. P. M. Roberts, M. Reemer, R. Ohlemüller, M. Edwards, T. Peeters, A. P. Schaffers, S. G. Potts, R. Kleukers, C. D. Thomas, J. Settele, and W. E. Kunin. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313:351–354.
- Blüthgen N, Fründ J, Vázquez DP, Menzel F (2008) What do interaction network metrics tell us about specialization and biological traits? *Ecology* 89:3387–3399.
- Burkle, L. A., J. C. Marlin, and T. M. Knight. 2013. Plant-pollinator interactions over 120 years: loss of species, co-occurrence, and function. *Science* 339.
- Calegari-Marques, C., and S. B. Amato. 2014. Urbanization breaks up host-parasite interactions: a case study on parasite community ecology of rufous-bellied thrushes (*Turdus rufiventris*) along a rural-urban gradient. *PLoS ONE* 9:e103144.
- Cordeiro, J. L. P., and H. Hasenack. 2009. Cobertura vegetal atual do Rio Grande do Sul. Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade. 285–299.
- Cordova, C. 2009. Grasslands and Grassland Ecology by Gibson, David J. *Journal of Vegetation Science* 20:1191–1191.
- Cruden, R. W., and S. M. Hermann-Parker. 1979. Butterfly pollination of *Caesalpinia pulcherrima*, with observations on a psychophilous syndrome. *Journal of Ecology* 67:155–168.
- Csardi, G., and T. Nepusz, 2006. The igraph software package for complex network research, *InterJournal, Complex Systems* 1695. <http://igraph.org>
- Dormann, C. F. 2011. How to be a specialist? Quantifying specialisation in pollination networks. *Network Biology* 1:1–20.
- Dormann, C. F., B. Gruber, and J. Fründ. 2008. Introducing the bipartite package: analysing ecological networks. *R News* 8:8–11.

- Dormann, C. F., J. Fründ, N. Blüthgen, and B. Gruber. 2009. Indices, graphs and null models: analyzing bipartite ecological networks. *The Open Ecology Journal* 2:7–24.
- Geslin, B., B. Gauzens, E. Thébault, and I. Dajoz. 2013. Plant Pollinator Networks along a Gradient of Urbanisation. *PLoS ONE* 8:e63421.
- Giannini, T. C., L. A. Garibaldi, A. L. Acosta, J. S. Silva, K. P. Maia, A. M. Saraiva, P. R. Guimarães, and A. M. P. Kleinert. 2015. Native and non-native supergeneralist bee species have different effects on plant-bee networks. *PLOS ONE* 10:e0137198.
- Gottsberger, G. 1977. Some aspects of beetle pollination in the evolution of flowering plants. Pages 211-226 in K. Kubitzki, editor. *Flowering Plants*. Springer Vienna.
- Gottsberger, G. 1999. Pollination and evolution in neotropical Annonaceae. *Plant Species Biology* 14:143–152.
- Hunter, M. D., and P. W. Price. 1992. Playing Chutes and Ladders: Heterogeneity and the Relative Roles of Bottom-Up and Top-Down Forces in Natural Communities. *Ecology* 73:724–732.
- Jordano, P. 2000. Fruits and frugivory. Pages 125-166 in M. Fenner, editor. *Seeds: the ecology of regeneration in natural plant communities*, 2nd edition. CABI Publ, Wallingford UK.
- Londo, G. 1976. The decimal scale for relevés of permanent quadrats. *Vegetatio* 33:61–64.
- Martins, A. C., and G. A. R. Melo. 2010. Has the bumblebee *Bombus bellicosus* gone extinct in the northern portion of its distribution range in Brazil? *Journal of Insect Conservation* 14:207–210.
- McKinney, M. L. 2006. Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological Conservation* 127:247–260.
- McNeely JA (1994) Protected areas for the 21st century: working to provide benefits to society. *Biodivers Conserv* 3:390–405.
- Micheneau C, Fournel J, Warren BH, et al (2010) Orthoptera, a new order of pollinator. *Ann Bot* 105:355–364.

- Mueller-dumbois, D., and H. Ellenberg, 1974. Aims and methods of vegetation ecology. John Wiley & Sons, New York. 574p.
- Nabhan, G. P., and S. L. Buchmann, 1997. Services provided by pollinators. Pages 133–150 in G. Daily, editor. Nature's services. Island Press, Washington, D.C.
- Oleques, S. S., G. E. Overbeck, and R. S. Avia Jr. 2017. Flowering phenology and plant-pollinator interactions in a grassland community of Southern Brazil. *Flora* 229:141–146.
- Overbeck GE, Müller SC, Pillar VD, Pfadenhauer J (2005) Fine-scale post-fire dynamics in southern Brazilian subtropical grassland. *J Veg Sci* 16:655–664.
- Overbeck, G. E., S. C. Müller, A. Fidelis, J. Pfadenhauer, V. D. Pillar, C. C. Blanco, I. I. Boldrini, R. Both, and E. D. Forneck. 2007. Brazil's neglected biome: the south brazilian campos. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9:101–116.
- Pielou, E. C. 1975. Ecological diversity. John Wiley & Sons, New York. 165p.
- Potts, S. G., J. C. Biesmeijer, C. Kremen, P. Neumann, O. Schweiger, and W. E. Kunin. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution* 25:345–353.
- QGIS Development Team, 2009. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation. URL <http://qgis.osgeo.org>
- Quinn JF, Harrison SP (1988) Effects of habitat fragmentation and isolation on species richness: evidence from biogeographic patterns. *Oecologia* 75:132–140. doi: 10.1007/BF00378826
- R Development Core Team. 2006. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.r-project.org>
- Rech, A. R., K. Agostini, P. E. Oliveira, I. C. Machado. 2014. *Biologia da polinização*. Editora Projeto Cultura, 1st edition, Rio de Janeiro. 527p.
- Rohr, R. P., S. Saavedra, and J. Bascompte. 2014. Ecological networks. On the structural stability of mutualistic systems. *Science (New York, N.Y.)* 345:1253497.
- Roubik, D. W. 1980. Foraging Behavior of Competing Africanized Honeybees and Stingless Bees. *Ecology* 61:836–845.

- Saavedra, S., D. B. Stouffer, B. Uzzi, and J. Bascompte. 2011. Strong contributors to network persistence are the most vulnerable to extinction. *Nature* 478:233–235.
- Saavedra, S., R. P. Rohr, J. M. Olesen, and J. Bascompte. 2016. Nested species interactions promote feasibility over stability during the assembly of a pollinator community. *Ecology and Evolution* 6:997–1007.
- Sakai S (2001) Thrips pollination of androdioecious *Castilla elastica* (Moraceae) in a seasonal tropical forest. *Am J Bot* 88:1527–34.
- Somavilla, A., and A. Köhler. 2012. Preferência floral de vespas (Hymenoptera, Vespidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *EntomoBrasilis* 5:21–28.
- Suweis, S., F. Simini, J. R. Banavar, and A. Maritan. 2013. Emergence of structural and dynamical properties of ecological mutualistic networks. *Nature* 500:449–452.
- Takemoto, K., and K. Kajihara. 2016. Human impacts and climate change influence nestedness and modularity in food-web and mutualistic networks. *PLOS ONE* 11:e0157929.
- Terborgh, J. W. 2015. Toward a trophic theory of species diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:11415–22.
- Thébaud, E., and C. Fontaine. 2010. Stability of ecological communities and the architecture of mutualistic and trophic networks. *Science (New York, N.Y.)* 329:853–6.
- Traveset, A., and D. M. Richardson. 2006. Biological invasions as disruptors of plant reproductive mutualisms. *Trends in Ecology & Evolution* 21:208–216.
- Tscharntke T, Steffan-Dewenter I, Kruess A, Thies C (2002) Contribution of small habitat fragments to conservation of insect communities of grassland–cropland landscapes. *Ecol Appl* 12:354–363.
- 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. Tscharntke, and O. T. Lewis. 2007. Habitat modification alters the structure of tropical host–parasitoid food webs. *Nature* 445:202–205.
- White, R. P., S. Murray, and M. Rohweder. 2000. *Grassland ecosystems*. World Resources Institute, Washington, DC.

Figure 1. Map.

Map of the 12 grassland fragments (black circles) in each hill: Morro do Osso Natural Park (MO), Saint'Hilaire Municipal Park (SH), São Pedro Wildlife Refuge (SP) and Itapuã State Park (PI). Black lines enclose 2 km buffer zone for urbanization measurement. Land cover categories follow Cordeiro & Hasenack (2009).

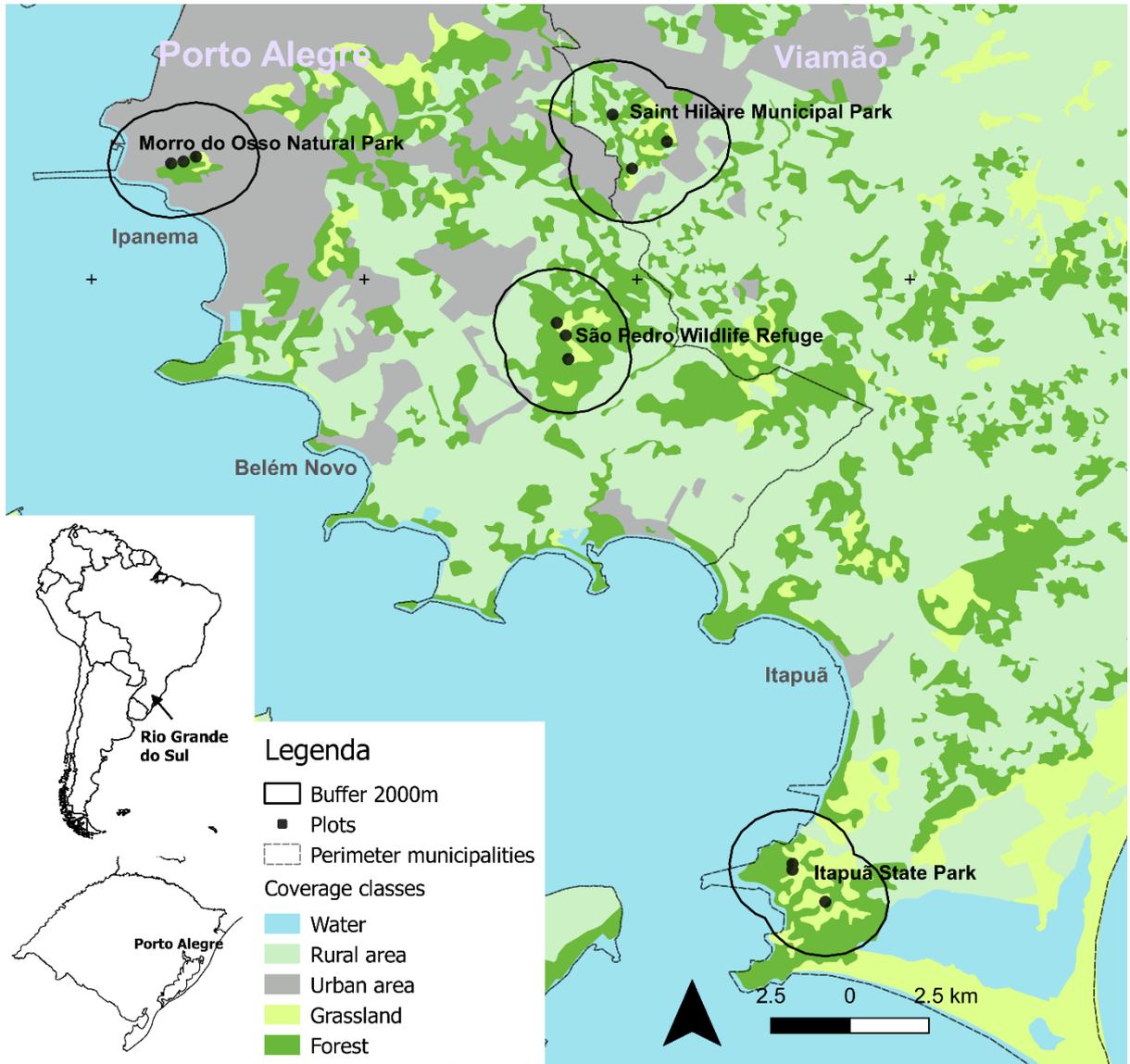


Figure 2. Species richness regressions.

(a) Positive correlation between plant species richness (Chao) and urbanized area; (b) positive correlation between visitors species richness and urbanized area. The points represent each analyzed plot (MO1, 2, 3; SH1, 2, 3; SP1, 2, 3; PI1, 2, 3).

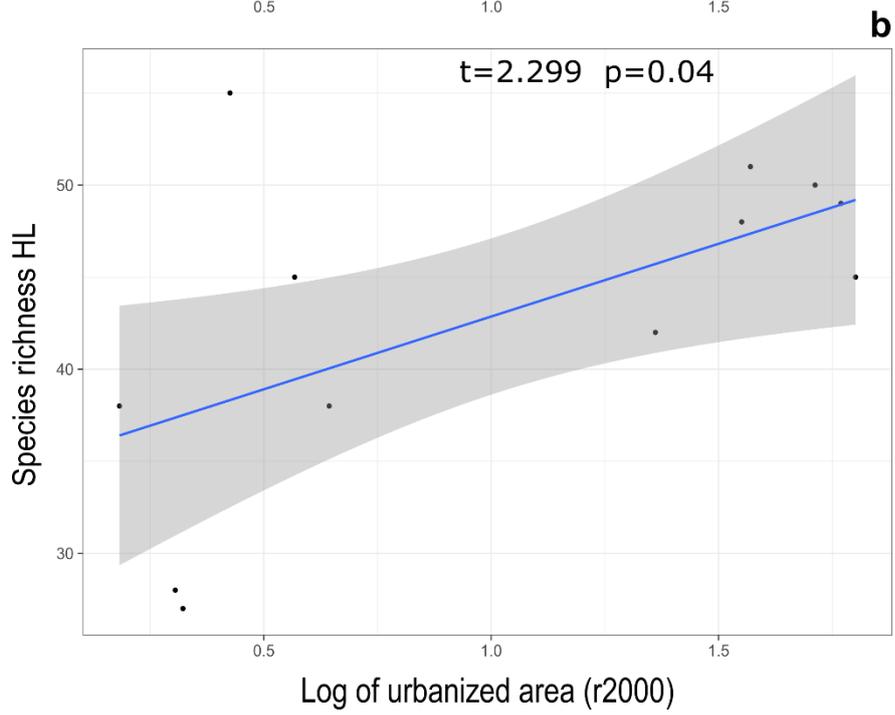
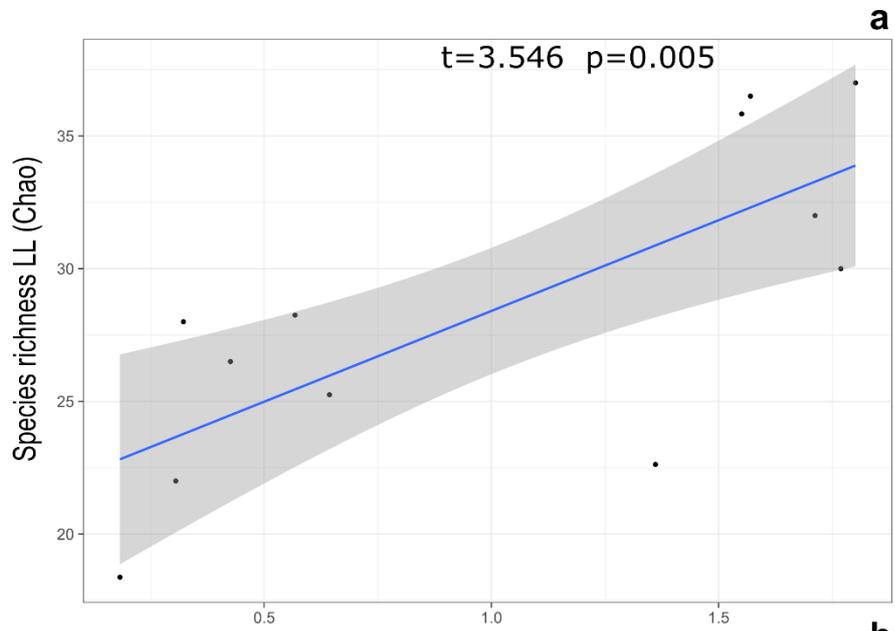
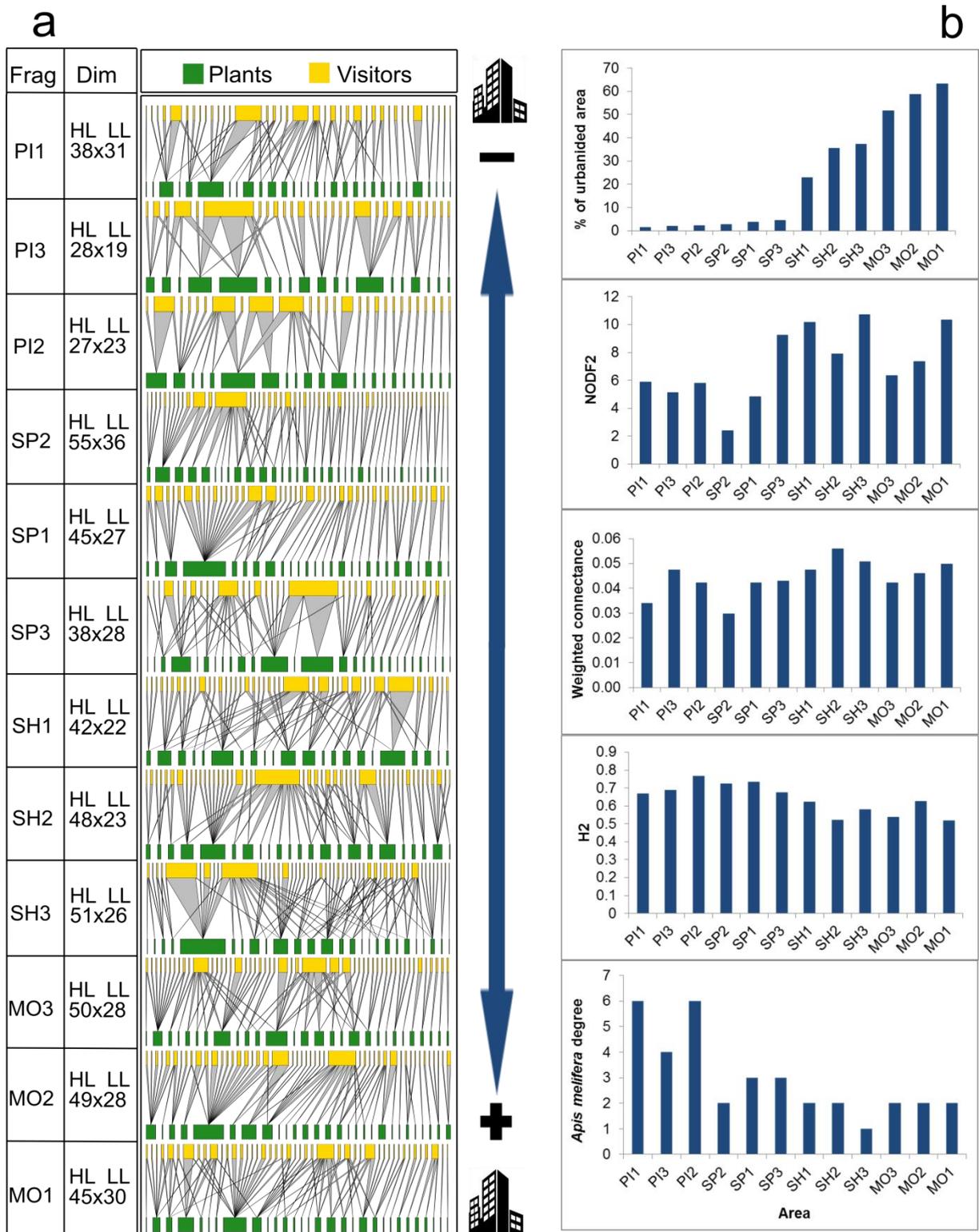


Figure 3. Networks and metrics.

(a) Network topology for each fragment (Frag) ordered from least to most urbanized. For each network its respective dimensions (Dim) given by the number of flower visitors (HL = Higher level) and plants (LL = Lower level). Yellow nodes represent visitors and green nodes represent flowering plants. Fragment acronyms as in Figure 1. (b) Percentage of urban area in a buffer of 2 km around the sampling area and network metrics for each fragment.



Supplementary material

Figure 4. Richness and Diversity of plants: (a) plant species richness (Chao estimator) in each plot per area; (b) plant diversity (Simpson D) in each plot per area.

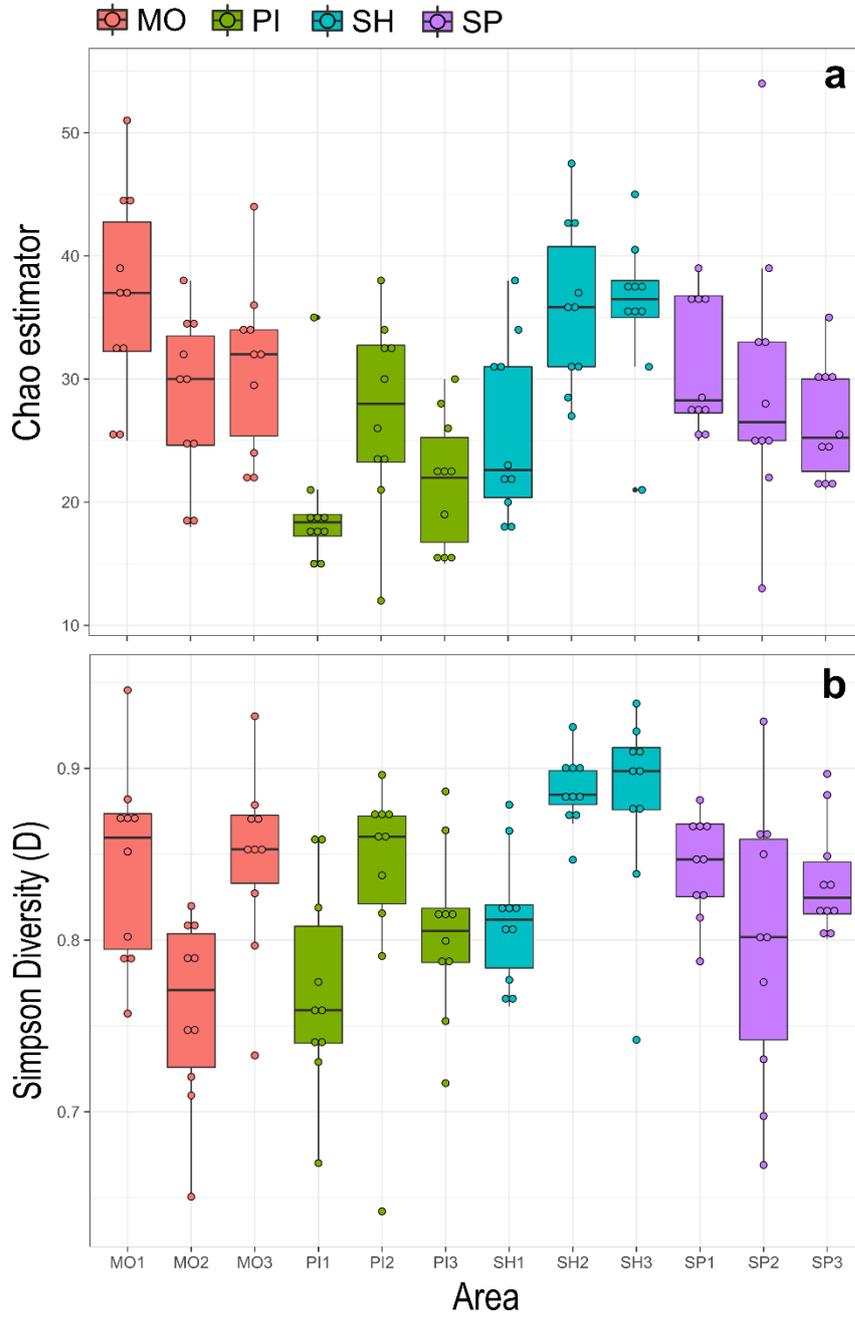


Figure 5: (a) positive correlation between nestedness (NODF2) and urbanized area; (b) positive correlation between weighted connectance and urbanized area.

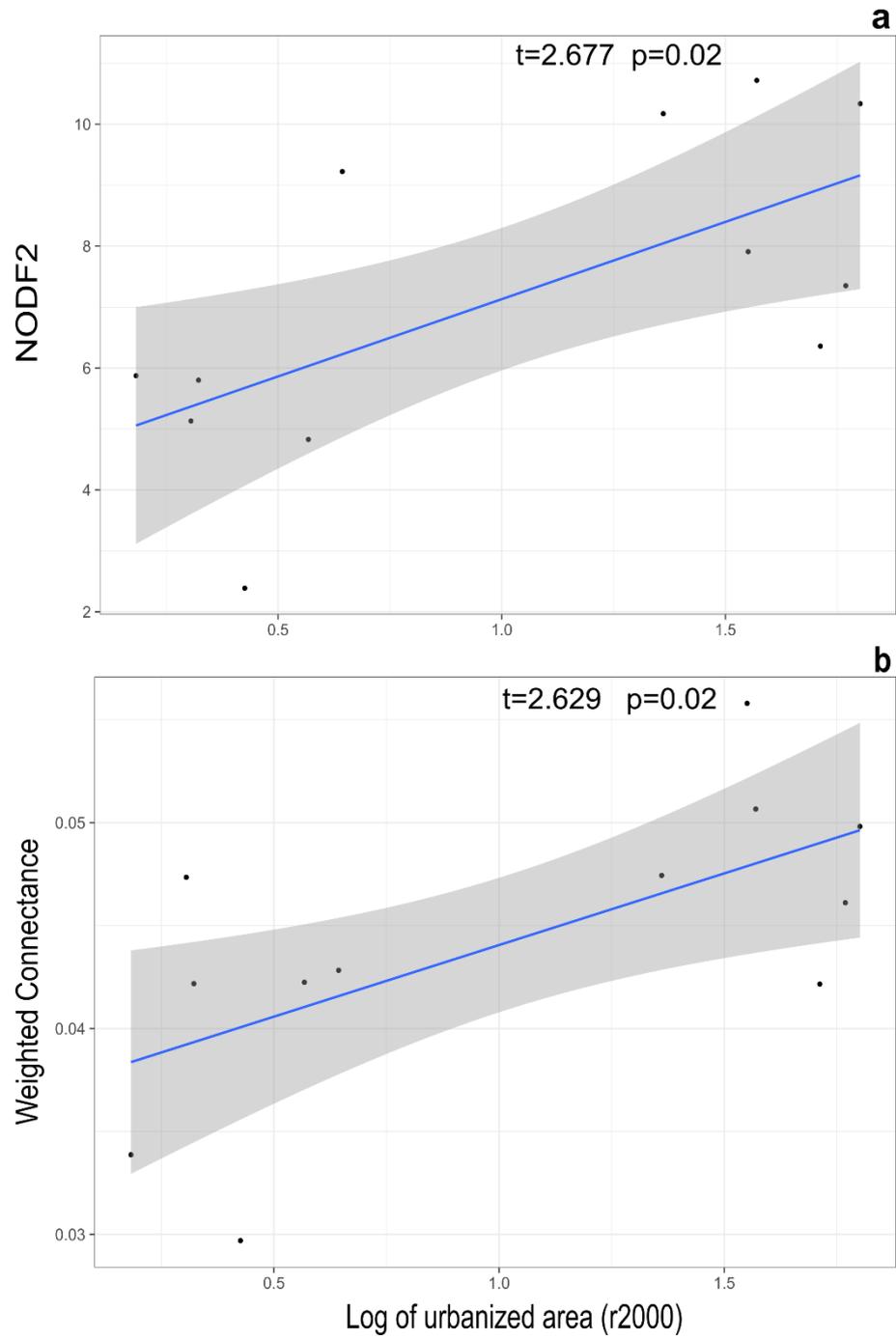
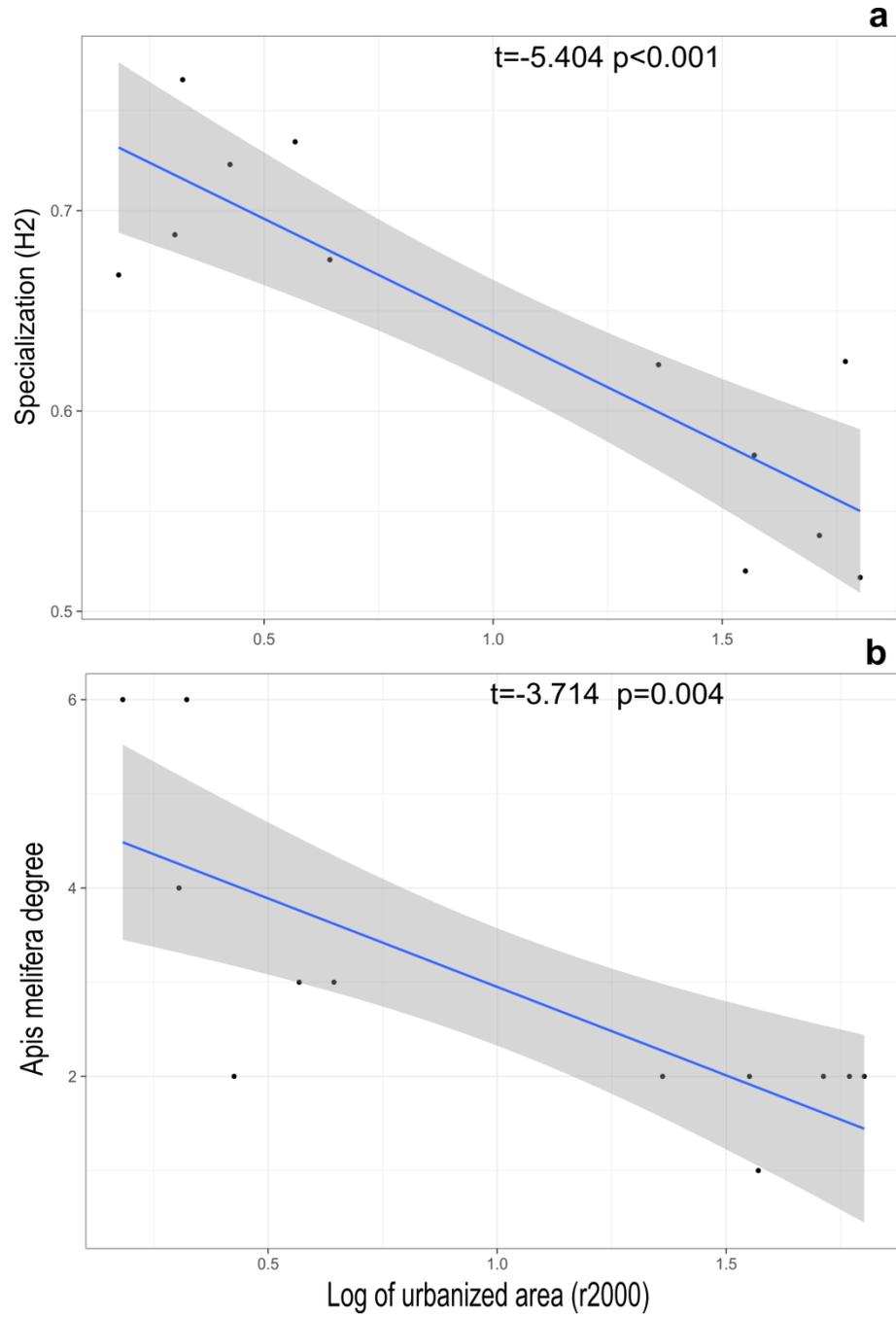


Figure 6: (a) negative correlation between specialization (H_2') and urbanized area; (b) negative correlation between *Apis mellifera* degree and urbanized area.





Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Pró-Reitoria de Graduação
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar
Porto Alegre - RS - Brasil
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564
E-mail: prograd@pucrs.br
Site: www.pucrs.br