

UCH-FC  
MAG-EDE  
M 984  
C.1

**SELECCIÓN MEDIADA POR POLINIZADORES EN *VIOLA*  
*PORTALESIA* (GAY) EN PARCHES DE HABITATS  
CONTRASTANTES**

Tesis

Entregada a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva



Facultad de Ciencias

por

**MAUREEN MONZERRAT MURÚA IBARRA**

Enero de 2009

**Director de tesis: Dr. Rodrigo Medel C.**

**Co-director: Dr. Ramiro Bustamante A.**

**FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACIÓN  
TESIS DE MAGÍSTER**

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Ecológicas que la Tesis  
de Magíster presentada por la candidata

**MAUREEN MONZERRAT MURÚA IBARRA**

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de la Tesis como requisito para optar al  
grado de Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el  
Examen de Defensa de Tesis rendido el día 16 de Enero del año 2009.

Directores de Tesis:

Dr. Rodrigo Medel

Dr. Ramiro Bustamante

Comisión de Evaluación de la Tesis:

Dr. Javier Simonetti

Dra. Fernanda Pérez





Nací el 23 de Julio de 1981 en la ciudad de Antofagasta, Chile. Estudié en el Instituto Santa María de Antofagasta y posteriormente ingresé a la Universidad de Antofagasta a la carrera de Ecología Marina, donde me gradue el año 2005. Durante mi formación de pregrado tuve mi primera aproximación a las ciencias a través de la participación en diversos proyectos de investigación desarrollados en mi facultad, lo cual generó en mi un fuerte apego por la investigación. Con esto en mente, decidí experimentar más de cerca el que hacer científico por lo cual ingresé a trabajar a la Estación Costera de Investigaciones Marinas (ECIM) de la Pontificia Universidad Católica. Después de esta fuerte experiencia, en marzo de 2007 decidí ingresar al Magíster en Ciencias Biológicas de la Universidad de Chile. Fue en ese momento cuando mi carrera tubo un vuelco importante, encontrando en la ecología terrestre una área de profundo interés. Esta nueva motivación me condujo al laboratorio de Ecología Evolutiva del Dr. Rodrigo Medel, en el cual me transformé en su tesista. Mis intereses van en el línea de la ecología evolutiva. Específicamente, me encuentro interesada en el estudio de los procesos coevolutivos entre las plantas y animales. Por lo cual, deseo continuar mi proceso formativo a través de estudios de doctorado, los cuales me permitan tener las herramientas necesarias para realizar investigación científica de alto impacto y una exitosa carrera académica.

*a Marcelo por la incondicional confianza en cada uno de mis proyectos*

*y*

*a mis padres Lorena y Rubén*



## AGRADECIMIENTOS



En primera instancia a Marcelo Campo por el apoyo moral e intelectual durante el desarrollo de mi postgrado, donde en cada momento de discusión se abrió una brecha importante en mi mente para lograr relacionar el conocimiento y finalizar con éxito este proyecto. A mi tutor Dr. Rodrigo Medel quien dedico gran parte de su tiempo a escuchar mis insistentes preguntas y, a resolver y apoyar en todo momento el desarrollo de esta tesis. Al Dr. Ramiro Bustamante, mi cotutor, quien puso a mi disposición su tiempo y conocimientos para el mejor desarrollo de esta investigación. Al Dr. Antonio Rivera quien desinteresadamente dedico una fracción importante de su tiempo a debatir, revisar y sugerir cambios en este manuscrito, influyendo directa y significativamente en las decisiones tomadas en torno a esta tesis. A mi compañera de terreno Claudia Espinoza con la cual compartimos largas jornadas de campo y, cuyos cuestionamientos y discusiones fueron de relevancia para la finalización de este proyecto. Además, me gustaría agradecer a todos aquellos que participaron de los trabajo de campo durante la primavera 2007, quien lograron hacer más entretenido y entusiasta el trabajo en terreno, así como también las largas noches en Pelluhue. Finalmente, agradezco el financiamiento para el desarrollo de esta tesis otorgado por el proyecto Anillo en Ciencia y Tecnología ACT 36/2007 a cargo del Dr. Rodrigo Medel, el cual financió en su totalidad esta investigación.

# INDICE



<b>INDICE</b> .....	6
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	8
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	9
<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>INTRODUCCION</b> .....	12
<b>OBJETIVOS</b> .....	15
Objetivo general.....	15
Objetivos específicos.....	15
<b>HIPOTESIS</b> .....	16
<b>MATERIALES Y METODOS</b> .....	17
Historia natural de <i>V. portalesia</i> .....	17
Sitios de estudio.....	18
Ensamble de polinizadores.....	19
Morfometría geométrica y Morfometría convencional.....	20
Caracteres florales y análisis de selección natural.....	23
Análisis de ecuaciones estructurales.....	26
<b>RESULTADOS</b> .....	29
Ensamble de polinizadores.....	29
Morfometría geométrica.....	31
Morfometría convencional.....	34
Caracteres florales y análisis de selección natural.....	35
Análisis de ecuaciones estructurales.....	40
<b>DISCUSION</b> .....	44



CONCLUSIONES.....	48
REFERENCIAS.....	50

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tasa de visita de insectos polinizadores de <i>Viola portalesia</i> .....	30
Tabla 2. Prueba de Mantel para las variables de tamaño ( $A_1$ y $A_2$ ) y forma ( $RW_1$ y $RW_2$ ) de la corola de <i>V. portalesia</i> .....	34
Tabla 3. Caracteres y éxito reproductivo de los individuos de <i>V. portalesia</i> .....	35
Tabla 4. Coeficientes de selección mediada por polinizadores en los rasgos de <i>V. portalesia</i> ...	39
Tabla 5. Prueba de bondad de ajuste ( $\chi^2$ ) de los modelos saturados de la estructura causal al fitness de <i>V. portalesia</i> .....	41
Tabla 6. Efectos directos e indirectos de la correlación entre las variables latentes y el número de semillas por individuo en la plantación de <i>P. radiata</i> .....	43





## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagen frontal (a) y lateral (b) de <i>Viola portalesia</i> .....	17
Figura 2. Mapa de ubicación geográfica de los sitios de estudio.....	18
Figura 3. Fotografía frontal de <i>V. portalesia</i> incluyendo los doce hitos digitalizados.....	20
Figura 4. Fotografía frontal de <i>V. portalesia</i> indicando el ancho y largo de la corola.....	22
Figura 5. Diagrama hipotético de la estructura causal entre la variable dependiente $X$ y las variables $Y$ y $Z$ .....	27
Figura 6. Representación de las dos primeras variables canónicas (CVA1 y CVA2) de las deformaciones relativas (relative warps) asociadas a la forma de la corola de <i>V. portalesia</i> en el Bosque de Ruil y la plantación de <i>P. radiata</i> .....	32
Figura 7. Patrón de transformación morfométrica de la corola de <i>V. portalesia</i> descrito por el método de descomposición (TPS) en la Reserva Nacional los Ruiles y la plantación de <i>P. radiata</i> . .....	33
Figura 8. Estimación no paramétrica de la adecuación biológica $f$ .....	38
Figura 9. Representación tridimensional de la superficie de selección bivariada que relaciona el fitness femenino ( $Wf$ ) con el ancho de la corola ( $A2$ ) y el relative warp 1 ( $RW_1$ ) de los individuos de <i>V. portalesia</i> en la plantación de <i>P. radiata</i> .....	39
Figura 10. Modelos de estructura causal de la población de <i>V. portalesia</i> en una plantación de <i>P. radiata</i> .....	40
Figura 11. Estructura causal de la población de <i>V. portalesia</i> en una plantación de <i>P. radiata</i> ...	42

## RESUMEN

La selección mediada por polinizadores es uno de los principales mecanismos de adaptación y diversificación de las angiospermas. La composición de los ensambles de polinizadores determina la magnitud y dirección de la selección sobre los caracteres florales, por lo que actividades humanas a través de su impacto sobre los ensambles pueden modificar el régimen selectivo sobre las poblaciones. En este trabajo se examina si la pérdida de hábitat nativo conlleva alteraciones en los ensambles de polinizadores y regímenes selectivos. Para esto, se cuantificó la composición del ensamble de polinizadores y la tasa de visita en dos ambientes colindantes y contrastantes (Bosque de Ruil y plantación de *P. radiata*). Además, se cuantificó el fenotipo floral de *Viola portalesia*, y se realizaron análisis de selección para determinar la magnitud, dirección y forma de la selección a través del componente femenino del fitness (producción de semillas). Adicionalmente, para determinar la estructura causal de la selección sobre los rasgos florales, se efectuaron análisis de ecuaciones estructurales. Los resultados indican que los ensambles de polinizadores difirieron significativamente en cuanto a su composición específica y tasas de visita. Además, se observaron diferencias morfológicas lineales y geométricas significativas entre ambas poblaciones, y el análisis de selección natural reveló selección significativa sólo en el hábitat de pino. Los modelos de causalidad mostraron una estructura importante sólo en la población de pino, indicando que en este hábitat los polinizadores fueron un factor relevante en la producción de semillas. Globalmente, nuestros resultados indican que la intervención humana, a través de su efecto sobre los ensambles de polinizadores, tiene el potencial de modificar no sólo la magnitud sino la estructura causal de la selección mediada por polinizadores sobre el fenotipo floral de *V. portalesia*.

## ABSTRACT

Pollinator-mediated selection is one of the most important factors driving adaptation and diversification in angiosperm. Because the composition of pollinator assemblages determines the magnitude and direction of selection on floral characters, human activities through its impact on pollinator assemblages may modify the selective regime experienced by plant populations. In this study we examine whether native habitat loss involves alterations in pollinator assemblages and selective regimes. For this, we quantified the composition of pollinator assemblages and visitation rate in two nearby and contrasting habitats (Ruil Forest and *P. radiata* plantation). In addition, we quantified the floral phenotype of *Viola portalesia*, and performed a phenotypic selection analysis to determine the magnitude, direction and shape of selection through the female fitness component (seed production). In addition, to determine the causal structure of selection, we performed a structural equation analysis. The results indicate that pollinator assemblages differed substantially in species composition and visitation rate between habitats. Populations differed also in linear and geometrical morphology, and natural selection occurred in the pine habitat only. The causality model showed an important structure only in the pine plantation, indicating that pollinators were a relevant factor in molding the evolution of the flower phenotype in the degraded but not in the native habitat. Globally, our results indicate that the human intervention, through its effect on pollinator assemblages has the potential to change not only the magnitude but also the causal structure of the pollinator-mediated selection on the floral phenotype of *V. portalesia*.

## INTRODUCCION

La selección mediada por polinizadores es uno de los principales mecanismos de adaptación y diversificación de las especies de plantas con flores (Grant 1949, Hodges & Arnold 1994, Maad 2000, Medel et al. 2007). La enorme diversidad de despliegues florales entre especies y las formas en que estas parecen ajustarse a la morfología de sus visitantes, ha llevado a pensar que este sería el mecanismo de coevolución más plausible (Campbell et al. 1996). La preferencia por parte de los polinizadores por ciertos morfotipos florales representa el factor proximal que ocasiona selección sobre una serie de rasgos fenotípicos de las flores tales como: a) tamaño de la corola (Campbell et al. 1989, Campbell et al. 1991, Campbell et al. 1996), b) forma de la corola (Herrena 1993, Conner et al. 1996), c) volumen de néctar (Real & Rathcke 1991, Medel et al. 2003), y d) guías de néctar (Waser & Price 1985, Medel et al. 2003), entre otros.

Estudios recientes, tanto experimentales como de selección fenotípica, han documentado la importancia de los polinizadores como agentes selectivos capaces de direccionar la evolución de caracteres florales (Andersson & Widén 1993, Gómez 1993, Herrera 1993, Conner et al. 1996, Schemske et al. 1996, Jones & Reithel 2001, Alexadersson & Johnston 2002, Medel et al. 2007). Por ejemplo, en algunas de estas investigaciones se ha podido constatar que rasgos tales como el color y forma de la corola pueden ser blanco de selección de ciertos polinizadores, los cuales podrían promover la divergencia de estos rasgos florales (Jones & Reithel 2001, Medel et al. 2003).

Las respuestas adaptativas de rasgos florales a las presiones selectivas impuestas por los polinizadores pueden variar entre poblaciones de una misma especie, dependiendo de la composición del ensamble de polinizadores, la dominancia de una especie determinada y/o la eficiencia de los servicios de polinización (Herrera 1987, Schemske and Horvitz 1988, Eckhart

1992, Herrera 1995, Medel et al. 2007). La composición del ensamble de polinizadores determina la magnitud y dirección de la selección sobre los caracteres florales (Herrera 1987, Schemske & Horvitz 1988, Johnston 1991, Eckhart 1992, Herrera 1995, Conner et al. 1996) por lo que es esperable que actividades humanas tales como la deforestación y actividades agrícolas a través de su impacto sobre la composición de los ensambles, afecten el régimen selectivo que experimentan las poblaciones naturales de plantas (Wade & Kalisz 1990, Thompson 1998, Caruso 2000, Sih et al. 2000). En principio, la transformación antropogénica del hábitat podría acelerar la tasa de cambio de los atributos bajo selección, a través del ingreso de nuevos polinizadores que incrementen abruptamente las visitas y la selección sobre determinados atributos florales (Ollerton 1996), o retardar la selección natural debido al ingreso de especies exóticas que pudieran competir con las especies nativas por polinizadores restringiendo los efectos selectivos sobre estas especies (Caruso 2000, Blair & Wolf 2004); o simplemente no alterar los regímenes selectivos de las poblaciones, debido a la presencia de otros agentes bióticos (e.g. herbivoría) o abióticos (e.g. nutrientes) que pudieran tener un impacto selectivo mayor que los polinizadores (Strauss & Whittall 2006).

En Chile, las actividades de empresas forestales destinadas a la comercialización de *Pinus radiata* han ocasionado una fuerte transformación de los bosques nativos (Bustamante et al. 2003, Bustamante & Simonetti 2005, Echeverría et al. 2006). Esta transformación ha dejado como resultado un mosaico heterogéneo de hábitats que como consecuencia trae cambios en la condiciones microclimáticas al interior de estos bosques (Bustamante & Grez 1995), así como también en abundancia y diversidad de especies (Bustamante et al. 2006). Ejemplo de ello, es el bosque Maulino ubicado en la cordillera de la costa de la región del Maule, el que en la actualidad se observa como un mosaico de bosque nativo altamente fragmentado e inmerso en plantaciones de *P. radiata* de renoval, ocho, doce y veinte años de edad (Grez et al. 1997,

Bustamante & Castor 1998, Olivares et al. 2006). En los últimos años el bosque Maulino ha experimentado diversos cambios en riqueza y abundancia de especies (San Martín & Donoso 1996, Bustamante et al. 2005), específicamente se ha observado un cambio en las abundancias de grupos funcionales, los cuales en algunos casos han incrementado su abundancia, como en el caso de las aves insectívoras (Vergara & Simonetti 2004) o disminuido como en el caso de los insectos herbívoros (Jara-Prado & Grez 2004). Tales cambios, y sus efectos sobre la intensidad de las interacciones (Simonetti et al. 2006), lo cual podría conllevar a alteraciones en las presiones selectivas de las especies que habitan este tipo de ambientes, planteándose esto como un escenario interesante para evaluar los posibles efectos de la transformación del hábitat sobre la selección natural de especies nativas.

Esta investigación se llevó a cabo con el objetivo de evaluar si la transformación del hábitat conlleva alteraciones en los ensambles de polinizadores y regímenes selectivos experimentados por *Viola portalesia*. Para ello, se examinó la composición de los ensamble de polinizadores y los coeficientes de selección natural sobre rasgos florales de la especie, supuestos blancos de selección natural, en dos ambientes colindantes y contrastantes que consisten en un hábitat nativo en el Bosque de Ruil, y un hábitat degradado en una plantación de *P. radiata* de veinte años de edad. Específicamente, en este trabajo se abordaron las siguientes preguntas: a) ¿existen diferencias en el ensamble de polinizadores entre el hábitat nativo y uno transformado?, b) ¿existen diferencias en los coeficientes de selección mediada por polinizadores sobre *V. portalesia* en ambos ambientes?, y c) si se observan tales diferencias, ¿cuáles son las rutas causales de impacto a la adecuación biológica en ambas poblaciones?

La respuesta a estas preguntas permitirá conocer en qué medida las plantaciones de *Pinus radiata* modifican la fuerza y dirección de la selección natural, generando heterogeneidad selectiva inducida por el hombre.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Determinar si la transformación del hábitat conlleva alteraciones en los ensambles de polinizadores y regímenes selectivos.

### **Objetivos específicos**

1. Cuantificar el ensamble de polinizadores entre un sistema natural y uno transformado.
2. Cuantificar el éxito reproductivo entre un sistema natural y uno transformado.
3. Determinar los coeficientes de selección entre un sistema natural (Bosque de Ruil) v/s uno transformado (plantación de pino).
4. Determinar las rutas de relación causal en modelos inclusivos entre un sistema natural y uno transformado.

## HIPOTESIS

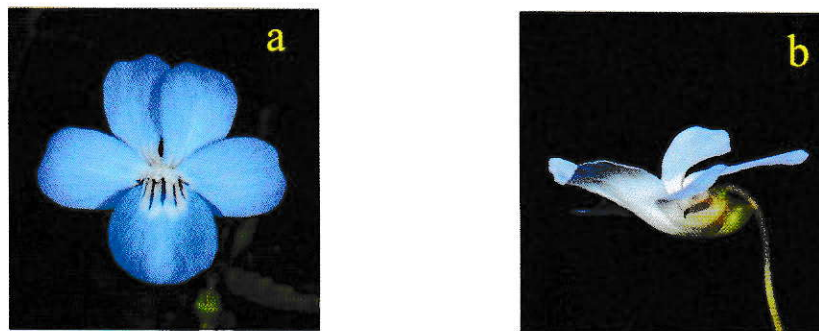
Si existen diferencias en el ensamble de polinizadores de *V. portalesia* entre un hábitat de bosque nativo y una plantación de *P. radiata*, es esperable no sólo que la selección mediada por polinizadores difiera entre los hábitats, sino también que la estructura causal de la selección natural se modifique.



## MATERIALES Y METODOS

### Historia natural de *Viola portalesia* (Gay)

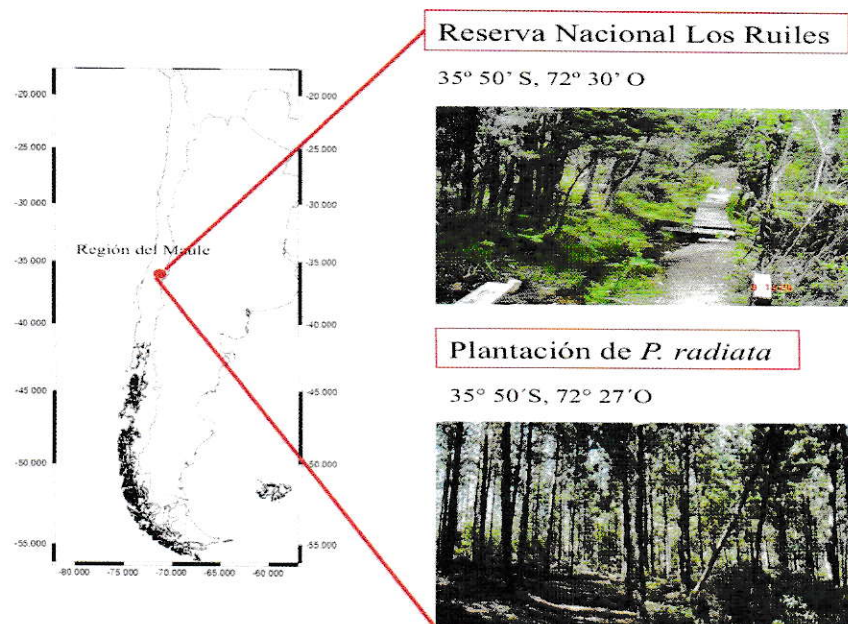
*Viola portalesia* (Gay) es una especie endémica de Chile que se distribuye desde Zapallar hasta la región de los Ríos (V y XV Regiones). Se caracteriza por ser una hierba perenne no muy ramificada, de tallos delgados, que alcanza una altura promedio de 30 cm y entre 1 a 10 flores por individuo. La flor es zigomórfica, con un cáliz de cinco pétalos, donde el pétalo inferior forma un espolón en la parte posterior de la flor. Además, posee cinco estambres adosados a los pétalos inferiores y un estilo en forma de gancho (Fig. 1 a y b). Presenta un período de floración de tres meses (septiembre a noviembre), en el cual se desarrollan flores hermafroditas de dos centímetros, axilares y de color azul-violáceo. Posterior al período de floración, la fructificación ocurre durante noviembre y diciembre. El fruto es una cápsula trivalva que contiene un promedio de veinte semillas por cápsula (Riedemann & Aldunate 2003, Hoffmann et al. 2005).



**Figura 1.** Imagen frontal (a) y lateral (b) de *Viola portalesia*.

## Sitios de estudio

El estudio se efectuó entre los meses de octubre y diciembre de 2007 en la Reserva Nacional Los Ruiles ( $35^{\circ} 50' S$ ,  $72^{\circ} 30' O$ ) y en una plantación colindante de *P. radiata* de propiedad de la forestal CELCO S.A. ( $35^{\circ}50'S$ ,  $72^{\circ}27'O$ ). La Reserva Nacional Los Ruiles (de aquí en adelante Bosque de Ruil) es un área protegida administrada por la Corporación Nacional Forestal (CONAF), creada para proteger *ca.* 29 ha de bosque nativo (Fig. 2), principalmente el ruil *Nothofagus alessandri* cuyo estado de conservación es catalogado como crítico (UICN 2001). El segundo sitio de muestreo es una plantación de *P. radiata* de 20 años de 5,8 ha ubicada a *ca.* 500 m. de la reserva (Fig. 2). En este sitio se encuentra una limitada diversidad de arbustos y herbáceas que crecen bajo su dosel. *Viola portalesia* se distribuye en parches monoespecíficos tanto en el bosque de Ruil (densidad media $\pm$  1EE,  $0,50\pm 0,04$  individuos/m<sup>2</sup>) como en la plantación de *Pinus radiata* (densidad media $\pm$ 1EE,  $0,30\pm 0,05$  individuos/m<sup>2</sup>).



**Figura 2.** Mapa de ubicación geográfica de los sitios de estudios. Reserva Nacional Los Ruiles y Plantación de *Pinus radiata*, en la región del Maule, Chile.

## Ensamble de polinizadores

Para determinar el régimen de visitas de los polinizadores sobre *V. portalesia* se realizaron períodos de observación de quince minutos por planta entre las 9:00 y 17:00 horas durante quince días en cada hábitat. El protocolo de muestreo en el campo consistió en registrar la identidad de cada especie de polinizador, el número de visitas y el número de flores visitadas, considerándose como “polinizador” a aquellas especies que al posarse sobre la base de la corola hacían contacto con los estambres. Para determinar si existían diferencias significativas en las tasas de visitas entre los hábitats se realizó una prueba de *t Student* para muestras no balanceadas utilizando el programa JMP 5.0 (SAS Institute Inc. 2002), previo análisis de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza (Underwood 1997).

Para caracterizar el ensamble de polinizadores, se recolectaron todas las especies visitantes y se llevaron al laboratorio para su identificación al nivel taxonómico más resolutivo posible. Luego, para determinar si existían diferencias en los ensambles entre los hábitats se realizó una prueba de proporción de similitud (*PS*) calculada como:

$$PS = 1 - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n |P_{ai} - P_{bi}|$$

donde,  $P_{ai}$  y  $P_{bi}$  son las proporciones de tasas de visitas totales realizadas por el taxón  $i$  en el hábitat  $a$  y  $b$ , respectivamente (ver Schemske & Brokaw 1981). El índice otorga valores entre 0 y 1, y toma en cuenta la identidad de los polinizadores y su tasa de visita relativa. Valores cercanos a cero indican una baja sobreposición de especies entre los ensambles, mientras que valores próximos a uno indican alta similitud entre los ensambles. Debido a que este índice no entrega información acerca de la variabilidad de los datos, se realizó una prueba de Montecarlo con el

Los métodos geométricos se basan en la definición de un espacio geométrico por las configuraciones de puntos digitalizados (hitos), los cuales describen la forma, constituida por distancias no lineales conocidas como distancias de Procrustes. Luego, el espacio geométrico se sobrepone a una forma de referencia (configuración promedio) y es transformado a un espacio lineal tangente conformado por distancias analizables mediante métodos tradicionales. Al definir el espacio lineal tangente se obtienen un grupo de variables que pasan a ser los denominados “descriptores de forma”. Estos se dividen en dos componentes: a) componente uniforme, que describe cambios entre un objeto y la referencia en términos de transformación uniforme o afín (cambios en una dirección lineal ya sea por compresión o extensión de la forma), y b) componente no uniforme, que describe diferencias en términos de transformación no afines denominadas deformaciones principales (*principal warps*) (suma de deformaciones no lineales ya sea por expansión, compresión o plegamiento de regiones específicas del objeto). Así, una vez obtenidos los descriptores, todos los individuos son sobrepuestos y proyectados sobre estas deformaciones con lo cual se obtiene un set coordenadas  $X$  e  $Y$  de deformación parcial para cada individuo de la población (Rohlf 1990).

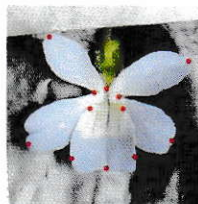
Para la definición del espacio geométrico de cada población se utilizó el programa *tpsRelw*, el cual sobrepuso todos los hitos de cada individuo de *V. portalesia* con la forma de referencia (forma estándar promedio de la población), cuantificándose las deformaciones relativas y parciales. Para determinar si existían diferencias significativas en forma entre los hábitats, se utilizó tanto el componente uniforme como el no uniforme (deformaciones relativas). Para ello, las deformaciones relativas fueron agrupadas en nuevas variables a través del análisis de variables canónicas para luego contrastar los sitios mediante un análisis multivariado de varianza (MANOVA). Posteriormente, del total de deformaciones relativas estimadas se seleccionaron aquellas que dieron cuenta del mayor porcentaje de variación en forma, las cuales fueron

programa *Poptools* para Windows (<http://www.cse.csiro.au/poptools/download.htm>) con lo cual se obtuvo estimaciones de la varianza.

### **Morfometría geométrica y Morfometría convencional**

Para cuantificar el fenotipo floral de *V. portalesia*, se seleccionaron 223 plantas en total (111 en la reserva y 112 en la plantación de *P. radiata*). A cada planta se le marcó una flor abierta, la que fue fotografiada frontalmente con una cámara digital Sony Cyber-Shot de 7.2 mega píxeles. Las fotografías fueron tomadas teniendo en consideración la perspectiva del polinizador y manteniendo una distancia constante de 30 cm, aproximadamente.

La forma de la corola de *V. portalesia* fue descrita utilizando la metodología basada en el análisis de hitos, la cual elimina los efectos de variación en la orientación y tamaño de los individuos (Zeldicht et al. 2004). Para este estudio se decidió utilizar el método de descomposición “Thin Plate Spline” (TPS), el cual es una herramienta que permite analizar los cambios geométricos en una estructura, basándose en el desplazamiento de puntos específicos. Debido a que este método analiza los cambios en forma a través de hitos, sobre cada fotografía se digitalizaron doce hitos mediante el programa *tpsDig* (software disponible en <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>), los cuales se dispusieron en los puntos de inserción de estructuras y en los puntos de mayor curvatura de los pétalos según se ilustra en la Fig. 3.



**Figura 3.** Fotografía frontal de *V. portalesia* incluyendo los doce hitos digitalizados con el programa *tpsDig*.

Los métodos geométricos se basan en la definición de un espacio geométrico por las configuraciones de puntos digitalizados (hitos), los cuales describen la forma, constituida por distancias no lineales conocidas como distancias de Procrustes. Luego, el espacio geométrico se sobrepone a una forma de referencia (configuración promedio) y es transformado a un espacio lineal tangente conformado por distancias analizables mediante métodos tradicionales. Al definir el espacio lineal tangente se obtienen un grupo de variables que pasan a ser los denominados “descriptores de forma”. Estos se dividen en dos componentes: a) componente uniforme, que describe cambios entre un objeto y la referencia en términos de transformación uniforme o afín (cambios en una dirección lineal ya sea por compresión o extensión de la forma), y b) componente no uniforme, que describe diferencias en términos de transformación no afines denominadas deformaciones principales (*principal warps*) (suma de deformaciones no lineales ya sea por expansión, compresión o plegamiento de regiones específicas del objeto). Así, una vez obtenidos los descriptores, todos los individuos son sobrepuestos y proyectados sobre estas deformaciones con lo cual se obtiene un set coordenadas  $X$  e  $Y$  de deformación parcial para cada individuo de la población (Rohlf 1990).

Para la definición del espacio geométrico de cada población se utilizó el programa *tpsRelw*, el cual sobrepuso todos los hitos de cada individuo de *V. portalesia* con la forma de referencia (forma estándar promedio de la población), cuantificándose las deformaciones relativas y parciales. Para determinar si existían diferencias significativas en forma entre los hábitats, se utilizó tanto el componente uniforme como el no uniforme (deformaciones relativas). Para ello, las deformaciones relativas fueron agrupadas en nuevas variables a través del análisis de variables canónicas para luego contrastar los sitios mediante un análisis multivariado de varianza (MANOVA). Posteriormente, del total de deformaciones relativas estimadas se seleccionaron aquellas que dieron cuenta del mayor porcentaje de variación en forma, las cuales fueron

incorporadas como caracteres en el análisis de selección natural. Finalmente, para la visualización del componente no uniforme se utilizó el programa *tpsSpline*, el cual permitió visualizar las deformaciones promedio a través de grillas de deformación.

Para el análisis de morfometría convencional se utilizaron las 223 fotografías tomadas en el campo y se les realizaron dos mediciones lineales a la corola con el programa ImageJ 1.41c (disponible en <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). La primera medición es una medida del largo de la corola, tomada desde la base del pedúnculo hasta el límite inferior del pétalo de aterrizaje (Fig. 4a). La segunda es una medida del ancho de la corola, tomada desde el borde del pétalo inferior izquierdo al borde del pétalo inferior derecho (Fig. 4b). Todas las mediciones fueron expresadas en centímetros (cm) e incorporadas al análisis de gradientes de selección como carácter  $A_1$  (largo) y  $A_2$  (ancho). Además, con el objetivo de determinar diferencias significativas en tamaño de la corola entre los hábitats, los valores de largo y ancho fueron contrastados mediante la prueba de *Student* con el programa JMP 5.0.

Adicionalmente, con el objetivo de determinar si existe dependencia espacial entre los individuos en cada uno de los sitios se llevó a cabo una prueba de Mantel con el programa R (versión 2008). Esta prueba fue realizada para cada una de las variables de tamaño y forma de la corola por separado en cada hábitat, junto con las coordenadas geográficas en UTM registradas en terreno.



**Figura 4.** Fotografía frontal de *V. portalesia* indicando el largo y ancho de la corola.

## Caracteres florales y análisis de selección natural

### a) Descripción de caracteres

Para la cuantificación de los caracteres se realizaron dos procedimientos diferentes, uno en el campo y otro en laboratorio. En terreno, a todas las plantas marcadas se les cuantificó: a) el número de flores (F) y b) la altura total de la planta en centímetros (ALT; tomada desde el suelo hasta la flor más alta con una cinta métrica), frente a la posibilidad de que la selección este operando sobre caracteres correlacionados. Luego, los valores de cada carácter medido en terreno fue contrastado mediante la prueba de *t Student* con el objetivo de determinar diferencias significativas entre los sitios de estudio. En el laboratorio, y como se mencionó con anterioridad, se efectuaron análisis de morfometría geométrica y morfometría convencional lo cual permitió obtener las deformaciones relativas (RWs) y los caracteres  $A_1$  y  $A_2$ , los que se utilizaron en la estimación de los coeficientes de selección como caracteres de forma y tamaño respectivamente. En cada sitio, al final de la floración se recolectaron todos los frutos de las flores marcadas en cada planta, con lo cual se estimó el número promedio de semillas por individuo. Con ello se obtuvo una medida de fitness femenino absoluto por planta ( $W_f$ ), el cual fue contrastado entre hábitats mediante una prueba de *Student* para determinar diferencias significativas en éxito reproductivo entre las poblaciones. Finalmente, con el fitness absoluto de cada individuo se calculó el fitness relativo ( $w_f$ ) por planta por medio de  $\frac{W_f}{\overline{W_f}}$ , donde  $\overline{W_f}$  es el fitness absoluto promedio de los individuos de la población.



## b) Análisis de gradientes de selección

Para determinar la magnitud, dirección y forma de la selección actuando sobre el componente femenino del fitness se realizó un análisis de selección natural donde se cuantificó los diferenciales de selección, los coeficientes de selección lineal y no lineal según la metodología propuesta por Lande & Arnold (1983).

### i) Diferencial de selección ( $S$ ):

Medida de selección sobre un rasgo particular, el cual mide el cambio total resultante de la selección. El coeficiente es calculado como la covarianza entre cada carácter y el fitness:

$$S_i = \text{COV}(z_i, w) \quad \text{ecuación 1}$$

donde  $z_i$  es el carácter  $i$ , y  $w$  es el fitness relativo. Este coeficiente ( $S$ ) es una estimación de la selección total actuando sobre un rasgo, lo cual incluye selección directa (relación directa entre un rasgo y el fitness) e indirecta (cambio resultante de correlaciones con otros rasgos que afectan el fitness). Una vez obtenidos los valores  $S_i$  se probó su significancia a través de correlación de Pearson entre el fitness relativo y los caracteres, utilizando el programa de JMP 5.0.

### ii) Gradiente de Selección lineal:

Se describió la fuerza directa de la selección actuando sobre un rasgo, excluyendo la selección indirecta, mediante el modelo multivariado de Lande y Arnold (1983):

$$w = \alpha + \sum_{i=1}^n \beta_i z_i + \varepsilon \quad \text{ecuación 2}$$

donde  $w$  es el fitness relativo,  $\alpha$  es una constante (el intercepto),  $\beta_i$  representa la pendiente promedio de la superficie de selección en el plano del carácter  $z_i$ , y  $\varepsilon$  es un término de error. El gradiente de selección lineal  $\beta$  entrega información sobre la dirección y magnitud del cambio esperado después de la selección.

### iii) Gradientes de Selección No lineal:

El gradiente de selección no lineal,  $\gamma$ , describe la naturaleza de la selección sobre desviaciones cuadráticas del promedio para caracteres individuales y combinaciones pareadas de caracteres. Estos coeficientes fueron estimados a partir de los coeficientes de segundo orden del siguiente modelo:

$$w = \alpha + \sum_{i=1}^n \beta_i z_i + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \gamma_{ii} z_i^2 + \sum_{i=1}^n \sum_{i \neq j}^n \gamma_{ij} z_i z_j + \varepsilon \quad \text{ecuación 3}$$

donde,  $\gamma_{ii}$  representa la curvatura de la relación entre el carácter  $i$  y el fitness relativo. Si  $\gamma_{ii} < 0$  (concavidad hacia abajo) esto implica selección estabilizadora actuando sobre un carácter dado, o si  $\gamma_{ii} > 0$  (concavidad hacia arriba) esto indica selección disruptiva. El gradiente de selección correlacional,  $\gamma_{ij}$ , indica la medida en que la selección actúa sobre la correlación de los rasgos  $i$  y  $j$ . Los gradientes de selección direccional ( $\beta$ ) fueron estimados sólo a partir de la ecuación 2, ya que si los caracteres son multivariados y distribuidos no-normalmente,  $z_i$  y  $z_i^2$  en la ecuación 3 estarán inter-correlacionados (Lande y Arnold 1983). Además, se evaluó la significancia de los gradientes de selección lineal y no lineal ( $\beta$  y  $\gamma$ ) a partir de los coeficientes de regresión después de que los efectos de todos los parámetros han sido removidos. La significancia de los diferenciales de selección y los gradientes de selección fue obtenida directamente de las tablas de regresión y corregidas con la técnica de Bonferroni (Rice 1989) a un valor de  $\alpha = 0,05$ . Esta técnica permite minimizar el error tipo I en los coeficientes de selección y complementar los valores de  $P$  originales.

Cabe destacar que cada carácter fue estandarizado a promedio cero y varianza unitaria (transformación  $z$ ) antes del análisis, restando el promedio del rasgo a cada valor y dividiendo por la desviación estándar. Así, los diferenciales estandarizados serán descritos como  $S'$  y los gradientes lineales y cuadráticos estandarizados como  $\beta'$  y  $\gamma'$ , respectivamente. Una vez

estandarizados los caracteres, estos fueron utilizados para estimar los coeficientes de selección utilizando el programa JMP 5.0.

Una vez determinados los caracteres que se encuentran sometidos a selección direccional se estimó la forma de la superficie de selección utilizando la versión univariada del spline cúbico proporcionado por Schluter (1988). Esta metodología presupone que se está tratando de estimar una función fitness verdadera ( $f$ ) que depende de un rasgo variable único  $X$  como:

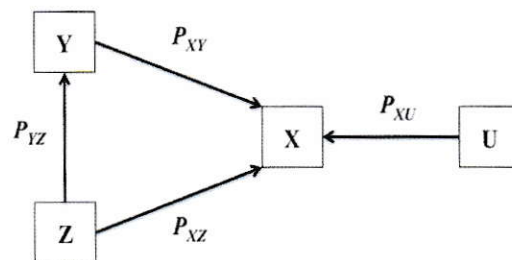
$$Y = f(X) + \varepsilon$$

$Y$  es una medida del fitness individual tal como: sobrevivencia, éxito reproductivo o otra medida de desempeño.  $f(X)$  es el fitness promedio de todos los individuos teniendo el valor del rasgo  $X$ . El objetivo es estimar la superficie del fitness sin hacer ningún supuesto a priori acerca de la forma, excepto que es suave. Tres diferentes distribuciones de error son ajustadas: normal, binomial y Poisson. El objetivo básico es estimar el spline que mejor se ajuste a la distribución real investigando en un rango de valores del parámetro de suavidad lambda ( $\lambda$ ) (el programa usa una escala logarítmica para  $\lambda$ ). El mejor ajuste es dado por el valor de lambda que minimice la función de validación cruzada generalizada, la cual es una medida de error de predicción. Para el caso de caracteres bajo selección correlacional la forma de la superficie de selección o paisaje adaptativo se obtuvo utilizando gráficas tridimensionales mediante el programa Sigma Plot 9.0.

### **Análisis de ecuaciones estructurales**

El análisis de ecuaciones estructurales fue utilizado para determinar la estructura causal de la selección sobre rasgos florales de *V. portalesia*. Este método permite construir modelos causales con un número de variables dependientes e independientes, y provee una manera de descomponer la correlación entre variables en componentes que representan las contribuciones causales y no

causales. El análisis de ecuaciones estructurales permite que la covarianza total entre las variables sea descompuesta en dos componentes: componente causal, efectos directos e indirectos, y un componente no causal, contribuciones no analizadas (Schemske & Horvitz 1988). El componente de la correlación total entre variables que son atribuibles a la suma de los efectos directos e indirectos es llamado coeficiente de efecto ( $p$ ), y representa el cambio esperado en una variable dependiente debido a un cambio en una de sus variables causales. El coeficiente  $p_{xy}$  es un coeficiente de regresión estandarizado y representa la variable dependiente  $X$  sobre la variable independiente  $Y$ , manteniendo todas las otras variables independientes constantes (Figura 5). Este análisis comprende cinco supuestos: 1) la relación entre las variables es lineal, aditiva y causal, 2) el residual de cada variable no se correlaciona con variables que preceden en el modelo, 3) no hay causalidad recíproca, 4) las variables son medidas en escalas de intervalos y 5) las variables son medidas sin error.



**Figura 5.** Diagrama hipotético de la estructura causal entre la variable dependiente  $X$  y las variables independientes  $Y$  y  $Z$ .  $P_{xy}$  y  $P_{xz}$ , representan los coeficientes de regresión de las variables  $Y$  y  $Z$ , respectivamente. La variable  $U$  representa todas las variables no medidas que afectan a la variable  $X$  y  $P_{xu}$  representa el coeficiente entre las variables  $X$  e  $U$ .

Por ejemplo, si se observa el modelo de la Figura 5 la correlación total entre  $X$  e  $Y$  estará dada por:

$$r_{YX} = \underset{\text{directo}}{P_{XY}} + \underset{\text{indirecto}}{P_{YZ}P_{XZ}}$$

y la correlación entre  $Z$  e  $X$  será:

$$r_{ZX} = P_{XZ} \quad + \quad P_{YZ}P_{XY}$$

directo                  indirecto

En la descomposición de la correlación  $r_{YX}$ ,  $P_{XY}$  representa el efecto directo y  $P_{YZ}P_{XZ}$  es el componente de la correlación debido al efecto indirecto de la variable  $Y$  sobre  $X$ , a través de la variable  $Z$ . Para la descomposición de  $r_{ZX}$  el coeficiente  $P_{XZ}$  representa el efecto directo y  $P_{YZ}P_{XY}$  representa el efecto indirecto de  $Z$  sobre  $X$  actuando a través de la variable  $Y$ . El ejemplo, muestra que es posible descomponer la correlación total entre variables en efectos directos e indirectos e incluso es posible agregar efectos de factores desconocidos como otra vía de análisis ( $U$ ). Por tanto, el coeficiente de efecto ( $P$ ) será la suma de estos dos componentes, ya que son estos los que proveen información sobre la magnitud de la estructura causal.

Para determinar la estructura causal de la selección se diseñaron tres modelos para cada hábitat en función de la estructura real de covariación de los datos obtenidos. Cada modelo incluyó tres constructos latentes: tamaño de la corola ( $A_1$  y  $A_2$ ), forma de la corola ( $RW_1$  y  $RW_2$ ), y tamaño de la planta ( $ALT$  y  $F$ ), las cuales incluyeron un set de variables independientes (señaladas entre paréntesis). Con estas variables se construyeron los modelos *a priori* en los cuales las variables latentes afectaban directamente al componente femenino del fitness. Contrastes entre modelos se efectuaron por máxima verosimilitud con una prueba de Akaike (AIC) con aproximación de Chi-cuadrado ( $X^2$ ) utilizando el programa EQS 6.1 (Bentler 1995). Finalmente, para seleccionar el modelo con el mejor ajuste se escogieron aquellos que presentaban el mayor valor de  $P$  y el menor valor de  $X^2$ .

## RESULTADOS

### Ensamble de polinizadores

Las flores fueron visitadas por dieciséis especies de presuntos polinizadores en el Bosque de Ruil y once especies en la plantación de *P. radiata* (Tabla 1). Globalmente, en el Bosque de Ruil las especies que más visitaron a *V. portalesia* pertenecieron a los ordenes Hymenoptera (43,8%) y Diptera (37,5%), mientras que en la plantación de pinos se concentraron en los ordenes Coleoptera (36,4%) y Diptera (27,3%). Específicamente, en el Bosque de Ruil el himenóptero *Manuelia gayatina* fue la especie que presentó la mayor tasa de visita ( $0,11 \pm 0,03$  visitas\* $\text{flor}^{-1}$ \* $\text{h}^{-1}$ ), y en la plantación de pino el díptero *Acrophthalmyda paulseni* fue el polinizador que más visitó a *V. portalesia* ( $0,20 \pm 0,18$  visitas\* $\text{flor}^{-1}$ \* $\text{h}^{-1}$ ) (Tabla 1). La tasa de visita promedio fue menor en la reserva (media  $\pm 1$  EE;  $0,02 \pm 0,01$  visitas\* $\text{flor}^{-1}$ \* $\text{h}^{-1}$  en 641 horas de observación) que en la plantación de *P. radiata* ( $0,05 \pm 0,04$  visitas\* $\text{flor}^{-1}$ \* $\text{h}^{-1}$  en 165 horas de observación) (Prueba t de Student,  $t_{1,25} = 3,177$   $P = 0,0039$ ).

La composición del ensamble de polinizadores difirió entre los hábitats. Del total de especies registradas (veintisiete) sólo dos de ellas se encontraron presentes en ambos sitios de estudio (Tabla 1). El análisis de similitud entre los ensambles estimó un bajo valor de similitud (media  $\pm 1$  EE;  $PS = 0,02 \pm 0,05$ ), dando cuenta de una diferencia de un 98% en su composición específica.

**Tabla 1.** Tasa de visita de insectos polinizadores de *Viola portalesia* en el Bosque de Ruil y en la plantación de *P. radiata*. Valores en paréntesis representan  $1 \pm EE$ . Las especies con mayor tasa de visita en cada hábitat se señalan en negrita.

Especies	Tasa de visita (visita * flor <sup>-1</sup> * hora <sup>-1</sup> )	
	Bosque de Ruil (Promedio $\pm$ 1EE)	Plantación de pino (Promedio $\pm$ 1EE)
<i>Yramea cytheris</i>	-	0,047 ( $\pm$ 0,014)
<i>Hylephila venusta</i>	-	0,015 ( $\pm$ 0,005)
<i>Anthrobrachus nigromaculatus</i>	-	0,077 ( $\pm$ 0,023)
<i>Formicidae sp6</i>	-	0,020 ( $\pm$ 0,006)
<i>Diptero sp1</i>	-	0,018 ( $\pm$ 0,005)
<i>Amecocerus elguetai</i>	-	0,127 ( $\pm$ 0,038)
<i>Acrophthalmyda paulseni</i>	-	<b>0,201 (<math>\pm</math> 0,061)</b>
<i>Amecocecus alutaceithorax</i>	-	0,127 ( $\pm$ 0,038)
<i>Hylodanacaea sp1</i>	-	0,024 ( $\pm$ 0,007)
<i>Triploechus heteroneurus</i>	0,002 ( $\pm$ 0,0003)	0,015 ( $\pm$ 0,005)
<i>Formicidae sp2</i>	0,012 ( $\pm$ 0,003)	0,015 ( $\pm$ 0,005)
<i>Bombus dahlbomii</i>	0,008 ( $\pm$ 0,002)	-
<i>Homeonympha humilis</i>	0,006 ( $\pm$ 0,001)	-
<i>Sirfido sp2</i>	0,012 ( $\pm$ 0,003)	-
<i>Manuelia gayatina</i>	<b>0,107 (<math>\pm</math> 0,027)</b>	-
<i>Acrocerido sp2</i>	0,026 ( $\pm$ 0,006)	-
<i>Sirfido sp3</i>	0,041 ( $\pm$ 0,010)	-
<i>Manuelia gayi</i>	0,003 ( $\pm$ 0,001)	-
<i>Manuelia postica</i>	0,057 ( $\pm$ 0,014)	-
<i>Lasia corvina</i>	0,002 ( $\pm$ 0,0004)	-
<i>Eucalus tessellatus</i>	0,007 ( $\pm$ 0,002)	-
<i>Tabanidae sp1</i>	0,002 ( $\pm$ 0,001)	-
<i>Corynura chloris</i>	0,002 ( $\pm$ 0,001)	-
<i>Vanessa tepsichore</i>	0,001 ( $\pm$ 0,003)	-
<i>Diplaglosa gayi</i>	0,001 ( $\pm$ 0,0002)	-

## Morfometría geométrica y Morfometría convencional

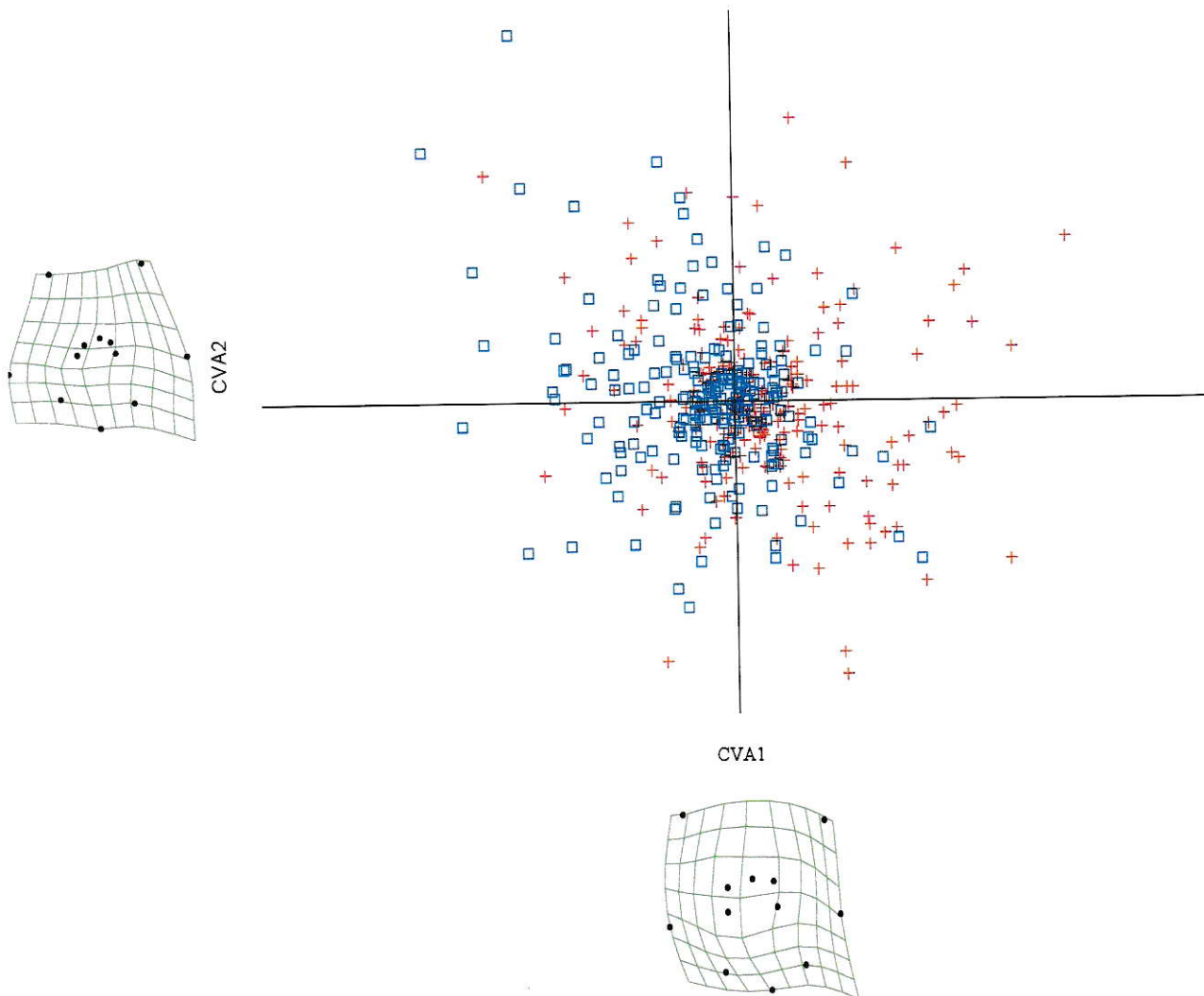
### a) Morfometría geométrica

El análisis de morfometría geométrica mostró que la flor de consenso de *V. portalesia* para ambas poblaciones es de corola zigomórfica y con tres planos de flexión, uno en el plano vertical de la corola, otro en el horizontal y otro de profundización del tubo floral. Con el análisis de deformaciones relativas se obtuvo 20 variables ortogonales de forma (RW) para cada población en estudio, de las cuales las dos primeras dieron cuenta de 62,53% y 61,40 % de la variación en forma en la reserva y en la plantación de pino, respectivamente. En el Bosque de Ruil, el primer componente (RW<sub>1</sub>) dio cuenta del 45,20% de la variación y el segundo componente (RW<sub>2</sub>) sólo describió el 17,33%. En la plantación de *P. radiata* el primer componente (RW<sub>1</sub>) describió el 37,38% de la variación, mientras que el segundo componente describió el 24,01%. El análisis de variables canónicas entregó 20 nuevas variables para cada sitio, las cuales al ser contrastadas a través del análisis multivariado de varianza reveló diferencias significativas en la forma de la corola de *V. portalesia* entre las poblaciones en estudio (MANOVA, Wilks'  $\lambda_{1,221} = 0,69$ ,  $P < 0,0001$ , Fig. 6).

Al comparar las grillas de deformación entre las poblaciones según el componente no uniforme, se observaron tres tipos de deformación alusivos a cambios en la disposición de los pétalos y el tamaño del tubo floral. En el Bosque de Ruil, el primer tipo de deformación mostró una modificación en la disposición relativa de los dos pétalos superiores y los dos laterales, con un cambio en el paralelismo entre ellos marcado por un ascenso en el plano vertical de la corola. El segundo tipo de deformación tuvo relación con una tendencia hacia el ensanchamiento del pétalo de aterrizaje, mientras que el tercer tipo de cambio mostró un desplazamiento de la apertura del

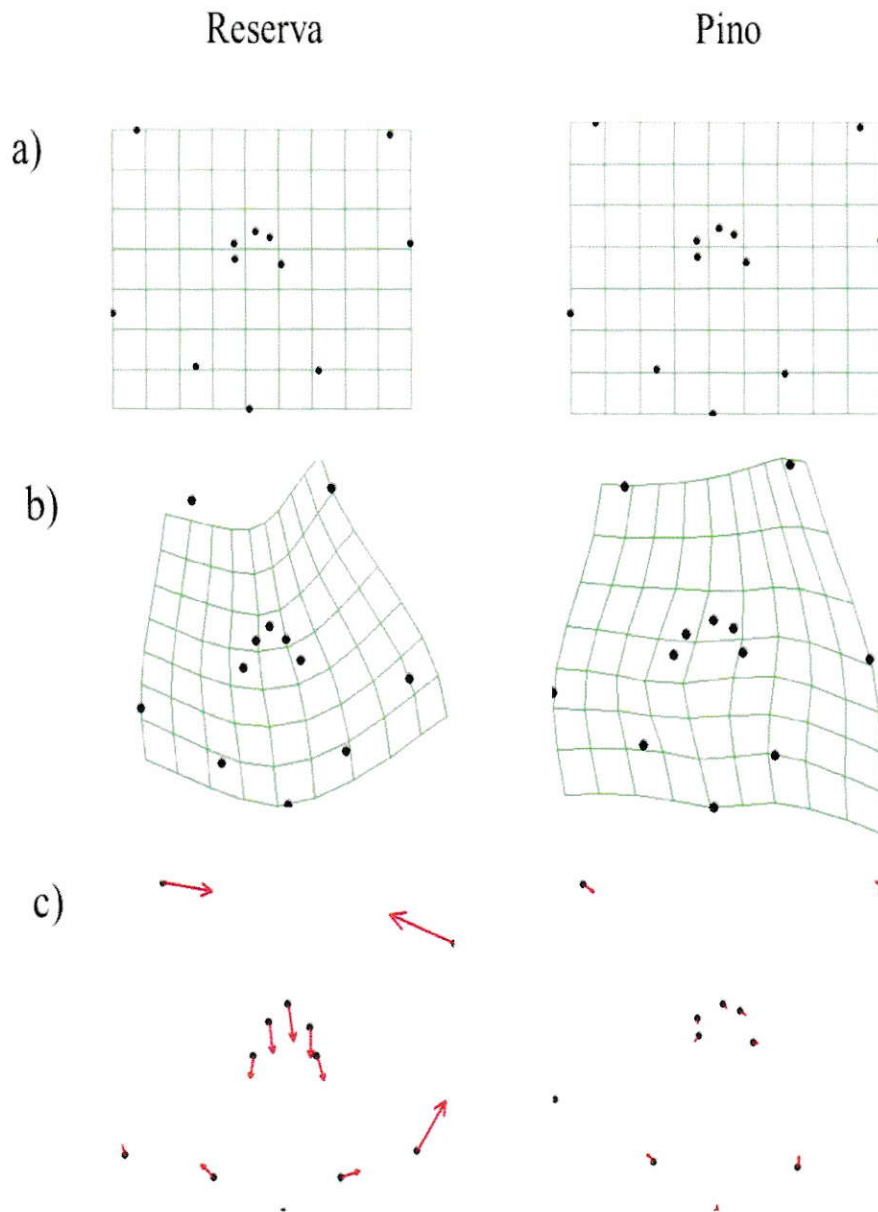


tubo floral (Fig. 7). En la plantación de pinos, el primer tipo de deformación tuvo relación con un movimiento ascendente de los pétalos superiores en el plano vertical de la corola y el segundo tipo mostró un ensanchamiento del pétalo de aterrizaje. Mientras que en el tercer tipo de deformación mostró una tendencia al ensanchamiento del tubo floral (Fig. 7).



**Figura 6.** Representación de las dos primeras variables canónicas (CVA1 y CVA2) de las deformaciones relativas (relative warps) asociadas a la forma de la corola de *V. portalesia* en el Bosque de Ruil y la plantación de *P. radiata*. Los cuadrados azules representan los individuos

presentes en el Bosque de Ruil y las cruces rojas representan a los individuos presentes en la plantación de pino.



**Figura 7.** Patrón de transformación morfométrica de la corola de *V. portalesia* descrito por el método de descomposición (TPS) en el Bosque de Ruil y en la plantación de *P. radiata*. a) morfología de consenso, b) visualización de los desplazamientos de los hitos con respecto a la

morfología de consenso, y c) forma de la corola resultante de los individuos de ambos sitios revelado por desplazamientos vectoriales.

### b) Morfometría convencional

En el análisis de morfometría convencional se utilizaron 223 fotografías de flores tomadas en el campo. En la tabla 3 se observan los valores de ancho y largo de la corola para cada hábitat, donde para ambos rasgos la prueba *t de Student* mostró diferencias significativas entre los hábitats.

Finalmente, la prueba de Mantel mostró que no existe dependencia espacial entre los individuos para ninguna de las variables de tamaño y forma de la corola de *V. portalesia* en cada sitio (Tabla 2).

**Tabla 2.** Tabla resumen de resultados de prueba de Mantel para las variables de tamaño ( $A_1$  y  $A_2$ ) y forma ( $RW_1$  y  $RW_2$ ) de la corola de *V. portalesia* en el Bosque de Ruil y la plantación de *P. radiata*.

Hábitat	Carácter	r	P
Bosque de Ruil	$RW_1$	0,03	0,32
	$RW_2$	-0,04	0,65
	$A_1$	-0,07	0,9
	$A_2$	-0,04	0,7
Pino	$RW_1$	-0,06	0,8
	$RW_2$	0,08	0,89
	$A_1$	0,05	0,25
	$A_2$	-0,03	0,63

## Caracteres florales y análisis de selección natural

### a) Descripción de caracteres

Las plantas de *V. portalesia* que habitan el Bosque de Ruil no fueron más altas que aquellas presentes en la plantación de pinos, y estos resultados no mostraron diferencias estadísticas (Tabla 3). En cuanto al número promedio de flores por al igual que la altura tampoco se observaron diferencias significativas (Tabla 3). De los 227 individuos marcados sólo 223 fructificaron, 111 en el Bosque de Ruil y 112 en la plantación de pino (Tabla 3). El éxito reproductivo de *V. portalesia* fue mayor en la plantación de pinos que en el Bosque de Ruil y la prueba t de Student mostró que existen diferencias significativas entre las poblaciones bajo estudio (Tabla 3).

**Tabla 3.** Tabla resumen de caracteres y éxito reproductivo de los individuos de *V. portalesia* en la Reserva Nacional Los Ruiles y en una plantación de *P. radiata*. Los valores entregados corresponden al promedio y los valores en paréntesis a 1 EE. Valores de *P* fueron obtenidos mediante la Prueba t de Student.

Rasgo	Bosque de Ruil	Pino	<i>t</i>	<i>P</i>
Altura (cm)	57,32 ( $\pm 2,07$ )	54,19 ( $\pm 1,96$ )	1,053	0,2933
Largo de la corola (cm)	1,12 ( $\pm 0,01$ )	1,35 ( $\pm 0,02$ )	5,637	< 0,0001
Ancho de la corola (cm)	2,13 ( $\pm 0,03$ )	2,46 ( $\pm 0,03$ )	5,213	< 0,0001
Nº flores por individuo	8,77 ( $\pm 0,46$ )	10,11 ( $\pm 0,6$ )	1,673	0,0957
Nº de semillas por individuo	16,02 ( $\pm 0,39$ )	23,74 ( $\pm 0,51$ )	11,957	< 0,0001
Nº frutos por individuo	2,55 ( $\pm 0,05$ )	2,36 ( $\pm 0,07$ )	12,007	< 0,0001

En cuanto a los caracteres de forma y tamaño de la corola estos fueron descritos con anterioridad (ver en resultados: morfometría geométrica y morfometría convencional).

## **b) Análisis de gradientes de selección**

Con la excepción del número de flores por individuo, ningún otro rasgo mostró coeficientes de selección significativos. La significancia del número de flores se retuvo luego del ajuste de Bonferroni (Tabla 4), cuyo valor negativo indica que las plantas con un menor número de flores son más visitadas y producen un mayor número de semillas por individuo. En la plantación de pino el largo ( $A_1$ ) y ancho ( $A_2$ ) de la corola presentaron diferenciales de selección significativos, con valores positivos que estarían dando cuenta de incrementos en el tamaño de la corola (Tabla 4). Estos resultados sugieren que mientras en el Bosque de Ruil los polinizadores seleccionan caracteres relativos al tamaño de las plantas, en la plantación de pino serían los caracteres florales los blancos de selección.

**Tabla 4.** Coeficientes de selección mediada por polinizadores en los rasgos de *V. portalesia* en a) Bosque de Ruil y b) plantación de *P. radiata*.

a)

Carácter <i>i</i>	$S_i'$	$\beta_i'$ (EE)	$\gamma_{ii}'$ (EE)	$F\gamma_{ij}'$ (EE)	$A_1\gamma_{ji}'$ (EE)	Carácter <sub><i>j</i></sub>		
						$A_2\gamma_{ij}'$ (ES)	$RW_1\gamma_{ij}'$ (EE)	$RW_2\gamma_{ii}'$ (EE)
Altura (Alt)	0,060	0,034 (0,03)	-0,004 (0,02)	-0,021(0,02)	0,025 (0,04)	-0,002 (0,04)	-0,031 (0,03)	-0,031 (0,03)
Nº Flores (F)	<b>-0,317**</b>	-0,07 (0,04)	-0,0002 (0,01)		-0,006 (0,06)	-0,06 (0,05)	-0,021 (0,04)	0,002 (0,04)
Largo ( $A_1$ )	0,212*	0,042 (0,03)	-0,024 (0,04)			0,031(0,05)	0,012 (0,03)	0,023 (0,04)
Ancho ( $A_2$ )	0,227*	0,011 (0,04)	-0,018 (0,03)				-0,037(0,04)	0,053 (0,04)
R. warp ( $RW_1$ )	0,215*	0,043(0,03)	-0,026 (0,02)					0,031(0,02)
R. warp ( $RW_2$ )	-0,142	-0,035 (0,02)	0,013 (0,02)					

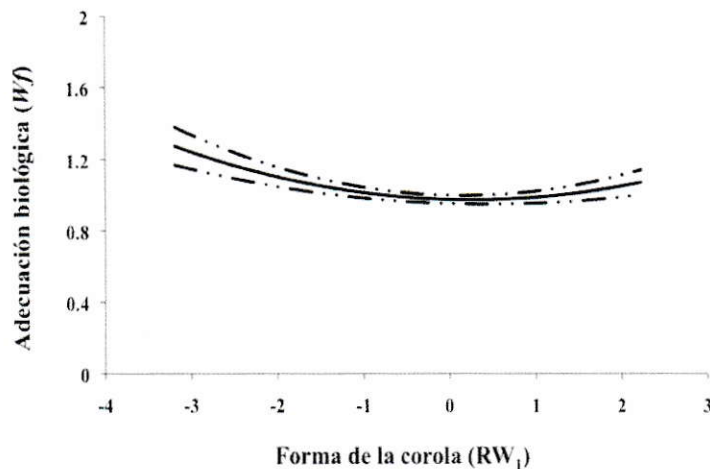
b)

Carácter <i>i</i>	$S_i'$	$\beta_i'$ (EE)	$\gamma_{ii}'$ (EE)	$F\gamma_{ij}'$ (EE)	$A_1\gamma_{ji}'$ (EE)	Carácter <sub><i>j</i></sub>		
						$A_2\gamma_{ij}'$ (ES)	$RW_1\gamma_{ij}'$ (EE)	$RW_2\gamma_{ii}'$ (EE)
Altura (Alt)	0,013	0,033 (0,03)	-0,015 (0,02)	0,008(0,02)	-0,069 (0,04)	0,064 (0,04)	-0,008 (0,03)	0,0005 (0,03)
Nº Flores (F)	0,007	0,027 (0,03)	-0,025 (0,02)		0,047 (0,03)	-0,008 (0,04)	-0,098 (0,03)	0,017 (0,03)
Largo ( $A_1$ )	<b>0,274*</b>	0,052 (0,04)	-0,051 (0,03)			0,051(0,05)	-0,065 (0,03)	0,031 (0,04)
Ancho ( $A_2$ )	<b>0,287*</b>	0,006 (0,03)	-0,024 (0,02)				<b>0,098(0,03)*</b>	-0,051 (0,03)
R. warp ( $RW_1$ )	-0,088	-0,013(0,02)	<b>0,052 (0,02)*</b>					0,031(0,02)
R. warp ( $RW_2$ )	-0,032	0,018 (0,02)	-0,021 (0,02)					

Nota:  $S_i'$  es el diferencial estandarizado de selección.  $\beta_i'$ ,  $\gamma_{ii}'$  y  $\gamma_{ij}'$  son los gradientes estandarizados de selección direccional, cuadráticos y correlacionales, respectivamente. Valores en paréntesis son 1EE. Los coeficientes que retuvieron significancia posterior al ajuste de Bonferroni son destacados con negrita. Valores de  $P$  se señalan mediante asterisco \*\* $P < 0,001$  y \* $P < 0,05$ .

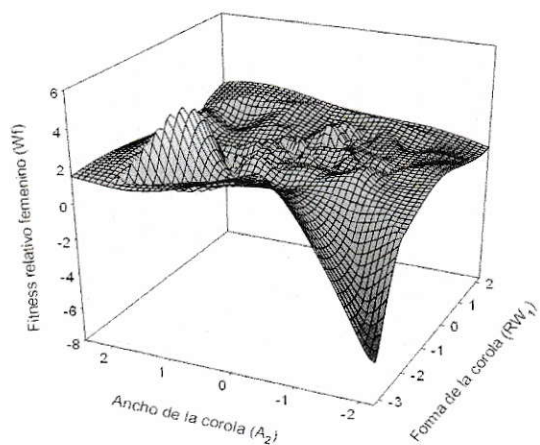
A diferencia de los diferenciales de selección, ningún gradiente de selección direccional fue significativo. Esto implica que la selección no impactó directamente sobre los caracteres florales a través del componente femenino de la adecuación biológica durante el período de estudio en ninguno de los dos sitios (Tabla 4).

Se detectó selección cuadrática significativa solamente en la plantación de *P. radiata*, donde la forma de la corola en su componente  $RW_1$  presentó un gradiente positivo, lo cual es indicativo de selección disruptiva actuando sobre la forma de la corola durante el período de estudio (Tabla 4). La superficie de selección para el descriptor de forma  $RW_1$  reveló que la selección favoreció los fenotipos extremos de la forma de la corola. En la figura 8 se observa que la función de la adecuación biológica ( $wf$ ) mostró un incremento entre los -3 DE y los -1DE, seguido de un descenso en los fenotipos medios, y un ascenso entre los 1 y 2 DE, indicando que las variaciones en forma de la corola son un carácter que da cuenta de las variaciones de la adecuación biológica.



**Figura 8.** Estimación no paramétrica de la adecuación biológica  $f$ . Spline cúbico estimado para el número de semillas por individuo de *V. portalesia* en relación con el descriptor de forma  $RW_1$  en una plantación de *P. radiata* ( $\lambda = 1$ ). El descriptor de forma  $RW_1$  está expresado en unidades de desviación estándar (ver Schluter 1988).

En cuanto a la selección correlacional, se observó un gradiente significativo en la plantación de *P. radiata*. El resultado del análisis mostró una covarianza positiva entre el carácter  $RW_1$  y el carácter  $A_2$ , lo que sugiere que los polinizadores estarían seleccionando combinaciones de caracteres relativos al tamaño (específicamente el ancho) y forma de la corola (Tabla 4). Es posible que valores altos de selección ocurran sobre rasgos florales altamente deformados asociados a incrementos en el pétalo de aterrizaje, generando de este modo una asociación forma-ancho. La superficie de selección bivariada que relaciona el fitness relativo con el carácter  $A_2$  y el  $RW_1$  mostró que se favorecieron combinaciones complementarias de estos caracteres (Fig. 9). En la figura 9 se observa que cuando la selección actúa sólo sobre un rango de los fenotipos la función del fitness muestra una fuerte pendiente negativa, no obstante al seleccionarse ambos caracteres la función se estabiliza. El análisis de selección correlacional también reveló selección sobre la covarianza entre el carácter  $RW_1$  y  $A_1$  en la plantación de *P. radiata*. No obstante, el gradiente perdió significancia después del ajuste de Bonferroni.



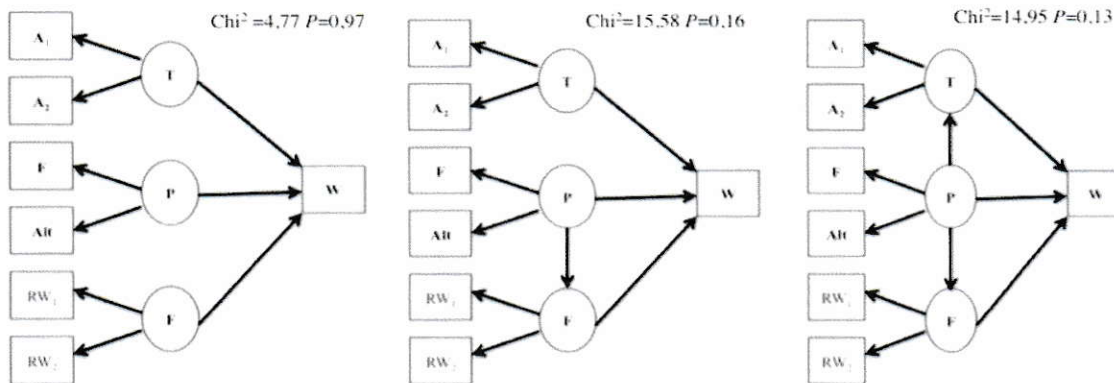
**Figura 9.** Representación tridimensional de la superficie de selección bivariada que relaciona el fitness femenino ( $Wf$ ) con el ancho de la corola ( $A_2$ ) y el relative warp 1 ( $RW_1$ ) de los individuos de *V. portalesia* en la plantación de *P. radiata*. Cada rasgo se muestra en una escala estandarizada (promedio cero y varianza unitaria).



Globalmente, los resultados sugieren que los caracteres alusivos a la forma y tamaño de la corola fueron blancos de selección sólo en la plantación de *P. radiata*. A pesar de detectarse selección total actuando sobre el número de flores por individuo en el Bosque Ruil, al separar la selección directa de la indirecta no se observó selección significativa actuando sobre caracteres de *V. portalesia* durante el período de estudio.

### Análisis de ecuaciones estructurales

Del total de modelos construidos para ambos hábitats, sólo en la población de *P. radiata* se encontró una estructura causal que da cuenta de las variación en la adecuación biológica (Fig. 10), por lo cual el análisis final se realizó sólo en torno a dicho hábitat. En el hábitat de pino el modelo más parsimonioso fue el modelo I (Tabla 5), el cual fue seleccionado y se le incorporaron las tasas de visita de los polinizadores de dicho hábitat con el fin de representar la ruta causal de la adecuación biológica de *V. portalesia* (Fig. 11).



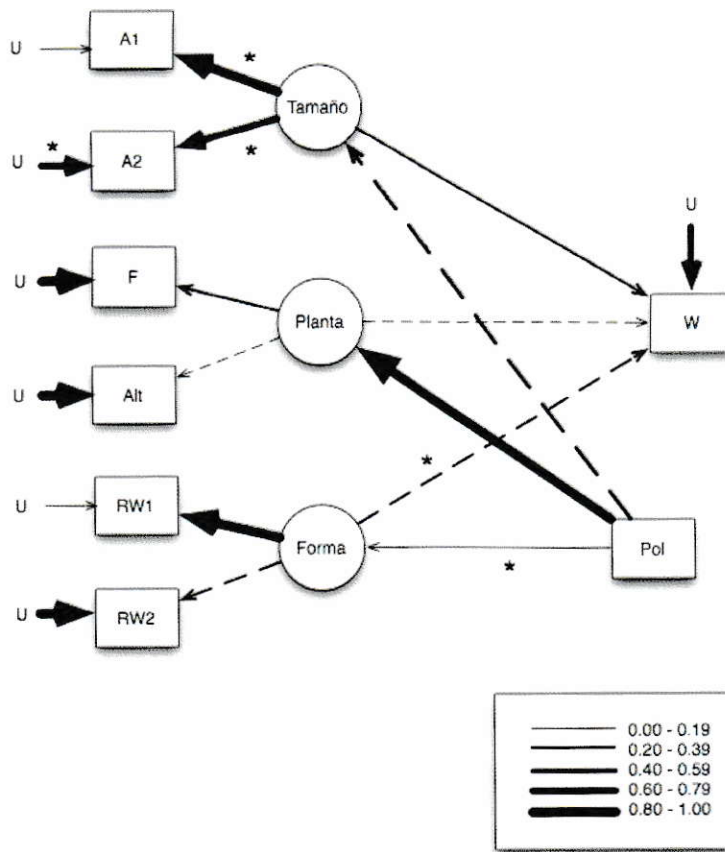
**Figura 10.** Modelos de estructura causal de la población de *V. portalesia* en una plantación de *P. radiata*. Los círculos corresponden a las variables latentes: tamaño de la corola (T), tamaño de la planta (P) y forma de la corola (F), los cuadrados indican las variables indicadoras: largo (A1) y

ancho (A2) de la corola, número de flores (F), altura de la planta (Alt), relative warp 1 (RW<sub>1</sub>) y relative warp 2 (RW<sub>2</sub>), y el fitness relativo (W) durante la primavera de 2007. El primer modelo muestra la relación entre las variables latentes el fitness femenino. El modelo 2 muestra la relación entre las variables P y F, y estas con el fitness. El modelo 3 muestra la relación entre las variables latentes P y F, y las variables P y T, y todos los anteriores con el fitness.

**Tabla 5.** Prueba de bondad de ajuste ( $\chi^2$ ) de los modelos saturados de la estructura causal al fitness de *V. portalesia* en el Bosque de Ruil y en la plantación de *P. radiata*.

Hábitat	Modelo	Bondad de ajuste	$\chi^2$	GL	P
Bosque de Ruil	Modelo 1	0,78	368,50	12	< 0,000001
	Modelo 2	0,78	262,97	11	< 0,000001
	Modelo 3	0,96	27,89	10	0,002
Pino	Modelo 1	0,94	4,77	12	0,97
	Modelo 2	0,82	15,58	11	0,16
	Modelo 3	0,83	14,95	11	0,13

En el modelo presentado en la Fig. 11 se observa que las tres variables latentes (Tamaño, Planta, Forma) mostraron una débil relación con la adecuación biológica (w) con coeficientes entre 0 y 0.39 (Tabla 5). Sin embargo, la forma de la corola (F) tuvo una relación directa y significativa con el fitness, dando cuenta de selección actuando sobre los caracteres relativos a la forma (RW<sub>1</sub> y RW<sub>2</sub>). A diferencia de la variable indicadora RW<sub>2</sub>, la variable RW<sub>1</sub> tuvo una fuerte relación con la variable latente forma (F), no obstante esta relación no fue significativa.



**Figura 11.** Estructura causal de la población de *V. portalesia* en una plantación de *P. radiata*. El modelo muestra la relación causal entre las variables latentes (círculos): tamaño de la corola (T), tamaño de la planta (P) y forma de la corola (F), las variables indicadoras (cuadrados): largo (A1) y ancho (A2) de la corola, número de flores (F), altura de la planta (Alt), relative warp 1 (RW<sub>1</sub>) y relative warp 2 (RW<sub>2</sub>), y el fitness relativo (W) durante primavera de 2007 (N=112). U representa los factores no medidos que afectan a una variable dada. El modelo final de la ruta causal al fitness que incluyó a los polinizadores se ajustó satisfactoriamente ( $X^2 = 13.55$ , GL = 16,  $P=0.629$ ). Los efectos positivos son indicados con una línea — y los efectos negativos son representados por ---. La magnitud de los coeficientes se representó utilizando diferentes grosores de líneas. Los asteriscos representan diferencias significativas a un nivel  $\alpha = 0.05$ .

La variable latente tamaño de la planta (P) se relacionó débilmente con sus variables indicadoras, sugiriendo ausencia de selección directa o indirecta sobre estos caracteres. La variable latente tamaño de la corola (T) si bien no tuvo relación directa significativa con el fitness, se relacionó fuertemente con sus variables indicadoras mostrando con ambas una relación significativa (Fig. 11).

Los polinizadores afectaron en distintas magnitudes a las variables latentes, observándose una relación directa significativa sólo con la variable forma de la corola (F) (Fig. 11). A pesar de que no se observó una relación directa entre los polinizadores y el tamaño de la corola, se pudo observar una relación significativa indirecta entre estos y los caracteres  $A_1$  y  $A_2$  (Fig. 11). Globalmente, el modelo de causalidad final sugiere que los polinizadores estarían seleccionando los caracteres alusivos a la forma y tamaño de la corola de *V. portalesia*, de forma directa e indirecta respectivamente, afectando a través de estos a la adecuación biológica de la población que habita la plantación de *P. radiata* (Tabla 6).

**Tabla 6.** Descomposición de efectos directos e indirectos de la correlación entre las variables latentes y el número de semillas por individuo en la plantación de *P. radiata*. El coeficiente de efecto es la suma de ambos efectos.

<b>Variable en correlación</b>	<b>Efectos directos</b>	<b>Efectos indirectos</b>	<b>Coficiente de efecto</b>
Tamaño de la corola (T)	0,26	0	0,27
Tamaño de la planta (P)	- 0,16	0	- 0,16
Forma de la corola (F)	- 0,27	0	- 0,27
Tasas de visitas (Pol)	0	- 0,31	- 0,31

**Nota:** Las variables indicadores no presentaron coeficientes de efectos sobre el número de semillas por individuo, ya que se encuentran anidadas en las variables latentes.

## DISCUSION

Los resultados de esta investigación indican que la selección impuesta por los polinizadores sobre el fenotipo floral de *Viola portalesia* difiere entre los sitios de estudio, lo cual podría ser explicado por las marcadas diferencias en la composición del ensamble de polinizadores y sus regímenes de visita. Los ensambles de polinizadores mostraron un alto porcentaje de disimilitud en la composición de especies, lo cual podría ser el resultado de los profundos cambios en las condiciones bióticas y abióticas generadas por la transformación antrópica del bosque Maulino. En el pasado, el lugar donde actualmente se sitúa la plantación de *P. radiata* se encontraba cubierto por vegetación nativa, la cual poco a poco fue explotada y remplazada por plantaciones de *P. radiata* (Grez et al. 1997, Bustamante & Castor 1998, Echeverría et al. 2006, Olivares et al. 2006). Hoy, las nuevas condiciones ambientales, en cuanto a diversidad y abundancia de especies de plantas (San Martín & Donoso 1996, Bustamante et al. 2006), así como también de temperatura y luminosidad, pudieron haber modulado los cambios en la diversidad de insectos polinizadores (Aizen et al. 2002). Algunos estudios han documentado que la perturbación del hábitat es capaz de afectar los ensambles de polinizadores a través de la remoción de biomasa vegetal, incremento de la disponibilidad lumínica, incremento de la temperatura diurna y evapotranspiración, entre otros factores (Didham et al. 1996, Potts et al. 2001, Ghazoul & Mcleish 2001, Aizen & Feinsinger 2003), provocando cambios en la dominancia de una u otra especie de polinizador (Aizen & Feinsinger 1994), u homogenización de la fauna sobre el espacio disminuyendo la diversidad beta (Aizen & Vásquez 2006).

Los análisis de gradientes de selección natural mostraron que cada población presentó una distinta covarianza entre los caracteres individuales y su éxito reproductivo. En el Bosque de Ruil, los diferenciales de selección mostraron una relación significativa entre el número de flores

por individuo y el fitness femenino, sugiriendo la existencia de selección total actuando sobre este carácter. No obstante, no se detectó selección directa o indirecta actuando sobre este rasgo. Es posible que en el Bosque de Ruil la densidad de flores por individuo no sea blanco de selección en esta especie, debido a la mayor diversidad y oferta de plantas con flores en dicho sitio lo cual restringiría la selección sobre este rasgo en *V. portalesia* (Medel, datos no publicados). Si bien hay investigaciones que apuntan hacia un incremento del éxito reproductivo con la densidad de flores (Thompson 1981, Schmitt 1983, Watkins & Levin 1990), otros sugieren el patrón inverso cuando el sistema muestra una alta complejidad estructural y con ello un incremento de la competencia por polinizadores entre las especies de plantas (Wissman et al. 2006). Por otro lado, al examinar los gradientes de selección lineal y no-lineal no se observaron relaciones significativas entre el set de caracteres cuantificados y el fitness de la población, lo que indicaría que otros factores distintos a los examinados en esta investigación dan cuenta de las variaciones en fitness. Por ejemplo, rasgos tales como longevidad floral, profundidad del tubo floral, color, y otras variables no cuantificadas en este estudio pueden dar cuenta de la varianza no explicada en la producción de semillas (Gómez, 1993, Jones & Reithel 2001, Alexandersson & Johnson 2001). También es posible que factores abióticos tales como temperatura, humedad o luminosidad se encuentren limitando el éxito reproductivo de esta población (Rausher 1992, Herrera 1995a, Herrera 1995b, Totland 2001). Esto último ha sido documentado en numerosos estudios que argumentan que es posible que la reproducción femenina se encuentre más bien limitada por recursos que por el depósito de polen (Willson & Price 1980, Sutherland & Delph 1984, Stanton et al. 1991, Johnston 1991) y que esto explicaría la ausencia de relación entre producción de semillas y caracteres relacionados con la atracción de polinizadores. En la plantación de *P. radiata* el escenario evolutivo fue diferente. La población de *V. portalesia* en el hábitat de pino mostró una relación significativa entre algunos de sus caracteres florales y el

fitness individual. Los diferenciales de selección mostraron que los caracteres asociados al tamaño de la corola ( $A_1$  y  $A_2$ ) presentan una relación significativa con el componente femenino del fitness. Pese a lo anterior, no se observó selección directa actuando sobre ningún rasgo, sugiriendo que vías más complejas de selección indirecta estarían ejerciendo efectos sobre el fitness de las plantas. Por otro lado, al examinar los coeficientes de selección no lineal se encontró evidencia de selección disruptiva actuando sobre el descriptor de forma  $RW_1$ , así como también de selección correlacional entre  $RW_1$  y el ancho de la corola ( $A_2$ ). Los resultados revelan que la selección natural no lineal no sólo estaría favoreciendo la forma de la corola de manera independiente, sino a través de combinaciones de caracteres de forma y tamaño. Este tipo de selección ha sido ampliamente documentada en la literatura (Grant 1949, Miller 1981, Wilken & Allard 1986, Grant 1992, Medel et al. 2003). El patrón de selección disruptiva documentado en este estudio puede tener variadas causas, no obstante, se sugieren dos explicaciones posibles. La primera, guarda relación con la composición del ensamble de insectos polinizadores. Los polinizadores que dominaron las visitas de *V. portalesia* en el hábitat transformado pertenecen a diferentes grupos funcionales, principalmente dípteros y coleópteros, donde cada grupo podría manifestar diferentes preferencias provocando presiones selectivas contrapuestas y con ello la divergencia de la forma y tamaño de la corola (Grant 1949, Conner 1997, Mazer & Meader 2000, Weiss 2001, Medel et al. 2003, Sargent 2004). Algunas investigaciones han mostrado que los dípteros prefieren despliegues florales más grandes ya que dependen de guías visuales para detectar flores a larga distancia (Weiss 2001), mientras que los coleópteros visitan flores de corolas más pequeñas (Vilà et al. 1998). La segunda explicación, tendría relación con la interacción entre factores bióticos y abióticos presentes en el hábitat de pino. Es posible que el medio abiótico circundante ejerza efectos antagónicos relativo a la dirección de la selección impuesta por los polinizadores. Por ejemplo, mientras los polinizadores dominantes (en este caso

los dípteros) podrían favorecer corolas grandes y formas asimétricas que favorezcan sus conductas de forrajeo, el medio abiótico podría favorecer formas florales más pequeñas y regulares debido a los costos asociados al despliegue floral (Galen 1999). Se ha observado que el desarrollo floral requiere de una mayor cantidad de agua ya que involucra expansión hidráulica de la célula (Galen 1999, Galen 2000), por lo que en hábitats con menor humedad se podrían favorecer flores más pequeñas; esto podría ser el caso en *Viola portalesia* en particular en las plantaciones de pinos, en las cuales existiría una menor humedad que en el bosque de Ruil (Humedad relativa aire, Bosque de Ruil = 97,8%, Pino = 91,3%, datos no publicados primavera 2008). Por lo tanto, el efecto neto de la selección sobre los rasgos florales de esta especie podría estar determinado por diversos agentes selectivos con efectos no aditivos entre sí. Al observar la estructura causal asociada a la adecuación biológica de la población, se observó una relación directa significativa entre los polinizadores y la forma de la corola, y esta última con el fitness, así como también una relación indirecta significativa con el tamaño de la corola. Estos resultados sugieren que los polinizadores serían el factor proximal de selección de esta población durante el periodo de estudio. Así, este escenario sugiere que los cambios en la configuración espacial en el paisaje a causa de la intervención humana no sólo genera un mosaico geográfico de hábitats, sino también heterogeneidad selectiva en el paisaje, lo cual en el largo plazo podría promover aislamiento reproductivo y divergencia de diferentes rasgos de esta y otras especies que habiten este tipo de sistemas.



## CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación fueron consistentes con la hipótesis que la selección sobre caracteres florales de *V. portalesia* sería diferente entre el Bosque de Ruil y la plantación de *P. radiata*, debido sus diferencias en la composición del ensamble de polinizadores. El ensamble de polinizadores y las tasas de visitas fueron diferentes entre sitios, lo cual deja en evidencia que hábitats colindantes pueden presentar diferente composición de especies de insectos, lo cual conduce a diferencias en los regímenes de visitas a las plantas. El éxito reproductivo difirió entre los hábitats y los coeficientes de selección mostraron diferencias en los regímenes selectivos, sugiriendo que poblaciones conespecíficas pueden variar en sus rasgos florales en respuesta a diferentes agentes selectivos (Robertson & Wyatt 1990). Finalmente, los resultados de las rutas de relación causal en modelos inclusivos corroboraron lo observado en el análisis de selección natural, señalando a los polinizadores como el factor determinante de los cambios en el éxito reproductivo de los individuos de la plantación de *P. radiata*, pero no así en el Bosque de Ruil. Globalmente estos resultados sugieren que la intervención humana, a través de su efecto sobre los ensambles de polinizadores, podría modificar no sólo la magnitud sino también la estructura causal de la selección mediada por polinizadores sobre el fenotipo floral. La relación entre la forma de la corola y sus polinizadores, y estos con la adecuación biológica de las plantas, ha sido una temática poco explorada a excepción de algunos esfuerzos (Herrera 1993, Gómez 2003, Medel et al. 2003). Esto da cuenta de la gran necesidad de más estudios que involucren caracteres no sólo de tamaño sino también de forma de los despliegues florales, con el objetivo de dilucidar nuevos blancos de selección y los factores asociados a ellos.

Existe muy poca información respecto de los procesos evolutivos que ocurren en ambientes intervenidos. Los resultados de este estudio enfatizan la necesidad de efectuar estudios comparativos entre ambientes nativos e intervenidos para analizar el estado presente y futuro de los ecosistemas sometidos a transformación. La heterogeneidad de hábitats producto de la intervención antrópica genera sin duda diferentes escenarios sobre los que la selección natural puede ejercer su efecto. La comprensión de la manera en que la intervención humana participa en la configuración de mosaicos selectivos a escala regional y de paisaje es un gran desafío para futuros estudios.

## REFERENCIAS

- AIZEN, M., & P. FEINSINGER. 1994. Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honeybees in Argentine "Chaco Serrano". *Ecological Applications* 4: 378-392.
- AIZEN, M., VASQUEZ, D. & SMITH-RAMIREZ, C. 2002. Historia natural y conservación de los mutualismos planta-animal del bosque templado de Sudamérica austral. *Revista Chilena de Historia Natural* 75:79-97.
- AIZEN, M., & P. FEINSINGER. 2003. Bees not to be? Responses of insect pollinator faunas and flower pollination to habitat fragmentation. En: G.A. BRADSHAW & P.A. MARQUET (eds.) *How landscapes change: human disturbance and ecosystem fragmentation in the Americas*, 111-129. Springer-Verlag, Berlin.
- AIZEN, M., & D. VASQUEZ. 2006. Flower performance in human-altered habitats. En: Harder L.D., & Barrett, S.C. (eds.) *Ecology and evolution of flowers*. 159-182. Oxford University Press, USA.
- ALEXANDERSSON, R., & S. JOHNSON. 2002. Pollinator-mediated selection on flower-tube length a hawkmoth-pollinated *Gladiolus* (Iridaceae). *Proceedings of the Royal Society of London*. 269: 631-636.
- ANDERSSON, S. 1996. Floral variation in *Saxifraga granulata*: phenotypic selection, quantitative genetics and predicted response to selection. *Heredity* 7: 217-223.
- ANDERSSON, S., & B. WIDEN. 1993. Pollinator-mediated selection on floral traits in a synthetic population of *Senecio integrifolius* (Asteraceae). *Oikos* 66: 72-79.
- BUSTAMANTE, R. & GREZ, G. 1995. Consecuencias ecológicas de la fragmentación de los bosques nativos. *Ambiente y Desarrollo* 11: 58-63.

- BUSTAMANTE, R., & C. CASTOR. 1998. The decline of an endangered temperate ecosystem: the ruil (*Nothofagus alessandrii*) forest in central Chile. *Biodiversity and Conservation* 7: 1607-1626.
- BUSTAMANTE, R., I. SEREY, & S. PICKETT. 2003. Forest fragmentation, plant regeneration and invasion processes across edges in Central Chile. En: Bradshaw G.A., P.A. Marquet, & H.A. Mooney (eds.) *How landscapes change: human disturbance and ecosystem disruption in the Americas*. Springer-Verlag 162: 145-160.
- BUSTAMANTE, R., & J. SIMONETTI. 2005. Is *Pinus radiata* invading the native vegetation in central Chile? Demographic responses in a fragmented forest. *Ecological Invasions* 7: 243-249.
- BUSTAMANTE, R., SIMONETTI, J., GREZ, A. & SAN MARTIN, J. 2005. Fragmentación y dinámica de regeneración del bosque Maulino: diagnóstico actual y perspectivas futuras. En: Smith-Ramírez, C., Armesto, J. & Villagrán, C. & Arroyo, M. (eds.). *Historia, ecología y biodiversidad y ecología de los bosques de la cordillera de la Costa*. Editorial Universitaria. Santiago, 555-564.
- BLAIR M., & L. WOLF. 2004. The evolution of an invasive plant: an experimental study with *Silene latifolia*. *Ecology* 85: 3035-3042.
- BUSTAMANTE, R., GREZ, A. & SIMONETTI, J. 2006. Efectos de la fragmentación del bosque Maulino sobre la abundancia y diversidad de especies nativas. En: Grez, A., Simonetti, J. & Bustamante, R. (eds.). *Biodiversidad en ambientes fragmentos de Chile: patrones y procesos a diferentes escalas*. Editorial Universitaria, Santiago, 83-98 pp.
- BENTLER, P. 1995. EQS: Structural Equations Program Manual. Encino, CA: Multivariate Software, Inc.
- CAMPBELL, D. 1989. Measurements of selection in hermaphroditic plant: variation in male and female pollination success. *Evolution* 43: 318-334.

- CAMPBELL, D. 1991. Effects of floral traits on sequential components of fitness in *Ipomopsis aggregata*. *The American Naturalist* 137: 713-737.
- CAMPBELL, D., N. WASER, & M. PRICE. 1996. Mechanisms of hummingbird-mediated selection for flower width in *Ipomopsis aggregata*. *Ecology* 77: 1463-1472.
- CARUSO, C. 2000. Competition for pollination influences selection on floral traits of *Ipomopsis aggregata*. *Evolution* 54: 1546-1557.
- CONNER, J., S. RUSH, & P. JENNETTEN. 1996. Measurements of natural selection on floral traits in wild radish (*Raphanus raphanistrum*). I. Selection through lifetime female fitness. *Evolution* 50: 1127-1136.
- CONNER, J. 1997. Floral evolution in wild radish: the roles of pollinators, natural selection, and genetic correlations among traits. *International Journal of Plant Sciences* 158(suppl.):S108-S120.
- DIDHAM, R., J. GHAZOUL, N. STORK, A. DAVIS. 1996. Insects in fragmented forests: a functional approach. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 255-260.
- ECKHART, V. 1992. Spatio-temporal variation in abundance and variation in foraging behavior of the pollinators of gynodioecious *Phacelia linearis* (hydrophyllaceae). *Oikos* 64: 573-586.
- GALEN, C. 1999. Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower size and form within natural plant populations. *BioScience* 49: 631-640.
- GALEN, C. 2000. High and dry: drought stress, sex-allocation trade-offs, and selection on flower size in the alpine wildflower *Polemonium viscosum*. *American naturalista* 156: 72-83.
- GHAZOUL, J., & M. McLEISH. 2001. Reproductive ecology of tropical forest trees in logged and fragmented habitats in Thailand and Costa Rica. *Plant Ecology* 153: 335-345.
- GÓMEZ, J. 1993. Phenotypic selection on flowering synchrony in a high mountain plant. *Hormathophylla spinosa* (Cruciferae). *Journal of Ecology* 81: 605-613.

- GRANT, V. 1949. Pollination systems as isolating mechanisms in angiosperms. *Evolution* 3: 82-97.
- GRANT, V., & E. TEMELES. 1992. Foraging ability of rufous hummingbirds on hummingbird flowers and hawkmoth flowers. *Proceeding of National Academic of Science. USA* 89: 9400-9404.
- GREZ, A., BUSTAMANTE, R., SIMONETTI, J. & FAHRIG L. 1997. Landscape, ecology, deforestation and forest fragmentation: the case of the rui forest. En: Chavéz, E. & Middleton J. (eds.). *Landscape ecology as a tool for sustainable development in Latinoamerica*. Libro electrónico disponible en [http://: www.brocku.ca/epi/lebk/grez.html](http://www.brocku.ca/epi/lebk/grez.html).
- HERRERA, C. 1987. Components of pollinator "quality": comparative analysis of a diverse insect assemblage. *Oikos* 50: 79-90.
- HERRERA, C. 1993. Selection on floral morphology and environmental determinants of fecundity in a hawkmoth-pollinated violet. *Ecological Monographs* 63: 251-275.
- HERRERA, C. 1995. Microclimate and individual variation in pollinators: flowering plants are more than their flowers. *Ecology* 76: 1516-1524.
- HERRERA, C. 1995. Floral biology, microclimate, and pollination by ectothermic bees in an early-blooming herb. *Ecology* 76: 218-228.
- HODGES, S., & M. ARNOLD. 1994. Floral and ecological isolation between *Aquilegia formosa* and *Aquilegia pubescens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91: 2493-2496.
- HOFFMANN, A. 2005. *Flora silvestre de Chile. Zona Araucana*. 5ª edición. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 258 pp.
- JARA-PRADO, R. & GREZ, A. 2004. Insectos hervívoros en el bosque Maulino: un ecosistema fragmentado. *Revista Chilena de Entomología* 30: 27-43.

- JONES, K., & J. REITHEL. 2001. Pollinator-mediated selection on a flower color polymorphism in experimental populations of *Antirrhinum* (scrophulariaceae). *American Journal of Botany* 88: 447-454.
- JOHNSTON 1991. Pollen Limitation of Female Reproduction in *Lobelia cardinalis* and *L. siphilitica*. *Ecology* 72: 1500-1503.
- LANDE, R., & S. ARNOLD. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- MAAD, J. 2000. Phenotypic selection in hawkmoth-pollinated *Platanthera bifolia*: targets and fitness surfaces. *Evolution* 54: 112-113.
- MEDEL, R., C. BOTTO-MAHAN, & M. KALIN-ARROYO. 2003. Pollinator-mediated selection on the nectar guide phenotype in the Andean monkey flower, *Mimulus luteus*. *Ecology* 84: 1721-1732.
- MEDEL R., A. VALIENTE, C. BOTTO-MAHAN, G. CARVALLO, F. PEREZ, N. POHL, & L. NAVARRO. 2007. The influence of insects and hummingbirds on the geographical variation of the flower phenotype in *Mimulus luteus*. *Ecography* 30: 812-818.
- MILLER, R.B. 1981. Hawkmoths and the geographic patterns of floral variation in *Aquilegia caerulea*. *Evolution* 35: 763-774.
- OLIVARES, P., SAN MARTIN, J. & SANTELISES, R. 2005. Características de la especie y sus bosques En: Ruil, estado del conocimiento y desafíos para su conservación CONAMA. p 3-29.
- OLLERTON, J. 1996. Reconciling ecological processes with phylogenetic patterns: the apparent paradox of plant-pollinator systems. *Journal of Ecology* 84: 767-769.
- POTTS, S., A. DAFNI, & G. NE'EMAN. 2001. Pollination of a core flowering shrub species in Mediterranean phrygana: variation in pollinator diversity, abundance and effectiveness in response to fire. *Oikos* 92: 71-80.

- R (2008) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- RAUSHER, M. 1992. The measurement of selection on quantitative traits: biases due to environmental covariances between traits and fitness. *Evolution* 46: 616-626.
- REAL, L., & B. RATHCKE. 1996. Individual variation in nectar production and its effect on fitness in *Kalmia latifolia*. *Ecology* 72: 149-155.
- RICE, W. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- RIEDEMANN, P., & G. ALDUNATE. 2003. Flora nativa de valor ornamental (Zona Sur). 1<sup>a</sup> Edición. Ediciones Paisajes de Chile- Mandiola y Cia Ltda. Santiago, Chile. 518 pp.
- ROBERTSON, J., & R. WYATT. 1990. Evidence for Pollination Ecotypes in the Yellow-Fringed Orchid, *Platanthera ciliaris*. *Evolution* 44: 121-133.
- ROHLF, F. 1990. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 299-316.
- SAS Institute. 1997. JMP software 5.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- SAN MARTIN, J. & DONOSO C. 1996. Estructura florística e impacto antrópico en el bosque Maulino de Chile. En: Armesto J., Villagran C. & Arroyo, M. (eds.). *Ecología de los bosques nativos de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago, 153-168pp.
- SARGENT, R. 2004. Floral symmetry affects speciation rates in angiosperms. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*. 271: 603-608.
- SCHEMSKE, D., & N. BROKAW. 1981. Treefalls and the distribution of understory birds in a tropical forest. *Ecology* 62: 938-945.
- SCHEMSKE, D., & C. HORVITZ. 1988. Plant-animal interactions and fruit production in
- SCHLUTER, D. 1988. Estimating the form of natural selection on a quantitative trait. *Evolution* 42: 849-861.



- SCHMITT, J. 1983. Flowering plant density and pollinator visitation in Senecio. *Oecologia* 60: 97-102.
- SIH, A., B. G. JONSSON, & G. LUIKART. 2000. Habitat loss: ecological, evolutionary and genetic consequences. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 132-134.
- SIMONETTI, J., GREZ, A. & BUSTAMANTE, R. 2006. Interacciones y procesos en el bosque Maulino fragmentado. En: Grez, A., Simonetti, J. & Bustamante, R. (eds.). *Biodiversidad en ambientes fragmentos de Chile: patrones y procesos a diferentes escalas*. Editorial Universitaria, Santiago, 83-98 pp.
- STANTON, M., J. YOUNG, N. ELLTRAND, & J. CLEGG. 1991. Consequences of floral variation for male and female reproduction in experimental populations of wild radish, *Raphanus sativus* L. *Evolution* 45: 268-280.
- STRAUSS, S., & J. WHITTALL. 2006. Ecology and evolution of flowers. Chapter 7. HARDER, L. & S. BARRETT (eds) Oxford University Press, USA. 120-135.
- SUTHERLAND, S., & R. VICKERY. 1993. On the relative importance of floral color, shape, and nectar rewards in attracting pollinators to *Mimulus*. - *Great Basin Nat.* 53: 107-117
- TOTLAND, O. 2001. Environment-dependent pollen limitation and selection on floral traits in an alpine species. *Ecology* 82: 2233-2244.
- THOMPSON J. 1981. Spatial and temporal components of resource assessment by flower-feeding insects. *Journal of Animal Ecology* 50: 49-59.
- THOMPSON, J. 1998. Rapid evolution as an ecological process. *Trends in Ecology and Evolution* 13: 329-332.
- UICN. 2001. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN. UICN, Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido. 33 p.

- UNDERWOOD, A. 1997. Experiments in ecology: Their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University Press. 504 pp.
- VILÀ, M., E. WEBER, & C. D' ANTONIO. Flowering and mating system in hybridizing *Carpobrotus* (Aizoaceae) in coasta California. *Canadian Journal of Botany* 76: 1165-1169.
- WADE, M., & S. KALISZ. 1990. The causes of natural selection. *Evolution* 44: 1947-1955.
- WASER, N., & M. PRICE. 1985. The effect of nectar guides on pollinator preference: experimental studies with a montane herb. *Oecologia* 67: 121-126.
- WATKINS, L., & D LEVIN. 1990. Outcrossing rates as related to plant density in *Phlox drummondii*. *Heredity* 65: 81-89.
- WEISS, M. 2001. Vision and learning in some neglected pollinators: beetles, flies, moths, and butterflies. En: Chittka L., & J.D. Thomson (eds.) *Cognitive ecology of pollination: Animal behavior and floral evolution*. 171-190. Cambridge University Press.
- Willson, M., & P. Price 1980. Resource limitation of fruit and seed production in some *Asclepias* species. *Canadian Journal of Botany* 58: 2229-2233.
- WISSMAN, J. 2006. Grazing regimes and plant reproduction in seminatural grassland. Doctoral Thesis. Faculty of Natural Resources and Agriculture Science. Swedish University of Agriculture Sciences. Uppsala, Sweden, 29p.
- WILKEN, D., & S. ALLARD. 1986. Intergration among populations of the *Ipomopsis aggregata* complex in the Colorado range. *Systematics Botany* 11: 1-13.
- ZELDITCH, M., D. SWIDERSKI, H. SHEETS, & W. FINK. 2004. *Geometric Morphometrics for Biologists*. Elsevier Academic Press, USA. 443 p.