

UCH-FC
B. Ambiental
E77e
c. 1

ESCUELA DE PREGRADO – FACULTAD DE CIENCIAS – UNIVERSIDAD DE CHILE



“EFECTOS DE LA HERBIVORÍA FLORAL SOBRE LA POLINIZACIÓN EN AMBIENTES CONTRASTANTES”

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con Mención en medio Ambiente.

Claudia Liz Espinoza León

2008



Director de tesis Rodrigo Medel



**“EFECTOS DE LA HERBIVORÍA FLORAL SOBRE LA
POLINIZACIÓN EN AMBIENTES CONTRASTANTES”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con Mención en medio Ambiente.

Claudia Liz Espinoza León

Dr. Rodrigo Medel Contreras
Director Seminario de Título

Una firma manuscrita en azul que parece decir 'RM' o similar, sobre una línea horizontal.

Comisión de Evaluación Seminario de Título

Dr. Javier Simonetti Zambelli
Presidente de la Comisión

Una firma manuscrita en azul que parece decir 'J.S.', sobre una línea horizontal.

Dra. Fernanda Pérez Trautmann
Evaluadora

Una firma manuscrita en azul que parece decir 'F.P.', sobre una línea horizontal.



SANTIAGO, agosto de 2008

AUTOBIOGRAFÍA



Soy Claudia, tengo 25 años y formo parte de la familia Espinoza León, constituida por mis padres Luisa y Eduardo y mis hermanas Paula, Catalina y Francisca a quienes amo mucho.

Creí y me eduqué en el Colegio Santa Cruz de Santiago y continué mis estudios universitarios en la facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, por mis intereses biológicos y ambientales.

Me considero una persona alegre, perseverante y apasionada por la naturaleza y ahora último particularmente por las flores, tema en el cual me he interesado bastante.

Estoy muy agradecida y feliz de lo que soy, lo que tengo y lo que he construido hasta hoy y tengo mucho optimismo de lo que viene después de esta larga formación personal y académica.



*Dedico este logro a mis padres
y a mis hermanas por el apoyo, paciencia
e infinito amor en este camino realizado*



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primero que todo a mi tutor, Rodrigo Medel, por la oportunidad y confianza brindada durante el desarrollo de mi seminario de título, por la buena disposición y paciencia principalmente en los momentos complicados.

A todos mis compañeros de laboratorio, especialmente a Antonio Rivera por su generosidad de compartir sus conocimientos, específicamente lo referido a los análisis estadísticos y a Maureen Murúa por sus consejos y trabajo en equipo.

A mis amigos de universidad, Yoko, Santiago, Caro, Matu, Isa, Sandra, Daniel, Mariela con quienes compartí momentos inolvidables y me escucharon y ayudaron en la preparación de mi tesis oral.

A Ricardo Tejos por su gran paciencia, disposición y gran amor demostrado no solo durante este periodo de tesis, sino durante todos estos años de universidad.

Agradezco de manera especial a mi familia, Eduardo, Luisa, Paula, Catalina y Francisca ya que sin ellos no sería lo que soy ahora, por todos los consejos de mis padres y por alentarme a seguir adelante en los momentos difíciles de mi carrera, gracias por el infinito amor.

Finalmente agradezco a todos las personas, familiares, amigos, que en algún minuto me aconsejaron y ayudaron durante este importante logro de mi vida.



ÍNDICE



RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos Generales.....	6
METODOLOGÍA.....	7
Especie de Estudio.....	7
Sitio de Estudio.....	8
Procedimiento de muestreo.....	8
Ensamble de Polinizadores.....	10
Análisis Estadístico.....	10
RESULTADOS.....	12
Fecundación automática en <i>Viola portalesia</i>	12
Comparación producción de semillas entre ambientes... ..	12
Comparación producción de semillas entre 4 tratamientos.....	13
Comparación de los ensambles de polinizadores en pino y reserva.....	15
DISCUSIÓN.....	19
CONCLUSIÓN.....	22
REFERENCIAS.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.	Fotografías de <i>Viola portalesia</i> de frente y de costado.	7
FIGURA 2.	Tratamientos realizados en la corola de <i>Viola portalesia</i> a cada grupo de flores.	9
FIGURA 3.	Producción de semillas por tratamiento y ambiente en función de la covariable número de flores.	14
FIGURA 4.	Cantidad de polinizadores de <i>Viola portalesia</i> presentes en cada ambiente y cantidad de especies compartidas en ambos sitios, con respecto al total de especies que polinizan <i>V. portalesia</i> (30 especies en total).	15
FIGURA 5.	Promedio (\pm Error estándar) de tasas de visita de los polinizadores de pino y reserva. Las letras indican diferencias significativas (Prueba de t de Student, $P = 0,001$).	18

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.	ANCOVA. Diferencias de producción de semillas entre tratamientos, entre ambiente, relación entre covariable (numero de flores por grupo) e interacciones.	13
TABLA 2.	Promedio (desviación estándar) de producción de semillas por nivel de cada factor, ambiente y tratamiento (tres tipos de cortes de la corola más la flor control) y promedio total (desviación estándar) de producción de semillas de todos los tratamientos en pino y reserva.	13
TABLA 3.	Tasas de visita de los diferentes polinizadores expresado como número de visitas por flor por unidad de tiempo (hora).	17

RESUMEN

La fragmentación del hábitat puede afectar la calidad e intensidad de las interacciones biológicas. Las interacciones pueden ser fuertemente afectadas si la modificación del hábitat conlleva una reducción en el número y abundancia o cambios de patrones de forrajeo de las especies interactuantes. La pérdida o interrupción de los servicios de polinización pueden tener muchas consecuencias para las plantas. El resultado más obvio es la pérdida o reducción en el éxito reproductivo. Sin embargo, el efecto de la fragmentación puede tener impactos menos obvios sobre el servicio de polinización. Por ejemplo, la herbivoría floral puede afectar caracteres florales relevantes para el proceso de polinización influenciando de una manera no aditiva el éxito reproductivo de las plantas. En esta tesis se evaluó el efecto de la herbivoría floral en distintos pétalos de la corola de *Viola portalesia* sobre la producción de semillas (estimador de la polinización) en dos ambientes contrastantes, Reserva Nacional Los RUILes y plantación de *Pinus radiata* aledaña. A pesar de la fuerte diferencia en la estructura y composición de los ensambles polinizadores no se detectaron efectos del daño floral sobre la producción de semillas. Sorpresivamente la producción de semillas fue mayor en pino que en Reserva. Estos resultados indican que a pesar de existir diferencias en los regímenes de polinización entre ambientes, los polinizadores no discriminan entre flores dañadas y no dañadas. En general, los resultados indican que en esta especie, la herbivoría floral no se traduce en un cambio en la producción de semillas en ninguno de los ambientes, sugiriendo que la herbivoría floral tiene un impacto mínimo sobre el servicio de polinización y la producción de semillas independiente del hábitat en la cual ocurre.

ABSTRACT

Habitat fragmentation may affect the quality and intensity of biological interactions. Species interactions may be strongly influenced if habitat modification conveys a reduction in the number and abundance of interacting species or change their foraging behavior. The loss or disruption of pollination interactions may have serious consequences for plant reproductive success. The most obvious result is a reduction in plant fitness. Notwithstanding, the impact of habitat degradation may have less obvious effects on pollination service. For example, flower herbivory may modify the flower characters relevant in the pollination process, influencing in a non additive manner plant reproductive success. In this work, I experimentally evaluate the effect of flower herbivory on different petals of *Viola portalesia* on seed production (used as surrogate of pollination) in two contrasting environments, The Ruiles National Reserve and a nearby *Pinus radiata* plantation. In spite of the strong differences in the structure and composition of pollination assemblages, no effects of flower damage on seed production were detected. Surprisingly, seed production was higher in the pine plantation than in the Reserve. These results indicate that in spite of the differences found in the pollination regime between sites, pollinators did not discriminate between damaged and undamaged flowers. Overall, my results indicate that flower herbivory did not translate into seed production in this species in the Reserve and pine plantation, suggesting that flower herbivory has a negligible impact on pollination service and seed production irrespective of the habitat on which this interactions do occur.

INTRODUCCIÓN

La fragmentación del hábitat ha sido reconocida como una de las principales amenazas para los ecosistemas (Dale & Pearson 1997, Armenteras et al. 2003). La fragmentación puede afectar las condiciones abióticas de los fragmentos, la composición y abundancia de las especies asociadas a ellos, o bien puede afectar indirectamente la calidad e intensidad de algunas interacciones biológicas (Bustamante & Grez 1995). Una de las interacciones afectadas por la fragmentación es la polinización (Aizen et al. 2002, Ashworth et al. 2004, Simonetti et al. 2006).

La polinización puede ser directamente afectada por la fragmentación a través de una reducción en la abundancia y riqueza de especies de polinizadores y además indirectamente por la alteración de sus conductas y patrones de vuelo (Thomas et al. 2001, Goverde et al. 2002). Por una parte, la disminución en la abundancia de polinizadores es causada por el cambio en la disponibilidad de recursos (Jennersten 1988), por una disminución en la frecuencia de visitas debidas a cambios en la distribución de los recursos florales (Rathcke 1983), o por la exclusión competitiva de los recursos florales por especies polinizadores diferentes a las originales (Dick 2001). Por otra parte, las conductas, tales como patrones de forrajeo, tasas de visitas, distancias de vuelo son alteradas con la fragmentación, debido a que se producen cambios en la distribución espacial de plantas (Goverde et al. 2002). Producto de estas alteraciones causadas por la fragmentación, muchas plantas son amenazadas porque sus polinizadores se han perdido o han declinado a niveles más bajos que su efectividad funcional (Lindenmayer & Fisher 2006).

La pérdida o interrupción de los servicios de polinización pueden tener muchas consecuencias para las plantas, especialmente para las especies auto-incompatibles, las que obligadamente dependen de polinizadores para la reproducción sexual (Aguilar et al. 2006). En tales especies, el resultado más obvio es la pérdida o reducción en la producción de frutos y semillas (e.g., Aguilar & Galetto 2004) y una posterior reducción en el tamaño poblacional. Además de tales efectos, los impactos de la fragmentación sobre la polinización, pueden extenderse a efectos genéticos sobre las plantas. La restricción del flujo de polen resultante de la fragmentación puede reducir la variabilidad de la progenie y el tamaño genético efectivo poblacional causando depresión por endogamia y cambios en la estabilidad poblacional de las poblaciones aisladas (Didham et al. 1996).

No todas las especies responden por igual a la modificación del paisaje. En muchos paisajes modificados, la noción que la matriz es inhóspita para muchas especies puede no ser real (Barret et al. 1994), ya que la matriz puede ofrecer una variedad de nuevos recursos para algunos insectos (Dewenter et al. 2002). Especies altamente móviles, como polinizadores con amplio rango de forrajeo, pueden tener ámbitos de forrajeo menos restringidos espacialmente al utilizar la matriz que rodea los fragmentos (Meyer 2007). El tamaño de los insectos también influye en la capacidad de persistir en ambientes fuera de los fragmentos. Por ejemplo, pequeñas abejas con baja capacidad de dispersión y abejas solitarias son mayormente afectadas por la pérdida de hábitat que abejas grandes con buena capacidad de dispersión y abejas sociales (Meyer 2007). En cuanto a las plantas, existe evidencia que la matriz puede ser suficientemente heterogénea para ofrecer condiciones óptimas para la sobrevivencia y reproducción de

plantas nativas (Murphy & Lovett-Doust 2004). Las diferencias en las respuestas de las especies a los cambios de hábitat tienen relación con rasgos de su historia de vida como capacidad de dispersión, nivel trófico y estrategias de dispersión (Didham et al. 1996, Tschamntke et al. 2002).

Una interacción íntimamente ligada con la polinización es la herbivoría. La relación entre herbivoría y polinización ha incrementado la atención de ecólogos ya que los herbívoros a menudo modifican caracteres involucrados en la atracción para la polinización (Pohl et al. 2006). Sin embargo, estudios de interacción entre herbivoría floral y polinización en ambientes fragmentados son prácticamente ausentes en la literatura. Es sabido que la herbivoría floral puede tener efectos directos e indirectos sobre el éxito reproductivo de las plantas (Mothershead & Marquis 2000). La florivoría afecta directamente la adecuación biológica de la planta por el consumo total o parte de los gametos (e.g., Malo et al. 2001) y afecta indirectamente la adecuación biológica de las plantas por la alteración de la calidad y cantidad de caracteres florales importantes para otras especies de interacciones. Por ejemplo, la florivoría puede afectar una diversidad de caracteres florales, incluyendo tamaño de pétalos (Mothershead & Marquis 2000), producción de néctar (Krupnick et al. 1999), producción de flores (Lohman et al. 1996) y el tiempo de florecimiento (Frazee & Marquis 1994), las cuales pueden alterar la atracción de las plantas a los polinizadores (Cunningham 1995, Krupnick et al. 1999) y subsecuentemente la reproducción de las plantas transformándose en especies de plantas con limitaciones de polen y polinizadores (Krupnick & Weis 1999, Mothershead & Marquis 2000). La florivoría puede afectar la cantidad y calidad de flores dañadas o subsecuentemente flores producidas.

(Mothershead & Marquis 2000, McCall & Irwin 2006) así como la cantidad y calidad de visitas de polinizadores, los cuales pueden interactuar en una manera aditiva o no aditiva para afectar la adecuación biológica de las plantas.

La evasión de flores dañadas ha sido registrada en un amplio rango de especies polinizadores que incluyen murciélagos (Cunningham 1995), mariposas (e.g., Murawski 1987), abejas (e.g., Strauss et al. 1996, Krupnick et al. 1999), dípteros (e.g., Lohman 1996; Strauss et al. 1996) y picafloras (eg., Krupnick et al. 1999; Canela & Sazima 2003). Además varios estudios indican que la localización del daño puede ser un factor crítico para el éxito reproductivo de las plantas, específicamente si el daño altera alguna señal que es sensada por los polinizadores (Botto-Mahan & Camacho 2000, Pohl et al. 2006). Los efectos de la florivoría sobre el éxito reproductivo de las plantas puede variar desde efectos negativos (Mothershead & Marquis 2000) a efectos neutrales (Malo et al. 2001), dependiendo de una variedad de factores, que incluyen los niveles de autogamia, el tipo y cantidad de daño floral, el sistema reproductivo y rasgos de la historia de vida de las plantas, cambios en expresión sexual floral, y el contexto comunitario de otras interacciones antagonistas y mutualistas (McCall & Irwin 2006).

La fragmentación de bosque nativo es un problema que afecta a Chile desde ya varios años. Un ejemplo de ello, es el bosque de Ruil, ubicado en la Cordillera de la Costa, Región del Maule. La fragmentación de este bosque ha sido causada principalmente por la sustitución de árboles nativos, para plantaciones forestales comerciales como *Pinus radiata* (Bustamante et al. 2003). *Pinus radiata* es una planta colonizadora, nativa de California con dispersión por viento de polen y semillas (Lewis & Ferguson 1993). Ha sido un invasor extremadamente exitoso en diversos ecosistemas del hemisferio sur

(Richardson et al. 1994), probablemente como consecuencia de su rápida maduración, resistencia al fuego y alta capacidad de sus semillas para dispersarse (Rejmanek 1996). El paisaje de la región del Maule actualmente es un mosaico donde el bosque original permanece en un estado altamente fragmentado inmerso en plantaciones de *Pinus radiata* (Bustamante et al. 2003). En este contexto, es interesante evaluar simultáneamente interacciones ecológicas, en especies compartidas en sistemas naturales y degradados puesto que de esta manera se pueden conocer desde una perspectiva más integrada las relaciones entre el paisaje fragmentado y los procesos ecológicos subyacentes.

Los escasos estudios existentes entre herbivoría y fragmentación en el bosque maulino documentan que la abundancia de herbívoros, particularmente insectos, difiere entre los fragmentos y el bosque continuo, siendo en los fragmentos el 66% de aquella alcanzada en el bosque continuo. Esta diferencia en abundancia se expresa en una menor defoliación en plántulas y árboles adultos en los fragmentos (Simonetti et al. 2006). Es posible que la herbivoría sobre otros rasgos de las plantas manifieste una tendencia similar. Específicamente, es probable que al igual que la herbivoría foliar, la herbivoría floral difiera entre hábitats contrastantes de un bosque fragmentado, resultando en diferentes magnitudes de herbivoría e impactos variables en la atracción de polinizadores y subsecuentemente en el éxito reproductivo de las plantas. La especie endémica *Viola portalesia*, presente tanto en bosque nativo como en la matriz de *Pinus radiata* exhibe herbivoría floral en ambos ambientes. Observaciones en terreno indican que la herbivoría floral de esta herbácea es mayor en la matriz de pino (12,4% de flores dañadas, $N = 241$ flores examinadas) que en el bosque de Ruil (2,5%, $N = 240$ flores

examinadas) ($\chi^2 = 15,8$, $gl = 1$, $P < 0,001$), por lo que esta especie representa un modelo de estudio adecuado para examinar las consecuencias reproductivas de la herbivoría floral en ambientes contrastantes.

El objetivo general planteado en esta tesis es analizar el efecto del daño floral de distintos componentes de la corola de *Viola portalesia* sobre la producción de semillas en ambientes contrastantes del bosque de Ruil (bosque nativo y matriz de pino). Un segundo objetivo es evaluar el impacto del daño floral en función de la densidad de flores lo cual dará información de los efectos denso-dependientes del daño floral. Más específicamente en este estudio trataré de responder las siguientes preguntas: 1) ¿necesita *Viola portalesia* de polinizadores para su reproducción?, 2) ¿existen diferencias en la producción de semillas de las flores tratadas entre los dos ambientes?, 3) ¿existen diferencias en el ensamble de polinizadores en ambos ambientes, en cuanto a riqueza y tasa de visita de polinizadores? y finalmente 4) ¿la diferencia del efecto de remoción de pétalos sobre la producción de semillas, si es que existe, se explica por la existencia de distintos ensambles de polinizadores?

MATERIALES Y MÉTODOS

Especie de estudio.

Viola portalesia es una hierba endémica de Chile que habita y se distribuye a lo largo de la costa, desde Zapallar a Valdivia. Es un arbusto siempre verde, no muy ramificado, de tallos delgados que alcanza una altura de hasta 30 cm. El período de reproducción sexual de esta planta ocurre en primavera desde septiembre hasta finales de noviembre. Morfológicamente la flor es zigomorfa, presenta un cáliz de 5 sépalos libres, una corola formada por 5 pétalos (Figura 1A), el pétalo inferior formando un espolón en la parte posterior de la flor (Figura 1B, flecha). Posee 5 estambres ubicados en los pétalos inferiores y un estilo con forma de gancho. Funcionalmente, sus flores son hermafroditas y se desconoce su capacidad de compatibilidad o incompatibilidad. El fruto que forma es una cápsula tri-valva dehiscente (Hoffmann 1982)

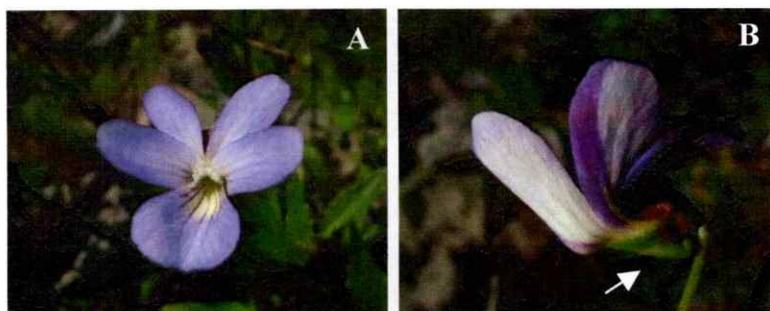


Figura 1. Fotografías de *Viola portalesia* de frente (A) y de costado (B). La flecha indica el espolón de la flor.

Sitio de estudio.

Este trabajo fue realizado durante la primavera del año 2007, específicamente entre los meses de octubre y diciembre en el Bosque de Ruil localizado en la Cordillera de la Costa, región del Maule (entre 35° a 36° S). Este bosque abarca una faja de 100 km, en una disposición paralela a la costa y se encuentra en altitudes de 150 a 500 msnm. (Olivares et al. 2005). Específicamente se trabajó en dos sitios, en la Reserva Nacional Los Ruiles (197-376 msnm) que pertenece a CONAF ubicada al costado norte del camino que une Cauquenes con Chanco a la altura del kilómetro 29 de dicha ruta (35° 83'S 72°50'O) y en plantaciones de *Pinus radiata*, pertenecientes a la empresa forestal CELCO, ubicadas en el mismo sector (471 msnm) (35°85'S 72°46'O). Ambos sitios están separados aproximadamente por 3,6 km.

Procedimientos de muestreo.

En terreno se eligieron grupos de *Viola portalesia* con distinto número de flores (vecindad) y que presentaran además al menos cuatro botones cada una. El número de flores vecinas de cada grupo varió entre 1 y 115 flores en pino y entre 1 y 110 en bosque nativo (a excepción de un grupo con 300 flores). El número total de grupos registrados en pino y en bosque nativo fueron 59 y 65 respectivamente. Los cuatro botones de cada grupo fueron marcados al azar con distintos colores, para que una vez florecidos se les asignaran los diferentes cortes de pétalos correspondientes. Los cuatro tratamientos fueron los siguientes: 1) corte del pétalo de aterrizaje; 2) corte de los pétalos inferiores; 3) corte de los pétalos posteriores y por último 4) sin ningún daño experimental, este representaba la flor control (Figura 2). Se trataron ambos pétalos, derecho e izquierdo en



Figura 2. Tratamientos realizados en la corolla de *Viola portalesia* a cada grupo de flores. Corte de pétalos inferiores (A), cortes de pétalos superiores (B), corte de pétalo de aterrizaje (C) y flor control (D)

el corte de los pétalos inferiores y superiores, para mantener la simetría de la flor en todos los tratamientos. Una vez tratadas las flores, se revisaron diariamente para corroborar que se encontraran sin ningún daño adicional a los tratamientos. Las flores que presentaban daño natural no fueron consideradas, marcándose nuevos botones o fueron eliminadas del análisis. Los frutos, una vez formados, fueron recolectados y llevados al laboratorio para realizar el conteo de semillas, el cual se hizo con la ayuda de una lupa 10X, debido al pequeño tamaño que presentaban.

En paralelo al experimento principal se realizó además otra actividad para responder a la pregunta de si *Viola portalesia* presentaba fecundación automática. Para ello se eligieron 15 botones, los que se cubrieron con una capucha de tul, aislando de esta manera las flores de los polinizadores. Una vez marchitas las flores, se recolectaron los frutos para observar la existencia y número de semillas producidas.

Ensamblés de Polinizadores.

Con el fin de evaluar en cuál ambiente *Viola portalesia* recibía una mayor tasa de visita se comparó, a) la riqueza de polinizadores, b) la tasa de visitas de los distintos polinizadores a la flor y c) el promedio de las tasas de visita de los ensambles entre los ambientes. Las tasas de visita se estimaron mediante observaciones focales de 15 min. en flores de la Reserva y matriz de pino. Se consideró como visita a los eventos en que un polinizador contacta con los órganos reproductivos de la flor.

Análisis Estadístico.

Con respecto al experimento principal, se seleccionaron los grupos con los cuatro tratamientos, resultando en un volumen de 224 datos para reserva y 216 datos para pino. Los datos se analizaron usando Análisis de Covarianza (ANCOVA), identificando como variable respuesta la cantidad de semillas por flor, como factores el ambiente y tratamiento y como covariable el número de flores vecinas de cada grupo. Se evaluaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad necesario antes de aplicar el ANCOVA, transformándose a logaritmo neperiano el número de flores vecinas (logflores). Se excluyó del análisis el parche con número de flores vecinas igual a 300, por ser un valor extremo con respecto a los demás grupos de flores. La variable número de semillas no fue transformada dado que los residuales del modelo fueron normalmente distribuidos. Igualmente se revisó en cada caso los resultados con esta variable transformada y los resultados fueron los mismos. En cuanto al ensamble de polinizadores, los valores promedio de tasa de visita de cada sitio, se compararon mediante la prueba t de Student. La variable tasa de visita fue transformada a logaritmo

neperiano con el fin de ajustar mejor los datos a una distribución normal. Todos los análisis se efectuaron en el programa estadístico R (versión 2007).

RESULTADOS

1. Fecundación automática en *Viola portalesia*.

Los experimentos realizados para determinar fecundación automática en *Viola portalesia* indicaron que esta flor necesita de polinizadores para fecundarse. Así, de un 100% de las flores experimentales, ninguna desarrolló frutos ni semillas. Además la antesis de las flores resultó ser más extensa (aproximadamente 20 días) que aquellas flores que no fueron sometidas a la exclusión de polinizadores (aproximadamente 10 días).

2. Se analizó el efecto del ambiente, tratamiento floral y número de flores vecinas en la producción de semillas. El análisis estadístico se dividió en dos partes como se muestra a continuación.

2a. Comparación de la producción de semillas entre ambientes (sin distinguir entre tratamientos).

La mayor diferencia de producción de semillas ocurre entre pino y bosque nativo. El análisis arrojó diferencias altamente significativas en la producción de semillas considerando la covariable número de flores ($P < 0,001$) (Tabla 1). La cantidad promedio de semillas por flor que se produce en la matriz de pinos es de 22,1, mientras que en la Reserva son 15,8 (Tabla 2). Se observa además que existe una relación positiva entre el número de flores y la producción de semillas. Sin embargo, al analizar la interacción entre covariable y ambiente, el efecto es significativo indicando que los

Tabla 1. ANCOVA. Diferencias de producción de semillas entre tratamientos, entre ambiente, relación entre covariable (número de flores por grupo) e interacciones.

<i>Fuente de variación</i>	<i>gl</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Tratamiento (T)	3	11,3	0,551	0,647
Ambiente (A)	1	4505,9	220,343	< 0,001
Número de flores (F)	1	124,0	6,065	0,014
T x A	3	5,0	0,243	0,866
T x F	3	7,3	0,356	0,785
A x F	1	243,3	11,899	< 0,001
T x A x F	3	9,6	0,471	0,702
Residuales	424	20,4		

ambientes pino y reserva responden de manera diferencial en términos de producción de semillas por flor frente al número de flores vecinas (Tabla 1). La Figura 3 muestra que las pendientes asociadas al número de flores vecinas son positivas en el caso de pino y prácticamente nulas en reserva. La pendiente en pino corresponde a 4,33, mientras que en el bosque nativo es de 0,03.

2b. Comparación de producción de semillas entre los cuatro tratamientos.

La Tabla 2 muestra que los promedios en la producción de semillas entre los tratamientos presentan valores muy similares con una desviación estándar estrecha entre ellos en cada uno de los ambientes. Análisis más específicos indican que no existen

Tabla 2. Promedio (Desviación estándar) de producción de semillas por nivel de cada factor, ambiente (pino y reserva) y tratamiento (tres tipos de cortes de la corola más la flor control) y promedio total (Desviación estándar) de producción de semillas de todos los tratamientos en pino y reserva. (*N* representa el número de flores tratadas).

	<u>Pino</u>	<u>N</u>	<u>Reserva</u>	<u>N</u>
Control	22,2 (5,61)	54	16,4 (3,85)	56
Sin pétalo inferior	21,9 (5,37)	54	15,4 (3,41)	56
Sin pétalo superior	22,4 (5,54)	54	15,7 (3,55)	56
Sin pétalo de aterrizaje	21,9 (5,24)	54	15,3 (3,46)	56
Total	22,1 (0,24)	216	15,8 (0,50)	224

efectos significativos entre los distintos tratamientos asignados (sin distinguir entre ambientes), considerando la covariable número de flores vecinas ($P = 0,647$). Tampoco resultó significativa la interacción del tratamiento con la covariable ($P = 0,785$), ni la interacción del tratamiento con el ambiente ($P = 0,866$) (Tabla 1). Los efectos no significativos de esta última interacción se muestran graficados en la Figura 3, donde se observa que no existen diferencias entre los tratamientos ni en reserva (primera fila de gráficos) ni en pino (segunda fila de gráficos).

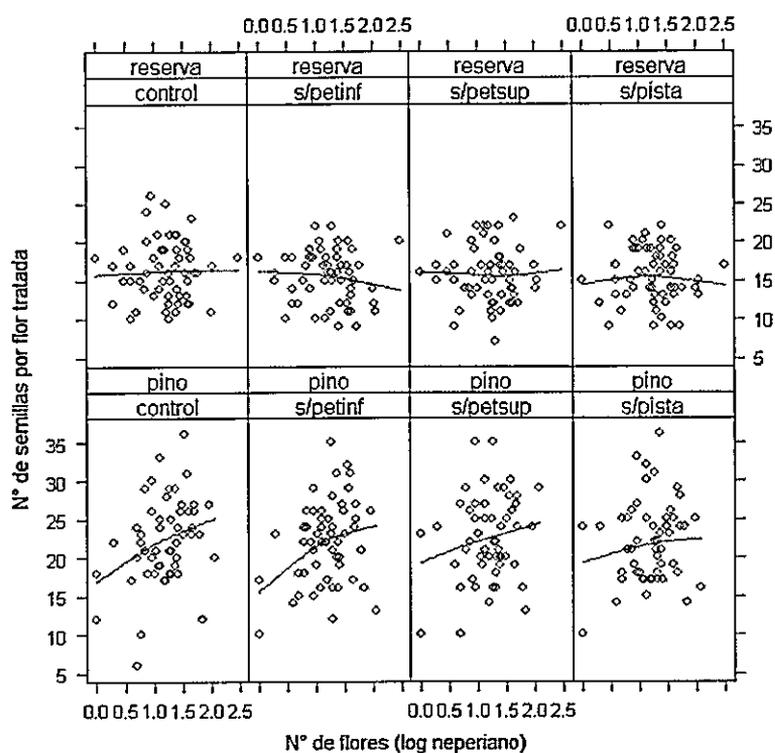


Figura 3. Producción de semillas por tratamiento y ambiente en función de la covariable número de flores. Se observa una mayor producción de semillas en pino. No hay diferencias en la producción de semillas entre tratamientos en ambos ambientes y existe una relación positiva entre la producción de semillas y el número de flores solamente en pino

3. Comparación de los ensambles de polinizadores en Pino y Reserva

El ensamble de polinizadores en *Viola portalesia* difirió entre los ambientes en términos de composición de especies. El bosque nativo presentó una mayor riqueza con 20 especies, mientras que en pino, la cantidad de polinizadores de *V. portalesia* fue de 14. De un total de 30 especies polinizadores de *Viola portalesia* en ambos sitios combinados, la cantidad de especies compartidas es de 4 especies, sugiriendo que a pesar de la cercanía de los sitios existiría una fauna de polinizadores ambiente-específica al menos para esta flor (Figura 4). Al observar las tasas de visitas que realizan los polinizadores a *Viola portalesia*, se observa que en pino, la especie más importante es Bombilido 1, un díptero que en la reserva poliniza a *V. portalesia*, pero lo hace con una tasa igual a cero. Por otro lado, la especie con una mayor tasa de visita en la reserva es el himenóptero *Manuelia gayatina*, la cual no es encontrada en pino polinizando a esta flor (Tabla 3).

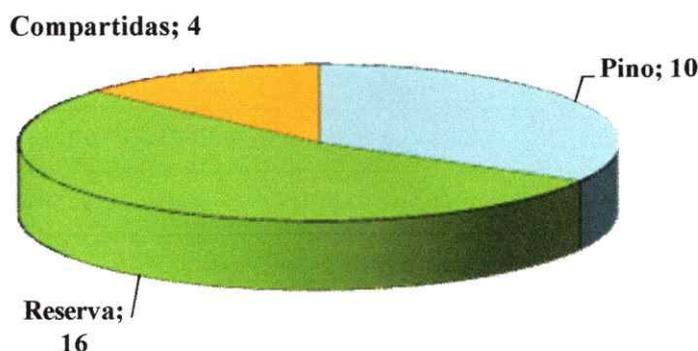


Figura 4. Cantidad de polinizadores de *Viola portalesia* presentes en cada ambiente y cantidad de especies compartidas en ambos sitios, con respecto al total de especies que polinizan *V. portalesia* (30 especies en total).

Por último, al comparar la tasa promedio del gremio de polinizadores entre pino y bosque nativo, se encontraron diferencias significativas (prueba t de Student, $t = 3,6$, $gl = 24,6$, $P = 0,001$), indicando que los polinizadores en pino presentan en promedio mayor tasa de visita a *V. portalesia* que en la reserva (Figura 5).

Tabla 3. Tasa de visita (Desviación estándar) de los diferentes polinizadores y promedio (Desviación estándar) de tasas de visita de ambos gremios, expresado como número de visitas por flor por unidad de tiempo. Las abreviaciones en paréntesis representan al Orden de insectos. (Lep) Lepidóptero, (Him) Himenóptero, (Dip) Díptero y (Col) Coleóptero.

	Tasa de Visita (visitas/n° flores/hora)	
	Pino	Bosque Nativo
Bombilido 1 (Díp)*	0,206 (1,2)	SR
<i>Anthrobrachus nigromaculatus</i> (Col)*	0,079 (0,3)	SR
<i>Dasytes</i> sp1 (Col)	0,053 (0,2)	-
<i>Yramea cytheris</i> (Lep)	0,048 (0,3)	-
<i>Hylephila venusta</i> (Lep)	0,025 (0,2)	-
Formicidae sp6 (Him)	0,021 (0,1)	-
Diptero 1 mm (Díp)	0,019 (0,1)	-
Bombilido 2 (Díp)*	0,016 (0,1)	0,002 (0,02)
<i>Dasytes</i> sp2 (Col)	0,016 (0,1)	-
Formicidae sp2 (Him)	0,016 (0,1)	-
Hylodanaceae sp1 (Col)	0,016 (0,1)	-
<i>Bombus terrestris</i> (Him)	SR	-
<i>Manuelia gayi</i> *(Him)	SR	0,003 (0,04)
Formicido 5 (Him)	SR	-
<i>Manuelia gayatina</i> (Him)	-	0,084 (0,34)
<i>Manuelia postica</i> (Him)	-	0,057 (0,36)
Sirfido 3 (Díp)	-	0,041 (0,29)
Acrocerido 2 (Díp)	-	0,026 (0,31)
Formicidae (Him)	-	0,012 (0,15)
Sirfido 2 (Díp)	-	0,012 (0,11)
<i>Bombus dahlbomii</i> (Him)	-	0,008 (0,10)
Curculionidae (Col)	-	0,006 (0,06)
<i>Homeonympha humilis</i> (Lep)	-	0,006 (0,08)
<i>Corynura chloris</i> (Him)	-	0,002 (0,03)
Tabanidae 2 (Díp)	-	0,002 (0,03)
Acrocerido 1 (Díp)	-	0,002 (0,03)
<i>Vanessa tepsichore</i> (Lep)	-	0,001 (0,02)
<i>Diplaglosa gayi</i> (Him)	-	0,001 (0,01)
Tabanidae 1 (Díp)	-	SR
<i>Taspino taspis</i> (Him)	-	SR
Promedio tasa de visita	0,046 (0,05)	0,017 (0,02)

Nota 1. Las morfoespecies están en proceso de determinación y se encuentran depositadas en el laboratorio de Ecología Evolutiva de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Nota 2. Los polinizadores sin registros (SR) fueron identificados como polinizadores de *V. portalesia*, pero no se encuentran dentro de las observaciones focales de 15 min., por lo tanto se les considera una tasa de visita igual a 0.

Nota 3. El signo * indica las especies compartidas de ambos ambientes.

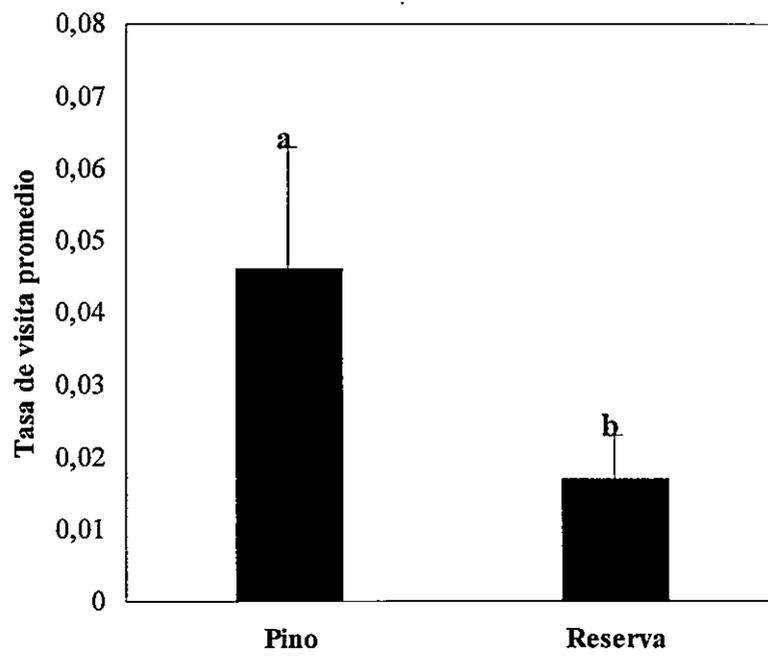


Figura 5. Promedio (\pm Error estándar) de tasas de visita de los polinizadores de pino y reserva. Las letras indican diferencias significativas (Prueba de t de Student, $P = 0,001$).

DISCUSIÓN

El tema principal de este estudio fue examinar el potencial efecto de la herbivoría floral sobre el éxito reproductivo de una especie herbácea en dos ambientes contrastantes de un bosque fragmentado de Chile central. Específicamente, se evaluó el efecto de la modificación de los distintos pétalos de la corola sobre la producción de semillas en cada flor tratada. Uno de los resultados claves para el posterior análisis, es haber demostrado que *Viola portalesia* necesita de polinizadores para la formación de frutos y semillas.

De acuerdo a los resultados estadísticos, lo primero que llama la atención es la diferencia en la producción de semillas entre ambos ambientes, siendo más alto el número de semillas en las flores presentes en pino, es decir, en el ambiente perturbado (22,1 contra un 15,8 semillas por fruto en promedio en ambientes de pino y bosque de Ruil, respectivamente). Esta diferencia se podría atribuir a variaciones en el componente de calidad del servicio de polinizadores entre ambos ambientes. Varios autores han señalado que la efectividad de la polinización es altamente variable en poblaciones naturales (e.g., Prada et al. 1998, Sanchez-Lafuente et al. 1999). Es posible que exista una mayor efectividad del conjunto de especies polinizadoras que habitan en la matriz de pino. Asimismo, es posible que la especie más importante de la matriz (el díptero Bombilido 1) sea más efectivo que el polinizador dominante en la Reserva (*Manuelia gallatina*). Otra explicación frente a esta diferencia se basa en el componente de cantidad del servicio de polinización. En la Reserva *Viola portalesia* coexiste con 46

especies de flores más que en la matriz de pino. Por lo tanto, si bien la riqueza de polinizadores es mayor en la reserva, existiría asimismo una mayor oferta de recursos alternativos para los polinizadores, lo cual disminuiría la tasa de visitas sobre *V. portalesia* (Tabla 3). De esta manera, los polinizadores al focalizar sobre *V. portalesia* en pino aumentarían las visitas sobre esta especie, produciendo incidentalmente un aumento en la producción de semillas de las plantas en el ambiente degradado.

En cuanto a los tratamientos, tema central de esta tesis, la ausencia de efecto significativo en la producción de semillas entre las flores que presentan distintos cortes en ambos ambientes fue un resultado interesante. Los resultados sugieren dos posibles hipótesis. Primero, la ausencia de efecto puede deberse a que los polinizadores en ambos ambientes no discriminan entre los distintos fenotipos florales. El servicio de polinización no estaría restringido a las flores con corolas intactas, sino que ocurriría sobre todas las flores independientemente del daño floral. Esta hipótesis implica que el pétalo de aterrizaje en esta especie sería un rasgo no adaptativo sin función de pista de aterrizaje para los polinizadores. Segundo, la ausencia de efecto podría resultar de una compensación de preferencias entre los polinizadores a los distintos fenotipos florales. Aunque esta hipótesis es más difícil de evaluar, el resultado neto de la polinización será equivalente en todas las flores experimentales. Más trabajo es necesario para dirimir entre las dos posibilidades descritas.

Finalmente, un resultado interesante es la diferencia que se muestra entre ambientes en la relación producción de semillas y número de flores por grupo (sin distinguir entre los distintos daños de la corola). Los resultados indican que en el ambiente reserva no existe

ningún tipo de relación entre ambas variables, lo cual contradice lo observado en diversas especies (e.g, Thompson 1981, Schmitt 1983, Watkins & Levin 1990). Por el contrario, en la matriz de pino, se observó una relación funcional entre la densidad de flores y la atracción de los polinizadores, incrementándose el número de visitas por flor y la producción de semillas. El efecto prácticamente nulo de la relación entre densidad de flores y producción de semillas en la reserva podría deberse a que en este ambiente hay una mayor riqueza y abundancia de especies con flor (63 especies en flor en Reserva vs. 17 especies en pino), lo que se puede traducir en una mayor disponibilidad de recursos para los polinizadores, los cuales no tienen necesidad de optar por los grupos de flores más densos. Este efecto ha sido previamente documentado por Wissman et al. (2006) quien nombra cuatro componentes de la reproducción de las plantas que están relacionados con la densidad de flores. Una de ellas es la tasa de visita de los polinizadores por flor, la cual puede incrementar con una mayor riqueza de flores, puede ser neutral o puede disminuir como una respuesta a la competencia entre flores de la misma especie o de diferentes especies.

Los resultados de esta tesis indican que *Viola portalesia*, especie endémica de Chile, es más exitosa en la matriz de pino que en el ambiente natural. No debe entenderse, sin embargo, que el comportamiento de esta especie sea extensible a todas las especies de la comunidad de plantas con flores. En el caso de los polinizadores, se observa por el contrario que existe una menor cantidad de especies polinizadoras de *Viola portalesia* en la matriz de pino. Esto significa que el ambiente degradado alberga una menor riqueza de especies, probablemente porque los polinizadores no son capaces de subsistir en ese medio empobrecido de recursos.

CONCLUSIONES

Una primera y fundamental conclusión de este trabajo es que *Viola portalesia* depende de polinizadores para su reproducción. Segundo, a pesar de las amplias diferencias en los ensambles de polinizadores y recursos florales entre el bosque fragmentado de Ruil y plantaciones de *Pinus radiata*, el daño floral sobre distintos pétalos de la corola no tiene ningún efecto sobre la producción de semillas en poblaciones de *V. portalesia*. Tercero, globalmente, el daño floral no influyó en la polinización por lo que diferencias en el éxito reproductivo de la especie entre los ambientes pueden ser atribuibles directamente a diferencias en la oferta de recursos florales, a diferencias en la composición de los ensambles de polinizadores y a diferencias en factores abióticos. La respuesta peculiar de *V. portalesia* a un ambiente degradado puede ser un efecto incidental indirecto de la modificación de los factores antes mencionados. Finalmente, existe un efecto de la densidad de flores sobre la producción de semillas (sin distinguir entre los distintos daños florales), únicamente en el ambiente perturbado, pero no en bosque nativo.

REFERENCIAS

- Aguilar R., & Galetto L. (2004) Effects of forest fragmentation on male and female reproductive success in *Centrum parqui*. *Oecología* 138: 513-520.
- Aguilar R., Ashworth L., Galetto L., & Aizen M.A. (2006) Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letter* 9: 968-980.
- Aizen M.A., Ashworth L. & Galetto L. (2002) Reproductive success in fragmented habitats: do compatibility systems and pollination specialization matter? *Journal of Vegetation Science* 18: 885-892.
- Armenteras D., Gast F. & Villarreal H. (2003) Andean forest fragmentation and the representativeness of protected natural areas in the eastern Andes, Colombia. *Biological Conservation* 113: 245-256.
- Ashworth L., Aguilar R., Galetto L. & Aizen M.A. (2004) Why do pollination generalist and specialist plant species show similar reproductive susceptibility to habitat fragmentation? *Journal of Ecology* 92: 717-719.
- Barret G., Ford H.A. & Recher H.F. (1994) Conservation of woodland birds in a fragmented rural landscape. *Pacific Conservation Biology* 1: 245-256.
- Botto-Mahan C. & Ojeda-Camacho M. (2000) The importance of floral damage for pollinator visitation in *Alstroemeria ligtu*. *Revista Chilena de Entomología* 26: 73-76.
- Bustamante R.O. & Grez A.A. (1995) Consecuencias ecológicas de la fragmentación de los bosques nativos. *Ambiente y Desarrollo* 11: 58 -63.
- Bustamante R.O., Serey I.A. & Picket S.T. (2003) Forest fragmentation, plant regeneration and invasion processes across edges in central Chile, en Bradshaw G.A. & Marquet P.A. (eds), *How Landscape Change*, Springer-Verlag, Berlin: 145-160.
- Canela M.B. & Sazima M. (2003) Florivory by the crab *Armases angustipes* (Graspidae) influences hummingbird visits to *Aechmea pectinata*. *Biotropica* 35: 289-294.
- Cunningham S.A. (1995) Ecological constraints on fruit initiation by *Cayptrogyne ghiesbreghtiana* (Arecaceae): floral herbivory, pollen availability and visitation by pollinating bats. *American Journal of Botany* 82: 1527-1536.
- Dale V.H. & Pearson S.M. (1997) Quantifying habitat fragmentation due to land-use change in Amazonia, en Laurance W.F & R.O Bierregaard (eds), *Tropical forest remnants: ecology, management and conservation of fragmented communities*, University of Chicago Press, Chicago: 400-410.

Dewenter I.S. & Tschamtker T. (2002) Insect communities and biotic interactions on fragmented calcareous grassland—a mini review. *Biological Conservation* 104: 275-284.

Dick C.W. (2001) Genetic rescue of remnant tropical trees by an alien pollinator. *Proceedings of the Royal Society of London* 268: 2391-2396.

Didham R., Ghazoul J., Stork N. & Davis A. (1996) Insects in fragmented forests: a functional approach. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 255-260.

Frazer J. & Marquis R. (1994) Environmental contribution to floral trait variation in *Chamaecrista fasciculata*. *American Journal of Botany* 81: 206-215.

Goverde M., Schweizer K., Baur B. & Erhardt A. (2002) Small-scale habitat fragmentation effects on pollinator behavior: experimental evidence from the bumblebee *Bombus veteranus* on calcareous grasslands. *Biological Conservation* 104: 293-299.

Hoffman A. (1982) Flora silvestre de Chile, Zona Araucana. 4ª Edición. Fundación Claudio Gay, Santiago. p 258.

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

Krupnick G.A., Weis A.E. & Campbell D.R. (1999) The consequences of floral herbivory for pollinator service to *Isomeris arborea*. *Ecology* 80: 125-134.

Lewis N.B. & Ferguson I.S. (1993) Management of radiata pine. Inkata Press Melbourne, Australia.

Lindenmayer D. & Fisher J. (2006) Changes in the behavior, biology, and interaction of species, en Lindenmayer D. & Fisher J. (eds), *Habitat Fragmentation and Landscape Change: an ecological and conservation synthesis*. Island Press, Washington DC: 63-72.

Lohman D.J. (1996) Impact of floral herbivory by parsnip web-worm (Oecophoridae: *Depressaria pastinacella* Duponchel) on pollination and fitness of wild parsnip (Apiaceae: *Pastinaca sativa*). *American Midland Naturalist* 136: 407-412.

Malo J.E., Leirana-Alcocer J. & Parra-Tabla V. (2001) Population fragmentation, florivory, and the effects of flower morphology alterations on the pollination success of *Myrmecophila tibicinis* (Orchidaceae). *Biotropica* 33: 529-534.

McCall A.C. & Irwin R.E. (2006) Florivory: the intersection of pollination and herbivory. *Ecology Letters* 9: 1351-1365.

Meyer B. (2007) Pollinators in an agricultural landscapes. Doctoral thesis. Faculty of Agraries Sciences, University of Gottingen, Gottingen, Germany.

Mothershead K. & Marquis R.J. (2000) Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology* 81: 30-40.

Murawski D.A. (1987) Floral resource variation, pollinator response and potencial pollen flow in *Psiguria warscewiczii*. *Ecology* 68: 1273-1282.

Murphy H.T. & Lovett-Doust J. (2004) Context and connectivity in plant metapopulation and landscapes mosaics: does the matrix matter? *Oikos* 105: 3-14.

Olivares P., San Martin J. & Santelices R. (2005) Ruil (*Nothofagus alessandrii*): Estado del Conocimiento y Desafios para su Conservación. Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), Talca, Chile. p 9

Pohl N., Carvallo G., Botto-Mahn C. & Medel R. (2006) Nonadditive effects of flower damage and hummingbird pollination on the fecundity of *Mimulus luteus*. *Oecología* 149: 648-655.

Prada M., Molina D., Villarroel D., Barrios R. & Díaz A. (1998) Efectividad de dos especies del género *Elaidobius* como polinizadores en palma aceitera. *Bioagro* 10: 3-10.

R Development Core Team (2007). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>.

Rathcke M. (1983) Competition and facilitation among plants for pollination, en Real L. (ed), *Pollination biology*, Academic Press, Orlando: 305-329.

Rejmanek S. (1996) A theory of seed plant invasiveness: the first sketch *Biological Conservation* 78: 171-181.

Richardson D.M., Williams P.A. & Hobbs L.J. (1994) Pine invasions in the southern hemisphere: determinants of spread and invadability. *Journal of Biogeography* 21: 511-527.

Rosas M, Espinosa M. & Acuna E. (2004) Variación interanual en producción de semillas de algunas especies arbóreas en cordillera Pelada, centro-sur de Chile. *Gayana Botánica* 61: 32-41.

Sanchez-Lafuente A., Rey P. & Alcantara J. (1999) Breeding system and the role of floral visitors in seed production of a 'few-flowered' perennial herb, *Paeonia broteroi* Boiss. & Reut (Paeoniaceae). *Ecoscience* 6: 163-172.

Simonetti J.A., Grez A.A. & Bustamante R.O. (2006) Interacciones y procesos en el bosque maulino fragmentado, en Grez A.A, Simonetti J.A. & Bustamante R.O. (eds), Biodiversidad en ambientes fragmentados de Chile: patrones y procesos a diferentes escalas, Editorial Universitaria, Santiago: 99-114.

Schmitt J. (1983). Flowering plant density and pollinator visitation in *Senecio*. *Oecologia* 60: 97-102.

Strauss S.Y., Conner J.K. & Rush S.L. (1996) Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *American Naturalist* 147: 1098-1107.

Thomas C.D., Bodsworth E.J., Wilson R.J., Simmons A.D., Davies Z.G., Musche M. & Conradt L. (2001). Ecological and evolutionary processes at expanding range margins. *Nature* 411: 577-581.

Thompson J.D. (1981). Spatial and temporal components of resource assessment by flower-feeding insects. *Journal of Animal Ecology* 50: 49-59.

Tscharntke T., Steffan-Dewenter I., Kruess A. & Thies C. (2002). Characteristics of insect populations on habitat fragments: A mini review. *Ecological Research* 17: 229-239.

Watkins L. & Levin D.A (1990). Outcrossing rates as related to plant density in *Phlox drummondii*. *Heredity* 65: 81-89.

Wissman J. (2006). Grazing regimes and plant reproduction in semi-natural grasslands. Doctoral thesis, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.