

Variación interespecífica de ensambles de polinizadores en *Nierembergia* (Solanaceae) en relación con la localización geográfica y la variación fenotípica de las flores

CONSTANZA C. MAUBECIN[✉]; MARÍA N. AUGUSTO & ALICIA N. SÉRSIC

Laboratorio de Ecología Evolutiva y Biología Floral, Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Universidad Nacional de Córdoba, CONICET, FCEfyN. Córdoba, Argentina.

RESUMEN. Comprender cómo varían las interacciones de especies emparentadas de plantas con polinizadores a escala espacial permite establecer vínculos entre patrones macroevolutivos y procesos microevolutivos, y aproximarse a los mecanismos que subyacen a la diversificación en plantas. En este trabajo exploramos la variación en la composición de los ensambles de polinizadores de 15 especies y variedades de *Nierembergia* (Solanaceae) en relación con la variación del fenotipo floral y la localización geográfica, en el rango de distribución del género en la Argentina. Mediante observaciones de campo, mediciones morfométricas de flores y métodos comparativos filogenéticos se caracterizaron y compararon ensambles de polinizadores y flores de los taxa de *Nierembergia*, y luego se evaluó la asociación entre la composición de ensambles de polinizadores, localización geográfica, morfología floral y relaciones filogenéticas. Se registraron 13 especies de abejas recolectoras de aceite como polinizadores. La composición de los ensambles estuvo muy asociada a la localización geográfica, indicando que taxa de *Nierembergia* en áreas próximas presentaron mayor similitud en sus ensambles de polinizadores que taxa alejados geográficamente. Este patrón no se asoció con relaciones de parentesco entre taxa, excepto un grupo de especies de alta montaña en el noroeste de la Argentina. Por otro lado, se encontró variación interespecífica en el fenotipo floral, principalmente en el tamaño de la glándula productora de aceite y la corola. Sin embargo, los taxa de *Nierembergia* con fenotipo floral similar no compartieron la composición del ensamble de polinizadores, como se esperaba. En conclusión, encontramos un patrón macroevolutivo mixto en el que algunos taxa de *Nierembergia* filogenéticamente alejados convergen en el espacio en la composición del ensamble de polinizadores, mientras que este atributo se conserva en un clado filogenético. Esto sugiere que el rol de los polinizadores en la diversificación en *Nierembergia* es más complejo de lo pensado.

[Palabras clave: interacción planta-polinizador, abejas recolectoras de aceite, macroecología evolutiva, fenotipo floral, relaciones filogenéticas, variación geográfica]

ABSTRACT. Interspecific variation of pollinator assemblages in *Nierembergia* (Solanaceae) in relation to geographic location and phenotypic variation of flowers. Understanding how the interactions of related plant species with pollinators vary on a spatial scale provides the opportunity to establish links between macroevolutionary patterns and microevolutionary processes, as well as to approach the mechanisms underlying plant diversification. In this work, we explore the variation in pollinator assemblages of 15 species and varieties of *Nierembergia* (Solanaceae) across the distribution range of the genus in Argentina, in relation to variation in floral phenotype and geographic location. By field observations, morphometric measurements of flowers and comparative phylogenetic methods, pollinator assemblages and flowers of *Nierembergia* taxa were characterized and compared, and the association between pollinator assemblage composition, geographic location, floral morphology and phylogenetic relationships was evaluated. 13 species of oil-collecting bees were recorded as pollinators. The assemblage composition was strongly associated with geographic location, that is, *Nierembergia* taxa in nearby areas had greater similarity in their pollinator assemblages than geographically distant taxa. This pattern was not associated with phylogenetic relationships among taxa, except for a group of high mountain species in northwestern Argentina. On the other hand, interspecific variation was found in the floral phenotype, mainly in the corolla and the oil-producing gland size. However, *Nierembergia* taxa with similar floral phenotypes did not share the composition of the pollinator assemblage, as expected. In conclusion, we found a mixed macroevolutionary pattern in which some phylogenetically distant *Nierembergia* taxa converge geographically in the composition of pollinator assemblages, while this attribute is conserved in a phylogenetic clade. This pattern suggests that the role of pollinators in *Nierembergia* diversification is more complex than previously thought.

[Keywords: plant-pollinator interactions, oil-collecting bees, macroevolutionary ecology, floral phenotype, phylogenetic relationships, geographic variation]

INTRODUCCIÓN

Las interacciones planta-polinizador son el resultado de múltiples fuerzas y procesos ecológico-evolutivos que dependen de las características intrínsecas de las especies participantes. A nivel macroevolutivo, la diversificación de Angiospermas con polinización biótica está muy asociada a las adaptaciones de la morfología floral con atributos físicos y comportamentales de diferentes polinizadores (Stebbins 1970; Dodd et al. 1999; revisado en Fenster et al. 2004). Esta asociación surge en gran parte de la diferenciación adaptativa local o regional de las características fenotípicas relacionadas con la polinización en respuesta a la divergencia espacial de los polinizadores (Herrera et al. 2006). La presencia y las características de los polinizadores dentro del rango geográfico que ocupan las especies de plantas dependen tanto de la disponibilidad de hábitat y recursos florales como de sus restricciones fisiológicas a determinadas condiciones topográficas, climáticas y de procesos históricos, entre otros factores (e.g., Sosa-Pivatto et al. 2020). En consecuencia, la composición de los ensambles de polinizadores de las especies de plantas estará condicionada, por un lado, por la localización geográfica de sus poblaciones, y por otro lado, por las características de las flores (i.e., arquitectura floral, fragancias, recompensas florales, momento de anthesis, etc.) (Faegri and van der Pijl 1979). Las flores pueden estar adaptadas a especies o grupos funcionales particulares de polinizadores, en especial, en el caso de especies con flores especialistas que presentan un síndrome floral determinado (Fenster et al. 2004; Rosas Guerrero et al. 2014).

Numerosos estudios exploraron la variación de los ensambles de polinizadores entre poblaciones de una misma especie (e.g., Moeller 2005; Phillips et al. 2015), pero pocos trabajos indagaron en la variación interespecífica considerando una dimensión geográfica. La historia evolutiva compartida recientemente entre especies hermanas puede dejar una huella importante en atributos de origen geográfico y ecológico (Anacker and Strauss 2014). Por este motivo, evaluar si los ensambles de polinizadores de especies emparentadas se asemejan en áreas geográficamente próximas y establecer qué rasgos florales están asociados a dichos ensambles brinda la oportunidad de comprender la influencia de la dimensión espacial entre los factores que determinan los cambios de polinizadores

dentro de los géneros de plantas. Asimismo, permite establecer vínculos entre patrones macroevolutivos y procesos que ocurren a escala microevolutiva, como medio para aproximarse a los posibles mecanismos que subyacen a la diversificación en plantas (van der Niet et al. 2014) y a la evolución de la especialización en los sistemas de polinización. En un área geográfica determinada, las especies de plantas que comparten especies o grupos funcionales de polinizadores presentarían una convergencia en la morfología general de las flores o en rasgos particulares relevantes para la polinización (Fenster et al. 2004; Smith and Kriebel 2018). Como contraparte, se esperaría que especies con flores de similares características fenotípicas sean visitadas por los mismos grupos funcionales de polinizadores.

Las flores que producen aceites no volátiles como recompensa constituyen el síndrome floral de las flores oleíferas (Vogel 1971). Las especies de flores oleíferas están involucradas en interacciones de polinización especializadas que evolucionaron a través de diversas adaptaciones morfológicas, de comportamiento y químicas (Vogel 1974). Estas especies son visitadas casi exclusivamente por abejas solitarias recolectoras de aceites (Johnson and Steiner 2000; Renner and Schaefer 2010), que presentan estructuras especiales principalmente en sus patas que les permiten recolectar, manipular y transportar el aceite (Simpson and Neff 1981; Alves-dos-Santos et al. 2007). Se encuentran en muy pocas familias de Angiospermas (Buchmann 1987; Rasmussen and Olesen 2000; Neff and Simpson 2005; Martins et al. 2015) y se distribuyen sobre todo en regiones neotropicales. En la Argentina existen numerosas especies de flores oleíferas de las familias Calceolariaceae, Plantaginaceae, Malpighiaceae, Iridaceae, Krameriaceae, Orchidaceae y Solanaceae. A pesar de que diversos estudios se llevaron a cabo en algunos de estos sistemas (e.g., Sérsic 2004; Cosacov et al. 2014; Ferreira et al. 2015; Torreta et al. 2017; Aliscioni et al. 2021), aún resta conocer la ecología de la polinización de muchas de estas especies de plantas y la distribución e interacciones de muchas de las especies de abejas recolectoras de aceite.

Nierembergia Ruiz and Pav es el único género de Solanaceae que ofrece aceites florales no volátiles como recompensa floral en la mayoría de sus especies. Este género presenta 21 especies de distribución neotropical, de las cuales 15 habitan en zonas subtropicales de

la Argentina, desde el nivel del mar hasta los 3500 m s. n. m. en la alta montaña (Hunziker et al. 1995). Entre estos taxa, que incluyen también variedades de dos especies, algunos se restringen al noroeste de la Argentina, otros a la región nordeste o centro, y sólo unos pocos, como *Nierembergia rigida* y *N. linariifolia*, se distribuyen de manera más amplia en el país, extendiendo su distribución hasta las provincias de Santa Cruz y Río Negro, respectivamente. Las flores en este género presentan corola hipocrateriforme, con una porción tubular de variada longitud y un gran limbo anchamente infundibuliforme o campanulado. El tubo floral no contiene néctar, y se ha propuesto que su función es básicamente la exposición de la flor (Cocucci and Hunziker 1995). Las piezas fértiles emergen del centro de las flores, constituidas por una columna de estambres insertos en la boca del tubo floral, en general conniventes sobre el estilo (Hunziker et al. 1995). En las flores de numerosas especies de *Nierembergia*, el aceite se produce en la superficie de la corola por tricomas capitados breves que forman una cubierta densa sobre el limbo, rodeando la base de las piezas fértiles.

Hasta el momento, los polinizadores reportados para *Nierembergia* son 14 especies de abejas recolectoras de aceite de las tribus Tapinotaspini, Centridini y Tetrapediini de la familia Apidae, entre las que las abejas de los géneros *Chalepogenus*, *Tapinotaspis* y *Centris* son las más frecuentes (Cocucci 1991; Cosacov et al. 2008; Nattero et al. 2010, 2011; Maubecin 2019; Maubecin et al. 2021). Se trata de distintos grupos funcionales de polinizadores que difieren en características morfométricas y comportamentales (Maubecin et al. 2021). La polinización de las flores de *Nierembergia* se produce sobre todo durante la recolección de aceites florales por las abejas, y —en el caso de abejas del género *Chalepogenus*— también durante la recolección de polen (Cocucci 1991; Maubecin et al. 2021). La distancia entre el limbo de las flores y las piezas fértiles resulta crucial para la remoción y el depósito de polen por las abejas recolectoras de aceite (Maubecin et al. 2021). Se ha postulado que la longitud del tubo floral y el área del limbo floral afectan la exposición de la flor y la atracción visual de polinizadores, por lo que serían también atributos involucrados en la polinización (Cocucci 1991; Nattero et al. 2010). Esto sugiere que a pesar de que la morfología general de las flores es a simple vista similar, la variación fenotípica interespecífica en las

flores de *Nierembergia* podría relacionarse con las presiones de selección ejercidas por los polinizadores.

Dado que los taxa del género *Nierembergia* comparten en su mayoría un mismo síndrome floral y son polinizados principalmente por especies de abejas recolectoras de aceite, en este trabajo exploramos la variación en la composición de los ensambles de polinizadores en relación con la variación en rasgos florales y la localización geográfica de numerosas especies y variedades de *Nierembergia* que habitan en la Argentina, incluyendo poblaciones de algunos taxa no estudiadas en trabajos previos. Nuestras hipótesis —no excluyentes— postulan que tanto las especies de *Nierembergia* con flores semejantes en su forma como aquellas que habitan geográficamente próximas, comparten de manera total o parcial el ensamble de polinizadores. En este punto cabe mencionar que el estudio comparativo entre especies requiere el análisis riguroso de los patrones en un contexto filogenético, ya que las similitudes fenotípicas (e.g., en la morfología floral) pueden estar ligadas a las relaciones de parentesco entre taxa (Smith 2010; Losos 2009; Reginato and Michelangeli 2016). Por ello utilizamos herramientas de los métodos comparativos filogenéticos, apropiados para considerar la proximidad filogenética como un factor explicativo. Al presente, casi no hay estudios a nivel macroevolutivo que hayan evaluado la variación interespecífica de los ensambles de polinizadores en un contexto geográfico utilizando este tipo de abordajes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

Se estudiaron 11 especies de *Nierembergia* que crecen en la Argentina, que presentan flores oleíferas y son polinizadas por abejas recolectoras de aceite (reportado en Maubecin et al. 2021), incluyendo variedades de las especies *N. linariifolia* y *N. pulchella* (i.e., *N. linariifolia* var. *linariifolia*, *N. linariifolia* var. *glabriuscula*, *N. linariifolia* var. *pampeana* y *N. linariifolia* var. *pinifolioides*, y *N. pulchella* var. *macrocalyx* y *N. pulchella* var. *pulchella*), totalizando 15 taxa (Figura 1). Se realizaron muestreos de campo en los que se localizó un sitio para cada uno de los taxa en estudio (Tabla 1), abarcando prácticamente todo el rango de distribución del género en la Argentina. Sólo en el caso de *N. linariifolia* var. *linariifolia*, uno

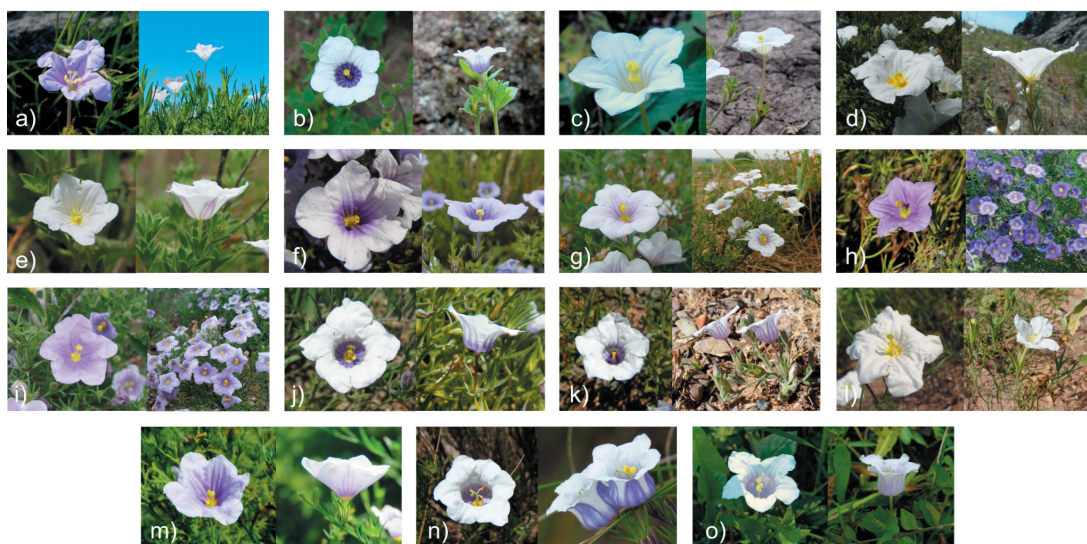


Figura 1. Flores de las especies y variedades de *Nierembergia* en estudio. a) *N. aristata*, b) *N. browallioides*, c) *N. calycina*, d) *N. ericoides*, e) *N. graveolens*, f) *N. linariifolia* var. *glabriuscula*, g) *N. linariifolia* var. *linariifolia*, h) *N. linariifolia* var. *pampeana*, i) *N. linariifolia* var. *pinifolioides*, j) *N. pulchella* var. *macrocalyx*, k) *N. pulchella* var. *pulchella*, l) *N. rigida*, m) *N. scoparia*, n) *N. tucumanensis* y o) *N. veitchii*.

Figure 1. Flowers of the studied species and varieties of *Nierembergia*. a) *N. aristata*, b) *N. browallioides*, c) *N. calycina*, d) *N. ericoides*, e) *N. graveolens*, f) *N. linariifolia* var. *glabriuscula*, g) *N. linariifolia* var. *linariifolia*, h) *N. linariifolia* var. *pampeana*, i) *N. linariifolia* var. *pinifolioides*, j) *N. pulchella* var. *macrocalyx*, k) *N. pulchella* var. *pulchella*, l) *N. rigida*, m) *N. scoparia*, n) *N. tucumanensis* and o) *N. veitchii*.

de los taxa más ampliamente distribuidos, se muestrearon tres sitios distantes en el espacio, en las provincias de Catamarca, Córdoba y Entre Ríos, identificados con las letras a, b y c, respectivamente, en la Tabla 1 y en sucesivos análisis y figuras.

Caracterización de los ensambles de polinizadores

En cada sitio se realizaron observaciones de los insectos que visitaron las flores de la especie o variedad de *Nierembergia* presente, siguiendo el protocolo de muestreo detallado en Maubecin et al. (2021). Se registraron en especial las abejas que recolectaron aceite en las flores y que contactaron tanto estambres como estigmas durante la visita. Se capturaron e identificaron individuos de abejas a nivel de género y especie utilizando claves dicotómicas (Roig-Alsina 1999, 2000; Michener 2007).

A partir de la identificación taxonómica de las abejas recolectoras de aceite se construyó una matriz de presencia-ausencia de las especies de polinizadores para los taxa de *Nierembergia* considerados en este trabajo. Con estos datos se realizó un análisis de escala multidimensional no métrica (NMDS, por sus siglas en inglés) utilizando la distancia de Gower, con el paquete *vegan* en R (Oksanen et al. 2020; R Core Team 2021). A partir de este análisis se obtuvo un ordenamiento

que agrupa espacialmente a las especies o variedades de *Nierembergia* de acuerdo a su similitud en la composición de especies de los ensambles de polinizadores.

Sobre el gráfico obtenido del análisis NMDS se superpuso la filogenia de *Nierembergia*, generada por Tate et al. (2009), utilizando el paquete *phytools* (Revell 2012) en R (R Core Team 2021). En este gráfico se puede interpretar como convergencia (i.e., similitud en linajes evolutivos diferentes) al patrón que se observa cuando múltiples ramas del árbol llegan independientemente a la misma área del gráfico (Arbuckle and Speed 2016). Dado que el ensamble de polinizadores de la variedad *Nierembergia linariifolia* var. *linariifolia* fue caracterizado en tres sitios diferentes, la superposición de la filogenia sobre el espacio multidimensional se repitió considerando los datos de un sitio distinto cada vez. Se incluyó en el texto principal uno de los gráficos obtenidos, mientras que los restantes se encuentran en el Material Suplementario.

Obtención de medidas morfométricas de flores

En cada sitio de muestreo se coleccionaron 1 a 5 flores de 30 individuos de la especie o variedad de *Nierembergia* presente, separados espacialmente por 1 a 5 m (en especies de hábito rastrero se procuró

Tabla 1. Sitios de muestreo en la Argentina de las especies y variedades de *Nierembergia* estudiadas.**Table 1.** Studied sites of species and varieties of *Nierembergia* in Argentina.

Especie/variedad	Latitud	Longitud	Altitud (m s. n. m.)	Localidad, provincia
<i>N. aristata</i>	-31.3947	-64.4723	651	Carlos Paz, Córdoba
<i>N. browallioides</i>	-26.7772	-65.7291	2787	Tafí del Valle, Tucumán
<i>N. calycina</i>	-32.4230	-58.1762	59	Herrera, Entre Ríos
<i>N. ericoides</i>	-37.3272	-59.1598	262	Tandil, Buenos Aires
<i>N. graveolens</i>	-30.6581	-58.1048	58	Chajarí, Entre Ríos
<i>N. linariifolia</i> var. <i>glabriuscula</i>	-31.4911	-64.9018	1840	Pampa de Achala, Córdoba
<i>N. linariifolia</i> var. <i>linariifolia</i> (a)	-27.4709	-66.3941	2224	Andalgalá, Catamarca
<i>N. linariifolia</i> var. <i>linariifolia</i> (b)	-30.7220	-58.0440	95	Chajarí, Entre Ríos
<i>N. linariifolia</i> var. <i>linariifolia</i> (c)	-29.8771	-63.7224	360	Villa de María de Río Seco, Córdoba
<i>N. linariifolia</i> var. <i>pampeana</i>	-37.8719	-65.4564	264	Lihuel Calel, La Pampa
<i>N. linariifolia</i> var. <i>pinifolioides</i>	-30.8953	-64.5338	939	Dolores, Córdoba
<i>N. pulchella</i> var. <i>macrocalyx</i>	-22.9686	-65.4386	3563	Azul Pampa, Jujuy
<i>N. pulchella</i> var. <i>pulchella</i>	-27.3793	-66.3730	3121	Andalgalá, Catamarca
<i>N. rigida</i>	-30.4203	-64.3424	692	Dean Funes, Córdoba
<i>N. scoparia</i>	-32.6897	-58.1906	4	Campichuelo, Entre Ríos
<i>N. tucumanensis</i>	-26.7374	-65.7910	3038	El infernillo, Tucumán
<i>N. veitchii</i>	-27.6902	-65.9221	1821	Las Chacritas, Catamarca

la máxima distancia). En cada sitio se recolectaron ejemplares de referencia para su determinación, que fueron depositados bajo el nombre de recolector Andrea A. Cocucci (AAC) en el herbario CORD, del Museo Botánico de Córdoba, Argentina. Las flores frescas fueron fotografiadas en vista superior junto a una escala, utilizando una cámara de fotos digital, y luego conservadas en alcohol 70%. Luego, en el laboratorio se disecaron las mismas para fotografiar la columna de piezas fértiles y el elaióforo utilizando la cámara de una lupa Leica M420.

A partir de las fotografías digitales de las flores, con el software SigmaScan Pro 5 se tomaron medidas de morfometría lineal del limbo, las piezas fértiles y el elaióforo. Las variables consideradas fueron diámetro mayor de la corola (DMA), diámetro menor de la corola (DME), distancia del centro de la flor al borde del pétalo mayor (DCB), longitud de la porción del estilo que sobresale de la corola (LEST), longitud máxima de estambres (EST1), ancho de la base de la columna de piezas fértiles (ACOL), radio de la circunferencia formada por la columna de piezas fértiles desde vista superior (divergencia de piezas fértiles; RCOL), área total del elaióforo (AELA) y radio de la superficie de la corola ocupada por tricomas (RELA) (Figura 2). La medición de las variables morfométricas del elaióforo en *N. linariifolia* var. *linariifolia* sólo se realizó en el sitio localizado en la provincia de Catamarca.

Los datos obtenidos en cada sitio a partir de la medición de las flores de cada individuo fueron promediados para obtener un valor medio por individuo de cada rasgo floral medido. Luego, los datos individuales fueron promediados para obtener un valor medio por especie o variedad. Con dichos datos se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para explorar la variación morfométrica multivariada de las flores en las especies y variedades. Sobre el espacio multivariado construido con los tres primeros componentes principales del análisis se superpuso la filogenia de *Nierembergia* utilizando el paquete phytools (Revell 2012). Tanto el ACP como la construcción del filomorfoespacio incluyen la información de un solo sitio de *N. linariifolia* var. *linariifolia*.

Asociación entre composición de los ensambles de polinizadores, localización geográfica, morfología floral y relaciones filogenéticas

Para evaluar la asociación entre la composición de los ensambles de polinizadores de las especies y variedades de *Nierembergia*, localización geográfica, morfología floral y relaciones filogenéticas, se realizaron pruebas de Mantel pareadas entre cuatro tipos de matrices de distancia. Se construyó una matriz ecológica con distancias de Bray-Curtis a partir de datos de composición de ensambles de polinizadores, una matriz geográfica de distancias euclídeas a partir de las coordenadas de latitud y longitud,

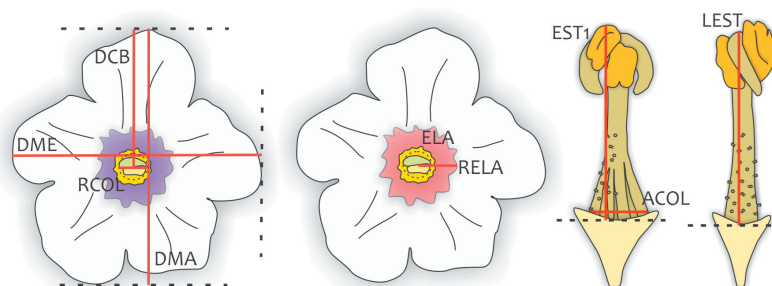


Figura 2. Variables morfométricas medidas en corola y piezas fértiles de las flores de *Nierembergia*, en esquemas de la flor en vista superior y de la columna de piezas fértiles que emerge del centro de las flores: diámetro mayor de la corola (DMA), diámetro menor de la corola (DME), distancia del centro de la flor al borde del pétalo mayor (DCB), longitud de la porción del estilo que sobresale de la corola (LEST), longitud máxima de estambres (EST1), ancho de la base de la columna de piezas fértiles (ACOL), radio de la circunferencia formada por la columna de piezas fértiles desde vista superior (divergencia de piezas fértiles; RCOL), área total del elaióforo (AELA) y radio de la superficie de la corola ocupada por tricomas del elaióforo (RELA).

Figure 2. Morphometric variables measured in corolla and fertile parts of *Nierembergia* flowers, on upper views of the flower, and lateral view of the fertile parts emerging from the center of the flower: largest corolla diameter (DMA), smallest corolla diameter (DME), distance from the center of the flower to the margin of the largest corolla lobe (DCB), longitude of the exposed portion of the style over the corolla limb (LEST), maximum stamen longitude (EST1), width of the base of the column of fertile parts (ACOL), diameter of the circumference delimited by the fertile parts column in overview (as a measure of the fertile parts divergence; RCOL), elaiophore total area (AELA) and radius of the area covered by trichomes of the elaiophore (RELA).

y la altitud sobre el nivel del mar de cada uno de los sitios donde los taxa fueron muestreados, y una matriz morfológica con distancias euclídeas a partir de las variables morfométricas de las flores. La matriz de distancia filogenética se estimó a partir de la longitud de ramas de la filogenia utilizando la función `cophenetic.phylo` del paquete `ape` en R (Paradis et al. 2004). Al evaluar la correlación entre las distancias filogenéticas y las distancias ecológicas se utilizaron tres matrices ecológicas distintas construidas independientemente con la información correspondiente de cada uno de los sitios muestreados de *N. linariifolia* var. *linariifolia*. Además, las correlaciones entre matrices se examinaron mediante pruebas parciales de Mantel, que permiten probar si las relaciones aparentes entre dos factores se pueden explicar mediante la correlación de cada uno de ellos con un tercer factor (Smouse et al. 1986).

Estas pruebas arrojan un valor de r (coeficiente de Spearman) que indica el grado de correlación entre matrices y un valor de significancia obtenido a partir de 999 permutaciones. El valor de r varía entre 0 y 1. Valores cercanos a 0 indican una baja correlación entre matrices, mientras que valores cercanos a 1 indican alta correlación. Estos análisis se realizaron utilizando el paquete `vegan` en R (Oksanen et al. 2020; R Core Team 2021).

RESULTADOS

Ensamblajes de polinizadores

En los sitios muestreados se registraron 13 especies de abejas recolectoras de aceite, de los géneros *Centris* (dos especies), *Arhysoceble* (1 especie), *Tapinotaspis* (1 especie), *Tetrapaedia* (1 especie), *Caenonomada* (1 especie) y *Chalepogenus* (7 especies). Las abejas de estas especies fueron observadas recolectando aceite y también polen, en el caso de las especies de *Chalepogenus*. Todas establecieron contacto con las piezas fértiles de las flores durante la recolección de aceite, excepto *Chalepogenus parvus*, que debido a su pequeño tamaño en algunas especies de *Nierembergia* sólo contactó las piezas fértiles durante la recolección de polen. En los sitios de *N. linariifolia* var. *pampeana* y *N. tucumanensis* se observaron abejas de *Tapinotaspis chalybaea* y *Chalepogenus neffi*, respectivamente, ingresando en nidos excavados en la tierra bajo las plantas de *Nierembergia*.

Los ensamblajes de polinizadores de los taxa de *Nierembergia* estuvieron integrados por una a cuatro especies de abejas recolectoras de aceite por sitio (Figura 3). La especie *C. parvus* visitó las flores del mayor número de taxa de *Nierembergia* ($n=8$) en sitios localizados en el centro, este y sur del área muestreada. Las abejas de *Arhysoceble picta*, *C. neffi*, *C. cocuccii* y una especie del género *Tetrapedia*

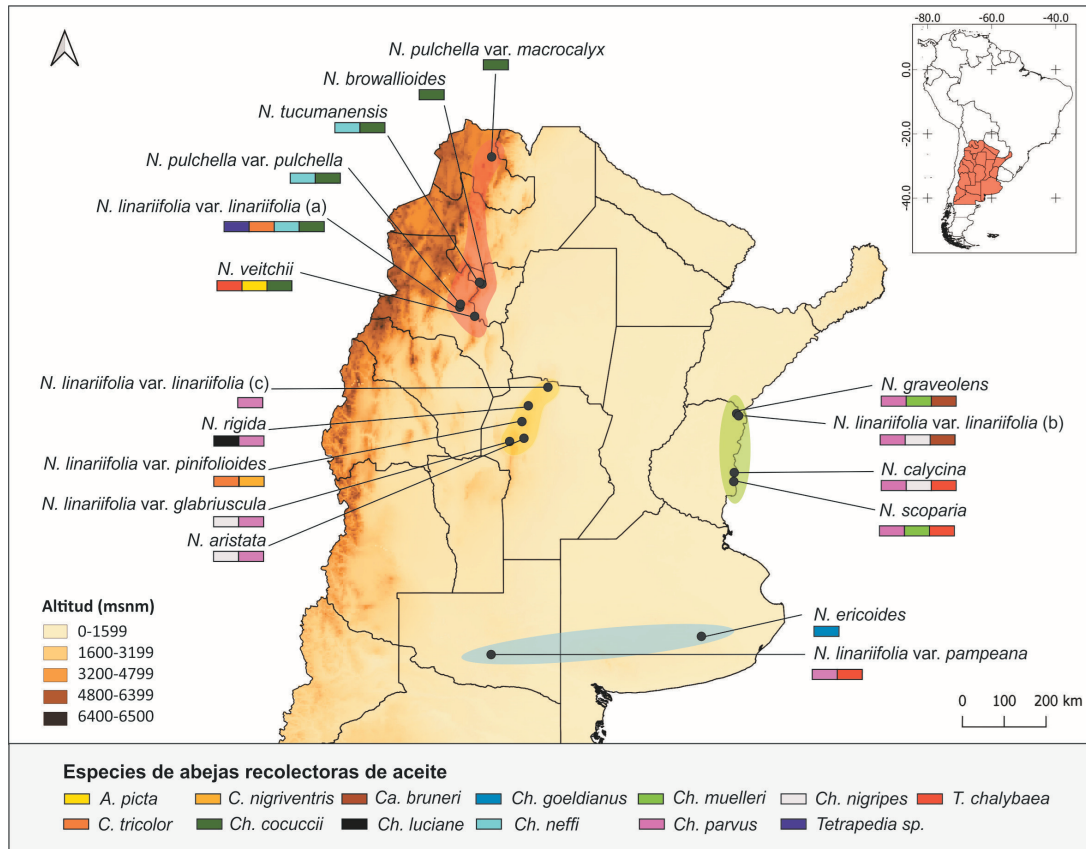


Figura 3. Variación geográfica de la composición de los ensambles de polinizadores en *Nierembergia* y localización de los sitios estudiados en la Argentina. Los círculos negros en el mapa señalan la localización de los sitios de muestreo de cada uno de los taxa de *Nierembergia* estudiados. El número de divisiones y colores de la barra debajo del nombre de cada taxón señalan la cantidad y la identidad de la/s especie/s de abeja/s observadas en cada sitio. Las áreas de color rojo, amarillo, verde y azul corresponden a las áreas geográficas noroeste, centro, este y sur del muestreo de campo, respectivamente. Abreviaturas: A. para *Arhysoceble*, C. para *Centris*, Ca. para *Caenonomada*, Ch. para *Chalepogenus*, N. para *Nierembergia* y T. para *Tapinotaspis*.

Figure 3. Geographic variation in the composition of *Nierembergia* pollinator assemblages and location of the studied sites in Argentina. Black dots correspond to each *Nierembergia* taxa studied site. Number of divisions and colors of the bars indicate the quantity and identity of bee species observed at each site. Red, yellow, green and blue areas correspond to the northwest, center, east, and south sites sampled, respectively. Abbreviations: A. for *Arhysoceble*, C. for *Centris*, Ca. for *Caenonomada*, Ch. for *Chalepogenus*, N. for *Nierembergia* and T. for *Tapinotaspis*.

sólo visitaron flores de los taxa localizados en la región noroeste, en zonas de sierras y alta montaña. Las especies *C. luciane* y *Centris nigriventris* fueron observadas únicamente en los taxa localizados en la provincia de Córdoba, mientras que *C. muelleri* y *Caenonomada bruneri* sólo en la provincia de Entre Ríos, y *C. goeldianus* sólo en el sur de la provincia de Buenos Aires (Figura 3).

El análisis multivariado mostró, con buen ajuste (stress=0.0486), que en general las especies y variedades de *Nierembergia* difieren en la composición de especies de los ensambles (Figura 4). Sin embargo, hubo especies de *Nierembergia* que mostraron el mismo ensamble de polinizadores: *N. browallioides* y *N. pulchella* var. *macrocalyx*, *N.*

aristata y *N. linariifolia* var. *glabriuscula*, y *N. pulchella* var. *pulchella* y *N. tucumanensis*. Para *N. pulchella* se registraron como polinizadores dos especies y para *N. linariifolia*, nueve, pero, a nivel infraespecífico, la composición de los ensambles difirió tanto entre variedades de *N. pulchella* como de *N. linariifolia*, y también entre sitios de *N. linariifolia* var. *linariifolia* (Figuras 3 y 4a).

En cuanto a la estructuración geográfica de la composición de los ensambles de polinizadores, los taxa de *Nierembergia* localizados en las zonas noroeste y este del muestreo realizado se encontraron próximos entre sí y agrupados hacia los extremos derecho e izquierdo del eje 1 del gráfico, respectivamente (Figura 4). Esta disposición

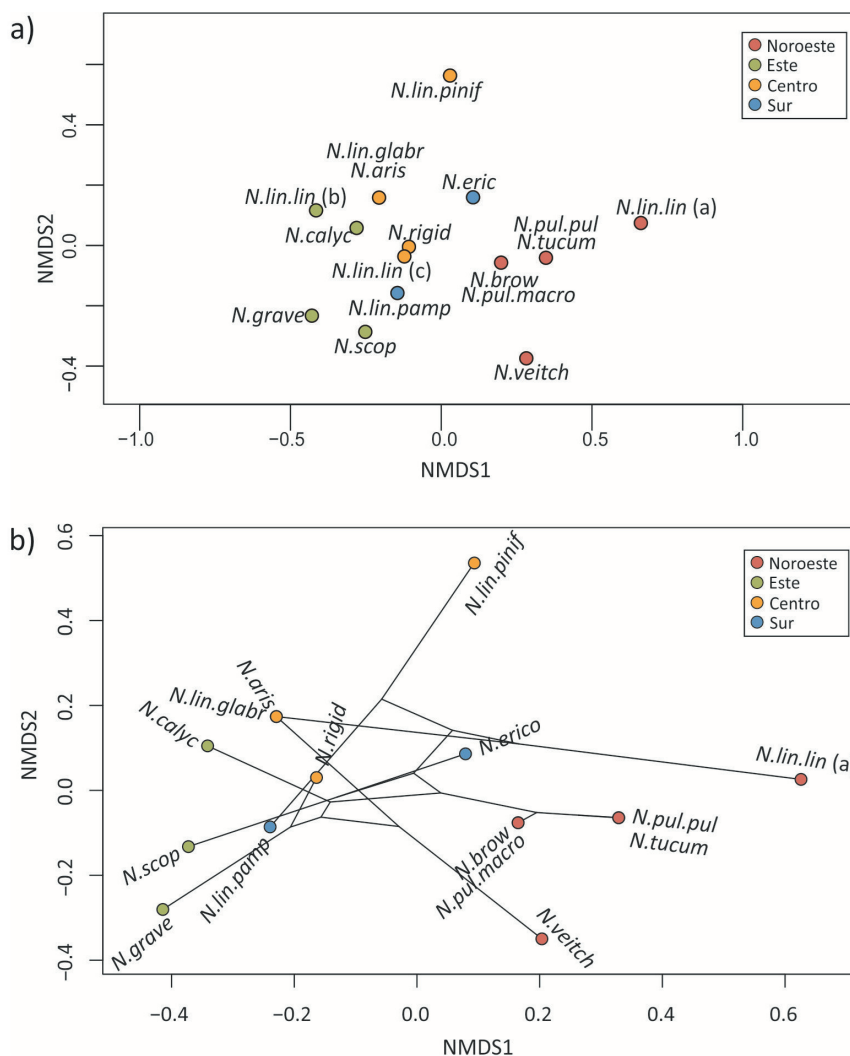


Figura 4. Variación en la composición del ensamble de polinizadores de las especies y variedades de *Nierembergia* en estudio, de acuerdo con la presencia/ausencia de las especies de abejas recolectoras de aceite. a) Gráfico bidimensional del análisis de escala multidimensional no métrica (NMDS1 y NMDS2), que incluye los tres sitios muestreados de *N. linariifolia* var. *linariifolia*, señalados con las letras a, b y c. Los colores corresponden a las zonas geográficas del muestreo de campo. b) Proyección del árbol filogenético de *Nierembergia* en el espacio multivariado. Se muestra el análisis con sólo un sitio de *N. linariifolia* var. *linariifolia*; los análisis con los otros dos sitios se muestran en el Material Suplementario. Abreviaturas: *N. aristata* (*N.aris*), *N. browallioides* (*N.brow*), *N. calycina* (*N.calyc*), *N. ericoides* (*N.eric*), *N. graveolens* (*N.grav*), *N. linariifolia* var. *glabriuscula* (*N.lin.glabr*), *N. linariifolia* var. *linariifolia* (*N.lin.lin*), *N. linariifolia* var. *pampeana* (*N.lin.pamp*), *N. linariifolia* var. *pinifolioides* (*N.lin.pinif*), *N. pulchella* var. *macrocalyx* (*N.pul.macro*), *N. pulchella* var. *pulchella* (*N.pul.pul*), *N. rigida* (*N.rigid*), *N. scoparia* (*N.scop*), *N. tucumanensis* (*N.tucum*) y *N. veitchii* (*N.veitch*).

Figure 4. Variation in the pollinator assemblage composition of *Nierembergia* species and varieties according to the presence/absence of oil-collecting bee species. a) Two-dimensional graphic of the non-metric multidimensional scaling analysis (NMDS1 and NMDS2) which includes the three sampled sites of *N. linariifolia* var. *linariifolia* indicated by the letters a, b, and c. Colors correspond to the geographic areas of the sampled sites. b) Projection of *Nierembergia* phylogenetic tree within the multivariate space. Analysis is presented with only one site of *N. linariifolia* var. *linariifolia*; the analyses with the other two sites are presented in Supplementary Material. Abbreviations: *N. aristata* (*N.aris*), *N. browallioides* (*N.brow*), *N. calycina* (*N.calyc*), *N. ericoides* (*N.eric*), *N. graveolens* (*N.grav*), *N. linariifolia* var. *glabriuscula* (*N.lin.glabr*), *N. linariifolia* var. *linariifolia* (*N.lin.lin*), *N. linariifolia* var. *pampeana* (*N.lin.pamp*), *N. linariifolia* var. *pinifolioides* (*N.lin.pinif*), *N. pulchella* var. *macrocalyx* (*N.pul.macro*), *N. pulchella* var. *pulchella* (*N.pul.pul*), *N. rigida* (*N.rigid*), *N. scoparia* (*N.scop*), *N. tucumanensis* (*N.tucum*) and *N. veitchii* (*N.veitch*).

sugiere que los taxa ubicados en estas áreas presentaron ensambles de polinizadores más similares entre sí que los ubicados en otras

áreas. Por último, los taxa de *Nierembergia* convergieron en el espacio multivariado independientemente de su proximidad

filogenética, a excepción del clado compuesto por *N. browallioides*, *N. tucumanensis* y las dos variedades de *N. pulchella* (Figura 4b).

Variación en rasgos florales

Los dos primeros ejes del ACP explicaron un 99.3% de la variación total en el fenotipo

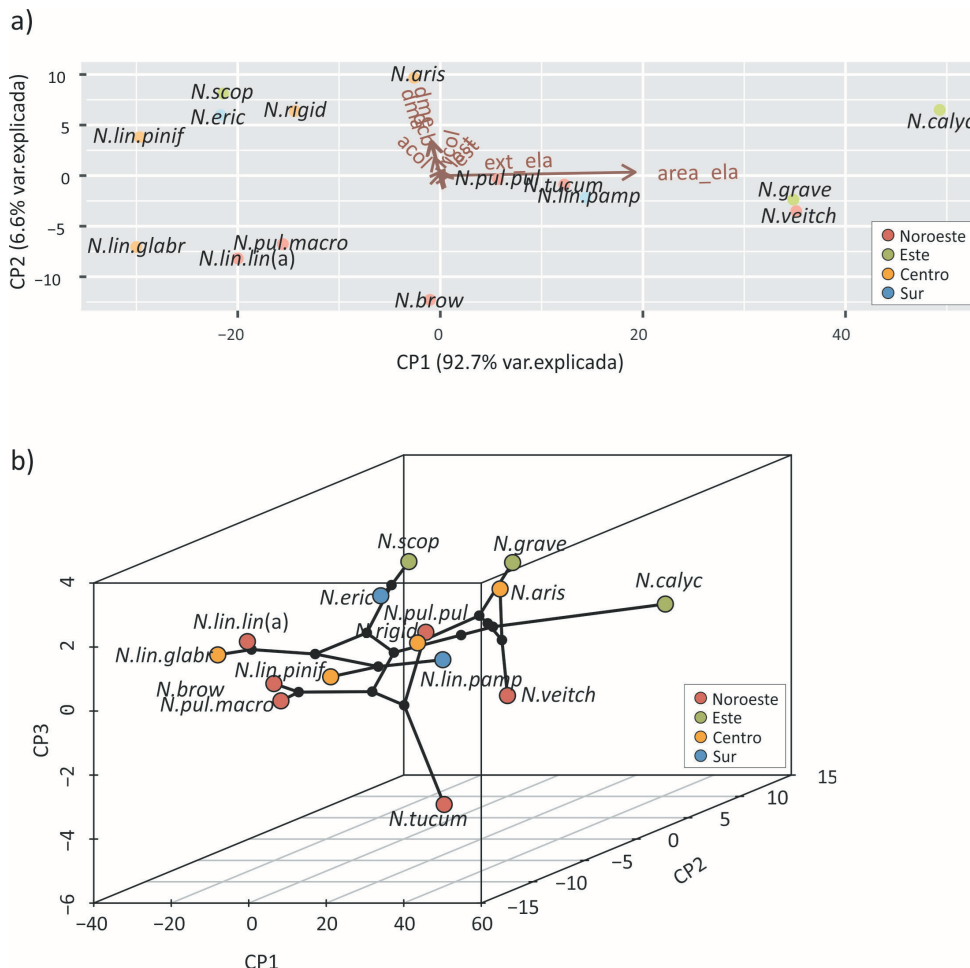


Figura 5. Variación multidimensional del fenotipo floral de las especies y variedades de *Nierembergia* estudiadas. a) Gráfico bidimensional de los dos primeros ejes de la ordenación del Análisis de Componentes Principales de las variables morfométricas florales. Los colores de cada taxón corresponden a las zonas geográficas del muestreo de campo. Entre paréntesis se indica la cantidad de variación explicada por cada eje. b) Gráfico tridimensional de los tres primeros ejes del análisis mencionado, sobre el que se proyectó el árbol filogenético de *Nierembergia*. Abreviaturas: *N. aristata* (*N. aris*), *N. browallioides* (*N. brow*), *N. calycina* (*N. calyc*), *N. ericoides* (*N. eric*), *N. graveolens* (*N. grav*), *N. linariifolia* var. *glabriuscula* (*N. lin. glabr*), *N. linariifolia* var. *linariifolia* (*N. lin. lin*), *N. linariifolia* var. *pampeana* (*N. lin. pamp*), *N. linariifolia* var. *pinifolioides* (*N. lin. pinif*), *N. pulchella* var. *macrocalyx* (*N. pul. macro*), *N. pulchella* var. *pulchella* (*N. pul. pul*), *N. rigida* (*N. rigid*), *N. scoparia* (*N. scop*), *N. tucumanensis* (*N. tucum*), *N. veitchii* (*N. veitch*); diámetro mayor de la corola (DMA), diámetro menor de la corola (DME), distancia del centro de la flor al borde del pétalo mayor (DCB), longitud de la porción del estilo que sobresale de la corola y estigma (LEST), longitud máxima de estambres (EST1), ancho de la base de la columna de piezas fértiles (ACOL), y radio de la circunferencia formada por la columna de piezas fértiles desde vista superior (RCOL), área total del elaióforo (AELA) y radio de la superficie de la corola ocupada por tricomas (RELA).

Figure 5. Multidimensional variation of flower phenotype of *Nierembergia* species and varieties studied. a) two-dimensional graph with the two first axes of the Principal Component Analysis of morphometric variables. Colors correspond to the geographic area of the sampled taxon. Between brackets states the percentage of explained variation by each axis. b) three-dimensional graph with the first three axes where *Nierembergia* phylogenetic tree was projected. Abbreviations: *N. aristata* (*N. aris*), *N. browallioides* (*N. brow*), *N. calycina* (*N. calyc*), *N. ericoides* (*N. eric*), *N. graveolens* (*N. grav*), *N. linariifolia* var. *glabriuscula* (*N. lin. glabr*), *N. linariifolia* var. *linariifolia* (*N. lin. lin*), *N. linariifolia* var. *pampeana* (*N. lin. pamp*), *N. linariifolia* var. *pinifolioides* (*N. lin. pinif*), *N. pulchella* var. *macrocalyx* (*N. pul. macro*), *N. pulchella* var. *pulchella* (*N. pul. pul*), *N. rigida* (*N. rigid*), *N. scoparia* (*N. scop*), *N. tucumanensis* (*N. tucum*), *N. veitchii* (*N. veitch*), largest corolla diameter (DMA), smallest corolla diameter (DME), distance from the center of the flower to the margin of the largest corolla lobe (DCB), longitude of the exposed portion of the style over the corolla limb (LEST), maximum stamen longitude (EST1), width of the base of the column of fertile parts (ACOL), diameter of the circumference delimited by the fertile parts column in overview (as a measure of the fertile parts divergence; RCOL), elaiophore total area (AELA), and radius of the area covered by trichomes of the elaiophore (RELA).

floral de los taxa de *Nierembergia* (Figura 5a). La variable más fuertemente asociada con el eje de máxima variación (CP1 o primer eje de ordenación) fue el área del elaióforo (AELA) (Tabla 2), lo que indica que a lo largo de este eje las especies y variedades de *Nierembergia* varían en el tamaño de la superficie productora de aceite, con especies como *N. calycina*, *N. graveolens* y *N. veitchii* entre las que presentan elaióforos de mayor tamaño (Figura 5a). El segundo eje de máxima variación (CP2 o segundo eje de ordenación) explicó un 6.6% de la variación total y se asoció principalmente a los diámetros mayor y menor de las flores (DMA y DME, respectivamente) y en menor medida a la distancia desde el centro de la corola al extremo del pétalo mayor (DCB) (Tabla 2, Figura 5a). Es decir que los taxa de *Nierembergia* se distribuyeron a lo largo de

este eje de acuerdo con el tamaño del limbo floral, con especies como *N. aristata*, *N. scoparia*, *N. rigida* y *N. calycina* entre las de limbo de mayor tamaño, y *N. browallioides*, entre las de limbo más pequeño. El tercer eje de máxima variación (CP3 o tercer eje de ordenación) explicó un 0.44% de la variación. Se asoció principalmente a la longitud del estilo y la de los estambres más largos (LEST y EST1) (Tabla 2), es decir a la altura de las piezas fértiles. No se observó agrupamiento de taxa de acuerdo a las zonas geográficas donde éstos fueron muestreados. Esto sugiere que la similitud en el fenotipo floral multivariado no se relaciona con la localización geográfica.

Por último, en el filomorfoespacio (Figura 5b) construido con los tres primeros ejes de ordenación del ACP se observó que algunos taxa cercanamente emparentados se encuentran próximos en el espacio multivariado (e.g., *N. scoparia* y *N. ericoides*), mientras que en otras áreas del gráfico se observó convergencia. Esto sugiere que el fenotipo floral se encuentra parcialmente conservado en la filogenia del género.

Tabla 2. Contribución de los rasgos florales a los tres primeros ejes (CP) del análisis de componentes principales del fenotipo floral de las especies y variedades de *Nierembergia* en estudio.

Table 2. Contribution of floral traits to the three first axes (CP) of the principal component analysis of flower phenotype of studied species and varieties of *Nierembergia*.

Variables	CP1	CP2	CP3
DCB	-0.0289	0.3493	0.0379
DMA	-0.0505	0.6460	0.1368
DME	-0.0417	0.6585	0.0582
RCOL	0.0031	0.0473	-0.2048
ACOL	-0.0062	0.0237	-0.0332
LEST	0.0184	0.0895	-0.7759
EST	0.0208	0.1086	-0.5738
RELA	0.0453	0.0068	-0.0258
AELA	0.9960	0.0662	0.0384

Asociación entre composición de ensambles de polinizadores, localización geográfica, morfología floral y relaciones filogenéticas

Se encontró correlación alta y significativa entre las matrices de distancia ecológica y geográfica, es decir que la composición de especies del ensamble de polinizadores en los taxa de *Nierembergia* está relacionada con la localización geográfica de dichos taxa (Tabla 3). Este resultado indica que taxa localizados en sitios próximos y de altitud similar se

Tabla 3. Pruebas de Mantel para la correlación entre diferencias en la composición de los ensambles de polinizadores, la localización geográfica, el fenotipo floral y las relaciones filogenéticas en las especies y variedades de *Nierembergia* en estudio. En el triángulo superior se muestran los resultados de la prueba parcial de Mantel, en la que se controló la distancia morfológica o geográfica. Se reportan los valores de correlación (r) y entre paréntesis los valores de significancia (P) obtenidos a partir de test de permutación con 999 iteraciones. Las letras a, b y c corresponden a las matrices construidas con la información de los distintos sitios de muestreo de *N. linariifolia* var. *linariifolia*. n.a.: no aplica. Con asterisco se indican las correlaciones significativas.

Table 3. Mantel tests between differences in pollinator assemblages, geographic localization, floral phenotype and phylogenetic relationships among species and varieties of *Nierembergia*. Over the diagonal results of the partial Mantel tests are shown in which phenotypic and geographic distances were controlled. Correlation values (r) are reported; significance values (P) obtained from a permutation test with 999 permutations are shown between brackets. Letters a, b, and c correspond to the matrices built each with the information of the different sites of *N. linariifolia* var. *linariifolia*. n.a.: not applicable. Asterisk indicates significant correlations.

Matrices de distancia	Ecológica	Geográfica	Morfológica	Filogenética
Ecológica	-	0.559 (0.001)*	0.017 (0.395)	a. 0.005 (0.413) b. 0.002 (0.361) c. 0.017 (0.421)
Geográfica	0.551 (0.001)*	-	n.a.	n.a.
Morfológica	-0.004 (0.495)	-0.034 (0.633)	-	n.a.
Filogenética	a. 0.083 (0.204) b. 0.093 (0.163) c. 0.091 (0.172)	n.a.	-0.004 (0.473)	-

asemejan en la composición de sus ensambles de polinizadores.

No hubo correlación entre las matrices ecológica y morfológica, lo que sugiere que la composición de especies de los ensambles de polinizadores no está asociada a la variación fenotípica en las medidas florales consideradas (Tabla 3). Asimismo, no se encontró correlación entre la matriz morfológica y la matriz geográfica (Tabla 3).

Por último, las pruebas de correlación entre las matrices ecológica y filogenética mostraron que no hay un patrón filogenético en la composición de los ensambles de polinizadores de *Nierembergia* (Tabla 3). La diversidad morfológica floral no estuvo correlacionada con la distancia filogenética (Tabla 3).

DISCUSIÓN

En este trabajo confirmamos que la variación de los ensambles de polinizadores entre especies y variedades de *Nierembergia* que habitan en la Argentina está asociada, en gran parte, a la localización geográfica de sus poblaciones, es decir que los taxa que se encuentran en áreas próximas presentan mayor similitud en la composición de sus ensambles de polinizadores que taxa alejados geográficamente. La estructuración espacial de los ensambles se refleja a su vez en el registro de numerosas especies de abejas recolectoras de aceite únicamente en determinadas zonas geográficas. No obstante, se destaca la presencia de *C. parvus* en los ensambles de polinizadores de la mayoría de los taxa de *Nierembergia* localizados en las zonas centro, este y sur del muestreo.

Los resultados mostraron, además, que la composición de los ensambles de polinizadores, aunque está estructurada geográficamente, no presenta un patrón filogenético. Distintos clados de *Nierembergia* convergen en la composición de sus ensambles de polinizadores en las zonas geográficas de la Argentina consideradas en el estudio. Sin embargo, se encontró una asociación particularmente notable en las especies y variedades que se restringen a zonas de elevada altitud en la región noroeste del país (*N. browallioides*, *N. tucumanensis*, *N. pulchella* y *N. veitchii*) (Cocucci and Hunziker 1995; Hunziker et al. 1995) que comparten en gran medida la composición de sus ensambles de

polinizadores, con la presencia de *Chalepogenus cocuccii* y *C. neffi* como especies recurrentes y exclusivas de esa región. En este grupo de taxa, las tres primeras especies pertenecen a un mismo clado dentro de la filogenia de *Nierembergia*, por lo que la zona noroeste del muestreo constituye la única región en la que especies hermanas comparten la composición de sus ensambles de polinizadores. Este patrón en la configuración de los ensambles de polinizadores podría explicarse a partir de la historia biogeográfica del género reportada por Acosta et al. (2015). Según estos autores, *Nierembergia* presenta dos grandes linajes filogenéticos que se componen de especies de hábitats montañosos (i.e., clado de tierras altas) y especies de hábitats de llanura (i.e., clado de tierras bajas), respectivamente, que se habrían originado a partir del aislamiento geográfico hace 8 millones de años por la ingresión marina del Mar Paranaense. Las especies mencionadas conforman uno de los subclados dentro del clado de tierras altas, al igual que *N. linariifolia* var. *linariifolia* que pertenece a otro de los subclados de tierras altas, y que fue muestreada en la zona noroeste y comparte el ensamble de polinizadores con dichas especies. Estos resultados podrían considerarse parte de la evidencia de los primeros eventos de diversificación del género en dos grandes linajes asociada a procesos histórico-geográficos en el territorio.

Por otro lado, no se encontró evidencia de que la variación interespecífica de los ensambles de polinizadores estuviera asociada al fenotipo floral. Las flores de las especies y variedades de *Nierembergia* varían principalmente en el tamaño del limbo y de la glándula productora de aceite, y la similitud fenotípica se conserva entre algunas especies hermanas, pero no entre sitios geográficamente próximos. De acuerdo con los resultados obtenidos, los taxa con fenotipo floral similar no comparten la composición del ensamble de polinizadores, es decir que en *Nierembergia* no se distinguen tipos florales que atraigan a grupos o especies particulares de polinizadores. Esta falta de asociación entre fenotipo floral y ensamble de polinizadores puede deberse a que muchos de los ensambles de polinizadores de *Nierembergia* se componen de especies de distintos grupos funcionales dentro del grupo de las abejas recolectoras de aceite, que ejercerían distintas presiones de selección sobre los rasgos florales (Maubecin et al. 2021). En especies de plantas polinizadas por numerosas especies de polinizadores puede ocurrir tanto que éstos

afecten la evolución del fenotipo floral de manera colectiva como que la influencia de una especie de polinizador prevalezca por sobre las demás (Fenster et al. 2004; Poblete et al. 2019), pero no es posible discernir entre estos procesos selectivos a partir de las aproximaciones del presente estudio.

Asimismo, puede suceder que la influencia de la selección mediada por polinizadores sobre los rasgos florales se manifieste en otros niveles de organización del fenotipo (e.g., en las correlaciones entre rasgos o la integración fenotípica) (Ordano et al. 2008; Maubecin et al. en preparación) o que involucre rasgos no considerados en este trabajo. En este sentido, cabe destacar que las especies y variedades de *Nierembergia* presentan una notable variación en la coloración de las flores (ver Figura 1) e incluso dentro y entre poblaciones de una misma especie (observación personal). Aunque el color de las flores no fue un rasgo incluido en este trabajo, se observó que no estaría relacionado con la presencia de alguna especie de polinizador en particular. Sin embargo, sería interesante indagar sobre la reflexión de UV por parte del elaióforo, que se ha mencionado para *N. linariifolia* (Nattero et al. 2010) y se ha reportado para otras especies oleíferas (Baranzelli et al. 2014). Por otro lado, resulta interesante que uno de los rasgos con mayor variación entre taxa (AELA) esté relacionado con la glándula productora de la principal recompensa floral en *Nierembergia*. Este y otros rasgos del elaióforo parecen estar relacionados con características fenotípicas particulares de los polinizadores (Augusto et al. en preparación), y no con la composición de los ensambles.

La diversidad de especies de polinizadores reportada en este trabajo para los taxa de *Nierembergia* sugiere que se trata de un género con especies clave para la conservación de este grupo funcionalmente especializado de abejas. La variación geográfica de los ensambles de polinizadores muestra que los taxa de *Nierembergia* contribuyen a la presencia de numerosas especies de abejas recolectoras de aceite en distintas áreas del territorio, pudiendo representar incluso una fuente casi exclusiva de recursos florales para ellas, como en el caso de *Chalepogenus cocuccii* (Maubecin et al. 2020). Sin embargo, el listado de las especies de polinizadores de *Nierembergia* no es exhaustivo porque, aunque muchos de los taxa considerados en este trabajo se restringen a la zona geográfica donde se localizó su sitio de muestreo (i.e., NOA, NEA), otros tienen

una amplia distribución en el país y en este estudio fueron considerados sólo uno o unos pocos sitios de muestreo. Tal es el caso de *N. linariifolia*, uno de los taxa de amplia distribución, del cual se había reportado variación geográfica en el ensamble de polinizadores a escala local (Cosacov et al. 2008; Nattero et al. 2010). En este trabajo confirmamos que la composición del ensamble de polinizadores en esta especie también varía a una escala geográfica mucho más amplia, tanto entre variedades taxonómicas como entre localidades de una misma variedad. Asimismo, encontramos que hay variación infraespecífica en el fenotipo floral, y entre sitios de una misma variedad, lo que sugieren la presencia de ecotipos en esta especie, es decir de variaciones geográficas en el fenotipo floral o en rasgos florales particulares en respuesta a las diferencias geográficas en las especies de polinizadores disponibles o bien a la variación geográfica en la morfología o en el comportamiento de un polinizador específico (Philips et al. 2015).

Las interacciones de polinización que involucran especies de flores oleíferas y abejas recolectoras de aceite en la Argentina proporcionan información relevante no sólo para generar estrategias de conservación de las interacciones entre plantas y polinizadores, sino también para el entendimiento de la ecología y evolución de la polinización en este tipo de sistemas. Los reportes de este trabajo aportan además nuevos registros de interacciones de polinización para algunas de las especies de abejas nativas participantes, como *Caenonomada bruneri*, de la que sólo se conocían visitas a especies de Plantaginaceae e Iridaceae (Schlindwein 1998; Cocucci et al. 2000; Aguiar and Melo 2009; Martins et al. 2013). Cabe destacar que estas abejas no sólo cumplen un rol importante en la polinización de las flores de *Nierembergia*, sino también en la polinización de otras especies de la flora nativa de la Argentina, ya que si bien están especializadas en recoger el aceite de las especies oleíferas, también son frecuentes polinizadores de otras especies de plantas a las que acuden para tomar néctar (necesario para el vuelo), polen o aceite.

Finalmente, destacamos que los resultados de este trabajo contribuyen al estudio de patrones geográficos en un marco filogenético, aproximación que sólo se comenzó a explorar recientemente (e.g., Spalink et al. 2016). En el género *Nierembergia* confirmamos una fuerte especialización en la polinización por abejas

recolectoras de aceite en el área abordada, como se espera entre plantas productoras de aceite y el mencionado grupo de abejas, pero una generalización en cuanto al número de especies visitantes a escala geográfica, reportado para *N. linariifolia* en menor escala (Cosacov et al. 2008). Encontramos un patrón macroevolutivo mixto en el cual numerosas especies y variedades filogenéticamente alejadas convergen geográficamente (i.e., sobredispersión filogenética) (Villalobos et al. 2013), y convergen parcial o totalmente en la composición del ensamble de polinizadores, mientras que otros taxa filogenéticamente cercanos se encuentran circunscritos en un área geográfica particular y presentan ensambles de polinizadores similares. Esto sugiere que el rol de los polinizadores en la diversificación de los linajes en *Nierembergia* es más complejo de lo que se pensaba y que la relación entre la diversificación, la historia biogeográfica, la posible divergencia en el nicho ecológico de polinización y la ocupación del espacio geográfico es explicada

por un complejo entramado que excede a los factores considerados en este trabajo. En este sentido, un entendimiento más acabado de estas relaciones podría lograrse incorporando otras variables explicativas, como la influencia de condiciones abióticas y los rangos de distribución de las especies de abejas que componen los ensambles, y una mayor cantidad de sitios de muestreo de aquellos taxa de *Nierembergia* ampliamente distribuidos en la Argentina.

AGRADECIMIENTOS. Este trabajo fue realizado con financiamiento del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, PIP 201101-00245, PIP 11220150100690CO) y el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONCYT-PICT-2011-0837, FONCYT-PICT 2015-3089). Agradecemos muy especialmente la colaboración de colegas, amistades y familia en el trabajo de campo. CCM y ANS forman parte del CONICET como becaria posdoctoral e investigadora de la Carrera del Investigador, respectivamente.

REFERENCIAS

- Acosta, M. C., E. A. Moscone, and A. A. Cocucci. 2015. Using chromosomal data in the phylogenetic and molecular dating framework: karyotype evolution and diversification in *Nierembergia* (Solanaceae) influenced by historical changes in sea level. *Plant Biology* 18(3):514-526. <https://doi.org/10.1111/plb.12430>.
- Aguiar, A. J. C., and G. A. R. Melo. 2009. Notes on oil sources for the bee genus *Caenonomada* (Hymenoptera, Apidae, Tapinotaspidini). *Revista Brasileira de Entomologia* 53:154-156. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262009000100033>.
- Aliscioni, S. S., N. E. Gomiz, J. I. Agüero, and J. P. Torretta. 2021. Structural diversity of elaiophores in Argentine species of Malpighiaceae: morphology, anatomy, and interaction with pollinators. *Protoplasma* 1-19. <https://doi.org/10.1007/s00709-021-01699-x>.
- Alves-dos-Santos, I., I. C. Machado, and M. C. Gaglianone. 2007. História natural das abelhas coletoras de óleo. *Oecologia Brasiliensis* 11(4):554-557. <https://doi.org/10.4257/oeco.2007.1104.06>.
- Anacker, B. L., and S. Y. Strauss. 2014. The geography and ecology of plant speciation: range overlap and niche divergence in sister species. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 281:20132980. <http://doi.org/10.1098/rspb.2013.2980>.
- Arbuckle, K., and M. P. Speed. 2016. *Analysing Convergent Evolution: A Practical Guide to Methods*. Pp. 23-36 in P. Pontarotti (eds.). *Evolutionary Biology*. Springer, Cham, Switzerland. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-41324-2>.
- Baranzelli, M. C., L. A. Johnson, A. Cosacov, and A. N. Sérsic. 2014. Historical and ecological divergence among populations of *Monttea chilensis* (Plantaginaceae), an endemic endangered shrub bordering the Atacama Desert, Chile. *Evolutionary Ecology* 28(4):751-774. <https://doi.org/10.1007/s10682-014-9694-y>.
- Buchmann, S. L. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:343-369. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.002015>.
- Cocucci, A. A. 1991. Pollination biology of *Nierembergia* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 174:17-35. <https://doi.org/10.1007/BF00937691>.
- Cocucci, A. A., and A. T. Hunziker. 1995. Estudios sobre Solanaceae. XLI. *Nierembergia linariaefolia* y *N. pulchella*: sus sinónimos y variedades. *Darwiniana* 33(1-4):35-42.
- Cocucci, A. A., A. Sérsic, and A. Roig-Alsina. 2000. Oil-collecting structures in Tapinotaspidini: their diversity, function and probable origin. *Mitteilungen der Münchner Entomologischen Gesellschaft* 90:51-74.
- Cosacov, A., J. Nattero, and A. A. Cocucci. 2008. Variation of pollinator assemblages and pollen limitation in a locally specialized system: the oil-producing *Nierembergia linariifolia* (Solanaceae). *Annals of Botany* 102:723-734. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn154>.
- Cosacov, A., A. A. Cocucci, and A. N. Sérsic. 2014. Geographical differentiation in floral traits across the distribution range of the Patagonian oil-secreting *Calceolaria polyrhiza*: do pollinators matter? *Annals of Botany* 113(2):251-266. <https://doi.org/10.1093/aob/mct239>.
- Dodd, M. E., J. Silvertown, and M. W. Chase. 1999. Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among angiosperm families. *Evolution* 53(3):732-744. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb05367.x>.

- Faegri, K., and L. Van der Pijl. 1979. The principles of pollination ecology. Oxford: Pergamon. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-023160-0.50020-7>.
- Fenster, C. B., W. S. Armbruster, P. Wilson, M. R. Dudash, and J. D. Thomson. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 375-403. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347>.
- Ferreiro, G., M. C. Baranzelli, A. N. Sérsic, A. N., and A. A. Cocucci. 2015. Clinal variability of oil and nectar rewards in *Monttea aphylla* (Plantaginaceae): relationships with pollinators and climatic factors in the Monte Desert. *Botanical Journal of the Linnean Society* 178(2):314-328. <https://doi.org/10.1111/boj.12280>.
- Herrera, C. M., M. C. Castellanos, and M. Medrano. 2006. Geographical context of floral evolution: towards an improved research programme in floral diversification. Pp. 278-294 *en* L. D. Harder and S. C. H. Barret (eds.). *Ecology and Evolution of flowers*. Oxford University Press, New York.
- Hunziker, A. T., A. A. Cocucci, and R. Subils. 1995. Subtribu VIIb. Nierembergiinae Hunz. et Cocucci. *Flora fanerogamica Argentina: Solanaceae, Córdoba*. Profora 15:3-17.
- Johnson, S. D., and K. E. Steiner. 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends in Ecology and Evolution* 15:140-143. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01811-X](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01811-X).
- Losos, J. B. 2009. Lizards in an evolutionary tree: ecology and adaptive radiation of anoles. University of California Press, Berkeley, CA. <https://doi.org/10.1525/california/9780520255913.001.0001>.
- Martins, A. C., A. J. Aguiar, and I. Alves-dos-Santos. 2013. Interaction between oil-collecting bees and seven species of Plantaginaceae. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 208(7):401-411. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2013.07.001>.
- Martins, A. C., G. A. Melo, and S. S. Renner. 2015. Gain and loss of specialization in two oil-bee lineages, *Centris* and *Epicharis* (Apidae). *Evolution* 69:1835-1844. <https://doi.org/10.1111/evo.12689>.
- Maubecin, C. C. 2019. El rol de los polinizadores y la historia filogenética sobre la divergencia, integración y modularidad del fenotipo floral de *Nierembergia* (Solanaceae). Ph Thesis, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.
- Maubecin, C. C., L. Boero, and A. N. Sérsic. 2020. Specialisation in pollen collection, pollination interactions and phenotypic variation of the oil-collecting bee *Chalepogenus cocuccii*. *Apidologie* 51(5):710-723. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00755-4>.
- Maubecin, C. C., N. Rocamundi, N. Palombo, L. A. Aguirre, A. A. Cocucci, and A. N. Sérsic. 2021. Teasing out the functional groups of oil-collecting bees in the light of the pollination of *Nierembergia* flowers. *Arthropod-Plant Interactions* 15(5):809-819. <https://doi.org/10.1007/s11829-021-09864-y>.
- Michener, C. D. 2007. The bees of the world. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Moeller, D. A. 2005. Pollinator community structure and sources of spatial variation in plant-pollinator interactions in *Clarkia xantiana* ssp. *xantiana*. *Oecologia* 142(1):28-37. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1693-1>.
- Nattero, J., A. A. Cocucci, and R. Medel. 2010. Pollinator-mediated selection in a specialized pollination system: matches and mismatches across populations. *Journal of Evolutionary Biology* 23:1957-1968. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02060.x>.
- Nattero, J., R. Malerba, R. Medel, and A. Cocucci. 2011. Factors affecting pollinator movement and plant fitness in a specialized pollination system. *Plant Systematics and Evolution* 296(1):77-85. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0477-4>.
- Neff, J. L., and B. B. Simpson. 2005. Rewards in flowers. other rewards: oils, resins, and gums. Pp. 314-328 *en* A. Dafni, P. G. Kevan and B. C. Husband (eds.). *Practical pollination biology*. Enviroquest, Cambridge, UK.
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin, R. B. O'hara, et al. 2020. Package 'vegan.' *Community Ecology*. R package version 2.5-7. URL: CRAN.R-project.org/package=vegan.
- Ordano, M., J. Fornoni, K. Boege, and C. A. Domínguez. 2008. The adaptive value of phenotypic floral integration. *New Phytologist* 179(4):1183-1192. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02523.x>.
- Paradis, E., J. Claude, and K. Strimmer. 2004. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20:289-290. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg412>.
- Phillips, R. D., B. Bohman, J. M. Anthony, S. L. Krauss, K. W. Dixon, and R. Peakall. 2015. Mismatch in the distribution of floral ecotypes and pollinators: insights into the evolution of sexually deceptive orchids. *Journal of Evolutionary Biology* 28(3):601-612. <https://doi.org/10.1111/jeb.12593>.
- Poblete Palacios, J. A., F. Soteras, and A. A. Cocucci. 2019. Mechanical fit between flower and pollinators in relation to realized precision and accuracy in the hummingbird-pollinated *Dolichandra cyanchooides*. *Biological Journal of the Linnean Society* 126(4):655-665. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/bly219>.
- R Core Team. 2021. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: R-project.org.
- Rasmussen, C., and J. M. Olesen. 2000. Oil flowers and oil-collecting bees. *Det Norske Videnskaps-Akademi. I. Matematisk Naturvidenskapelige Klasse Skrifter* 39:23-31.
- Reginato, M., and F. A. Michelangeli. 2016. Untangling the phylogeny of *Leandra* s. str. (Melastomataceae, Miconieae). *Molecular phylogenetics and evolution* 96:17-32. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.11.015>.
- Renner, S. S., and H. Schaefer. 2010. The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 365:423-435. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0229>.

- Revell, L. J. 2012. phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in ecology and evolution* 3:217-223. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x>.
- Roig Alsina, A. 1999. Revisión de las abejas colectoras de aceites del género *Chalepogenus* Holmberg (Hymenoptera, Apidae, Tapinotaspidini). *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 1:67-101. <https://doi.org/10.22179/REVMACN.1.143>.
- Roig Alsina, A. 2000. Claves para las especies argentinas de *Centris* (Hymenoptera, Apidae), con descripción de nuevas especies y notas sobre distribución. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 2:171-193. <https://doi.org/10.22179/REVMACN.2.154>.
- Rosas-Guerrero, V., R. Aguilar, S. Martín-Rodríguez, L. Ashworth, M. Lopezaraiza-Mikel, J. M. Bastida, and M. Quesada. 2014. A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters* 17(3):388-400. <https://doi.org/10.1111/ele.12224>.
- Schlundwein, C. 1998. Frequent oligolecty characterizing a diverse bee-plant community in a xerophytic bushland of Subtropical Brazil. *Studies in Neotropical Fauna and Environment* 33:46-59. <https://doi.org/10.1076/snfe.33.1.46.2168>.
- Sérsic, A. N. 2004. Pollination biology in the genus *Calceolaria*. *Stapfia* 82:1-121.
- Simpson, B. B., and Neff, J. L. 1981. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68:301-322. <https://doi.org/10.2307/2398800>.
- Smith, S. D. 2010. Using phylogenetics to detect pollinator-mediated floral evolution. *New Phytologist* 188(2):354-363. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03292.x>.
- Smith, S. D., and R. Kriebel. 2018. Convergent evolution of floral shape tied to pollinator shifts in *Iochrominae* (Solanaceae). *Evolution* 72(3):688-697. <https://doi.org/10.1111/evo.13416>.
- Smouse, P. E., J. C. Long, and R. R. Sokal. 1986. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Systematic Zoology* 35:627-632. <https://doi.org/10.2307/2413122>.
- Sosa-Pivatto, M., G. A. Camps, M. C. Baranzelli, A. Espíndola, A. N. Sérsic, and A. Cosacov. 2020. Connection, isolation and reconnection: Quaternary climatic oscillations and the Andes shaped the phylogeographical patterns of the Patagonian bee *Centris cineraria* (Apidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 131(2):396-416. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa116>.
- Spalink, D., B. T. Drew, M. C. Pace, J. G. Zaborsky, P. Li, K. M. Cameron, T. J. Givnish, and K. J. Sytsma. 2016. Evolution of geographical place and niche space: Patterns of diversification in the North American sedge (Cyperaceae) flora. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 95:183-195. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.09.028>.
- Stebbins, G. L. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. 1. Pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:307-326. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.01.110170.001515>.
- Tate, J. A., M. C. Acosta, J. McDill, E. A. Moscone, B. B. Simpson, and A. A. Cocucci. 2009. Phylogeny and character evolution in *Nierembergia* (Solanaceae): Molecular, morphological, and cytogenetic evidence. *Systematic Botany* 34(1): 198-206. <https://doi.org/10.1600/036364409787602249>.
- Torretta, J. P., A. S. Aliscioni, A. González-Arzac, and A. A. Avalos. 2017. Is the variation of floral elaiophore size in two species of *Stigmaphyllon* (Malpighiaceae) dependent on interaction with pollinators? *Plant Ecology and Diversity* 10(5-6):403-418. <https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1434567>.
- van der Niet, T., R. Peakall, and S. D. Johnson. 2014. Pollinator-driven ecological speciation in plants: new evidence and future perspectives. *Annals of Botany* 113:199-211. <https://doi.org/10.1093/aob/mct290>.
- Villalobos, F., T. F. Rangel, and J. A. F. Diniz-Filho. 2013. Phylogenetic fields of species: cross-species patterns of phylogenetic structure and geographical coexistence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280(1756): 20122570. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2570>.
- Vogel, S. 1971. Ölproduzierende Blumen, die durch ölsammelnde Bienen bestäubt werden. *Naturwissenschaften* 58: 58. <https://doi.org/10.1007/BF00620817>.
- Vogel, S. 1974. Ölblumen und Ölsammelnde Bienen. *Akad Wiss u Lit Abh Math Naturwiss Kl* 7:285-547.