

UCH-FC
B. Ambiental
L. 729
C. 1



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE CIENCIAS - ESCUELA DE PREGRADO

VARIACIÓN ESPACIAL DE LA LIMITACIÓN DE POLEN EN *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*

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.

DIANA JAVIERA LILLO LILLO

Director de Seminario de Título: Dra. Alejandra González Vásquez

Co – Director de Seminario de Título: Dra. Maureen Murúa Ibarra

Agosto, 2014

Santiago – Chile



ESCUELA DE PREGRADO - FACULTAD DE CIENCIAS - UNIVERSIDAD DE CHILE



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la Srta. Diana Javiera Lillo Lillo.

“VARIACIÓN ESPACIAL DE LA LIMITACIÓN DE POLEN EN *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente.

Dra. Alejandra González

Director Seminario de Título

Firma manuscrita en azul sobre una línea horizontal.

Dra. Maureen Murúa

Co - Director Seminario de Título

Firma manuscrita en azul sobre una línea horizontal.

Comisión Revisora y Evaluadora

Dra. Mary Kalin Arroyo

Presidente Comisión

Firma manuscrita en azul sobre una línea horizontal.

Dra. Denise Rougier

Evaluador

Firma manuscrita en azul sobre una línea horizontal.

Santiago de Chile, agosto de 2014.



Para mi abuelo Mincho

AGRADECIMIENTOS

Comienzo por agradecer a Alejandra González por permitirme trabajar en su proyecto y a Maureen Murúa por su ayuda y consejos. A mis revisoras, Dra. Mary Kalin Arroyo y Dra. Denise Rougier por el tiempo dedicado y sus comentarios, que sin duda permitieron que este fuera un mejor seminario.

Este Seminario de Título fue financiado por el proyecto Fondecyt 11110120 de la Dra. Alejandra González.

A mi disfuncional y maravillosa familia por escuchar mis ideas, entender mis días grises y compartir momentos felices. Mención honrosa a mi mamá, compañera y amiga, porque si hubiera querido recoger cartones en la calle para vivir, o ser ingeniera o lo que sea, me hubiera dado todo su apoyo.

Compañeros de terreno, gracias por sus chistes, historias y “juegos psicológicos” que me ayudaron en esos momentos en que el calor, las caídas y el cansancio nos dejaban viendo marcianos.

A mis amigos, esos que se quedaron y los que pasaron. A los que veo muy seguido y a los que veo de repente. Todos los que me ayudaron a crecer, compartieron sus historias y me hicieron reír.

CONTENIDOS

ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS.....	6
Objetivo general	7
Objetivos específicos.....	7
METODOLOGÍA	8
1. Organismo de estudio	8
2. Periodo y sitios de estudio.....	8
3. Caracterización del ensamble de polinizadores.....	10
4. Sistema de reproducción, limitación de polen y falla de polinizadores	11
5. Relación entre el servicio de polinización y la limitación de polen.....	13
RESULTADOS.....	15
Ensamble de polinizadores	15
Sistema de reproducción y limitación de polen.....	19
Análisis correlacionales.....	25

DISCUSIÓN	27
CONCLUSIÓN.....	35
ANEXOS	48

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Flores en umbela de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* (Alstroemeriaceae).....5
- Figura 2. Semillas de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* sometidas a prueba mediante ensayo de tetrazolio. (A) semillas inviábiles y (B) semilla viable. 12
- Figura 3. Número promedio de semillas totales por fruto para los tratamientos de suplemento de polen manual (H), no manipuladas o control (N) y emasculadas (E), en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF). Barras negras corresponden a un error estándar.22
- Figura 4. Número promedio de semillas viables tipo I por fruto para los tratamientos de suplemento de polen manual (H), no manipuladas o control (N) y emasculadas (E), en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF). Barras negras corresponden a un error estándar.23
- Figura 5. Número promedio de semillas viables tipo II por fruto para los tratamientos de suplemento de polen manual (H), no manipuladas o control (N) y emasculadas (E), en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF). Barras negras corresponden a un error estándar.24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sitios de estudio de <i>Alstroemeria ligtu</i> var. <i>simsii</i>	9
Tabla 2. Descriptores comunitarios del ensamble de polinizadores a nivel de grupo funcional en cinco poblaciones de <i>Alstroemeria ligtu</i> var. <i>simsii</i>	17
Tabla 3. Cuento semillas totales, semillas viables tipo I y semillas viables tipo II de <i>Alstroemeria ligtu</i> var. <i>simsii</i> por población y tratamiento.....	20
Tabla 4. Índices de limitación de polen (LP) e índice de falla de polinizadores (FP) en cinco poblaciones de <i>Alstroemeria ligtu</i> var. <i>simsii</i> según semillas totales, semillas viables tipo I y semillas viables tipo II.....	25
Tabla 5. Coeficientes de correlación entre limitación de polen (LP) a nivel de semillas viables tipo II y falla de polinizadores (FP) a nivel de semillas totales y semillas viables tipo II con descriptores comunitarios del ensamble de polinizadores usando cinco poblaciones de <i>Alstroemeria ligtu</i> var. <i>simsii</i> como puntos independientes.....	26

RESUMEN

La limitación de polen, o reducción del potencial reproductivo de una planta debido a polen insuficiente o de mala calidad depositado en los estigmas, puede tener consecuencias ecológicas y evolutivas sobre las plantas, siendo algunas especies más vulnerables que otras. De acuerdo a los ensambles de polinizadores, el nivel de limitación de polen puede variar entre poblaciones de una misma especie. Basado en lo anterior, el objetivo de este estudio fue cuantificar la limitación de polen en seis poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*, especie genéticamente auto-incompatible y endémica de Chile central. Ya que esta especie depende exclusivamente de polinizadores para su reproducción, se examinó el potencial rol de los polinizadores sobre el nivel de limitación de polen. Se caracterizó la biología reproductiva de la especie a través de cuatro tratamientos manipulativos: i) suplemento de polen manual para saturación, ii) emasculación, iii) autopolinización automática y iv) flores no manipuladas como control. Luego de la fructificación, se cuantificó el número de semillas y se estimaron los índices de limitación de polen y falla de polinizadores a nivel de semillas totales y semillas viables. Paralelamente, se caracterizó el ensamble de polinizadores mediante la tasa de visita, diversidad, riqueza y dominancia de los visitantes a nivel de grupos funcionales. Los resultados indican que la limitación de polen parece responder a características locales de cada población estudiada, observándose sólo en la población de Termas del Flaco a nivel de semillas viables. No obstante, no fue posible evidenciar relación entre la variación de la limitación de polen y el ensamble de polinizadores. A la luz de estos resultados, se sugiere que la limitación de

polen no sólo podría ser explicada por un servicio deficiente de polinización, sino que también por otros factores intrínsecos a la localidad (e.g., densidad de plantas, condiciones ambientales, entre otros), los que pueden estar modulando la biología reproductiva de *A. ligtu simsii*.

ABSTRACT

Pollen limitation, or reduction of the reproductive potential of a plant due insufficient or poor quality pollen deposited on stigmas, may have ecological and evolutionary consequences for plants, with some species being more vulnerable than others. Given differences in pollinator assemblages, pollen limitation may vary spatially in populations of the same species. The objective of this study was to quantify pollen limitation in five populations of *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*, an endemic, genetically self-incompatible species found in central Chile. Given that, this species depends exclusively of pollinators for its reproduction, the potential role of pollinator species on pollen limitation was evaluated. The species reproductive biology was characterized using four manipulative treatments: i) pollen supplementation until saturation, ii) emasculation, iii) automatic self-pollination, and iv) unmanipulated flowers as control. Following fructification, seeds number was quantified and pollen limitation and pollinator fail indexes were estimated at the total seed and viable seed level. Pollinator assemblages were characterized by visit rate, diversity, richness and dominance of visitors at the functional group level. Pollination limitation was found only in one population (Termas del Flaco) at the viable seed level. Results indicate that pollen limitation responds to local characteristics of each study population. No evidence was found for a relationship between pollen limitation and the composition and abundance of pollination assemblages. In the light of these results, pollen limitation or its lack thereof probably reflects not only a deficient pollination service, but other factors intrinsic to each locality

(e.g., plant density, environmental conditions, among others), which together influence the reproductive biology of *A. ligtu simsii*.

INTRODUCCIÓN

Cambios en la estructura y función del hábitat pueden disminuir la capacidad reproductiva de las plantas mediante el aumento de endogamia y deriva génica, los que afectarían directamente la formación de frutos y/o semillas, y en consecuencia, la sobrevivencia de las plantas (Aguilar y col., 2009). Sin embargo, la limitación por polen ha sido señalada como la causa más frecuente de disminución del éxito reproductivo (Aguilar y col., 2006).

La limitación de polen (LP) es descrita como la reducción del potencial reproductivo de una planta debido al suplemento deficiente de polen en los estigmas (Ashman y col., 2004; Knight y col., 2005; Arroyo y col., 2006; Fulkerson y col., 2012). Las causas directas de la LP son polen escaso y/o suplemento de polen de baja calidad (Aizen & Harder, 2007). Al tratarse de fallas en el servicio de polinización, ya sea por depósito insuficiente de polen por parte de los polinizadores, pérdida de polen durante el transporte, baja actividad de polinizadores y/o cambios en la estructura comunitaria de éstos, se habla de falla de los polinizadores (FP) (Delmas y col., 2013) y suele estar asociada a altos niveles de LP (Ehrlen, 1992; Burd, 1994; Ehrlen & Eriksson, 1995; Larson & Barrett, 2000; Kalisz & Vogler, 2003). Otros factores que pueden causar LP se dan en etapas post-dispersión como la baja supervivencia de polen en el tubo polínico y muerte del cigoto (Harder & Aizen, 2010). En general, en la literatura se ha documentado que la LP es un fenómeno común en las angiospermas, siendo reportada entre un 60% a 73% en poblaciones de diferentes especies (Burd, 1994; Ashman y col., 2004; Knight y col., 2005).

Por otra parte, la LP puede tener diversas consecuencias sobre las plantas a nivel evolutivo. A escala macro-evolutiva, ha sido propuesta como un mecanismo por el cual plantas dioicas han evolucionado a la androcia, siendo plantas hermafroditas las menos vulnerables a LP (Liston y col., 1990; Maurice & Fleming, 1995; Wolf & Takebayashi, 2004). Adicionalmente, se ha propuesto que la LP afectaría el aseguramiento reproductivo, es decir, el mantenimiento de la producción de semillas (Eckert y col., 2006; Jones y col., 2013), favoreciendo la auto-compatibilidad y/o aumentando la autofecundación (Knight y col., 2005; Porcher & Lande, 2005). A escala micro-evolutiva se ha observado que plantas con poblaciones limitadas por polen aseguran la visita de sus polinizadores aumentando la selección de rasgos sexuales secundarios, tales como, señales visuales del despliegue floral o el tamaño de los organismos (Obeso & Retuerto, 2002). Esto principalmente debido a que cambios en el fenotipo floral afectarían la atracción de polinizadores y con ello la cantidad de polen depositado en los estigmas (Johnston, 1991a, 1991b; Wilson y col., 1994; Ashman & Diefenderfer, 2001). La LP también puede presentar consecuencias en un contexto ecológico a nivel comunitario. Por ejemplo, la abundancia relativa o absoluta de una especie cuyo tamaño poblacional está limitado por la producción de semillas, puede disminuir diferencialmente hasta incluso llegar a la extinción local o puede cambiar la estructura de la comunidad, aumentando en ésta la dominancia de especies menos propensas a la LP, como por ejemplo, especies autógamas (Ashman y col., 2004).

Estudios recientes han evidenciado que la LP puede variar espacialmente entre poblaciones de una misma especie (Knight y col., 2005; Arroyo y col., 2006; Gómez y

col., 2010). Diversos factores genéticos y ambientales han sido propuestos como causantes de esta variación. Baker y colaboradores (2000) reportaron variaciones significativas de LP en distintas poblaciones de *Narcissus assoanus* (Amaryllidaceae), que pudieron ser ocasionadas por la presencia de combinaciones alélicas deletéreas en plantas de algunas poblaciones, lo que resultó en el aborto de productos de fertilización durante su desarrollo. Por su parte, Jakobsson y colaboradores (2009) indicaron la importancia de la densidad de la vecindad floral en la posible variación de LP en dos especies herbáceas auto-incompatibles, *Armeria maritima* spp. *marítima* (Plumbaginaceae) y *Ranunculus acris* spp. *acris* (Ranunculaceae). No obstante, tanto la cantidad como la calidad de los polinizadores han sido propuestos como los factores proximales de variación en la LP a nivel poblacional (Wilcock & Neiland, 2002; Knight y col., 2005; Knight y col., 2006). Por ejemplo, Gómez y colaboradores (2010) mostraron que la intensidad de LP es inversamente proporcional a la abundancia, riqueza y diversidad de polinizadores en la especie generalista *Erysimum mediohispanicum* (Brassicaceae), sugiriendo que la diversidad de visitantes florales es el principal factor que determinaría la LP.

De esta forma, los polinizadores tienen diferentes efectos en la LP dependiendo de su rol funcional (Lay y col., 2011). De acuerdo a esto, los polinizadores pueden ser clasificados en grupos funcionales, los que están constituidos por especies funcionalmente más semejantes que otras, sin importar su linaje evolutivo y su distribución biogeográfica (Reich y col., 1997; Duckworth y col., 2000). Cada grupo funcional se puede distinguir por sus efectos sobre las propiedades de las comunidades

bióticas y en los ecosistemas, además de las respuestas que pueden presentar a cambios en el ambiente provocados ya sea por perturbaciones naturales o de origen antrópico (Smith y col., 1997; Duckworth y col., 2000; Hooper y col., 2002; Lavorel & Garnier, 2002).

De acuerdo a lo anterior, existirían especies de plantas más susceptibles de presentar LP como es el caso de las especies auto-incompatibles. Éstas, dependen exclusivamente de polinizadores para su reproducción y podrían experimentar una mayor LP que especies auto-compatibles y autógamas, al ser más vulnerables a cambios en la frecuencia e identidad de sus polinizadores (Larson & Barrett, 2000). Además, se ha documentado que plantas especialistas presentarían una mayor probabilidad de experimentar LP que plantas generalistas, debido a que las primeras se enfrentan a un ensamble de polinizadores menos diverso (Knight y col., 2005). Sin embargo, plantas generalistas también podrían experimentar LP dado que es posible que sus visitantes florales no transporten cantidades adecuadas o compatibles de polen (Wilcock & Neiland, 2002).

El presente estudio está centrado en *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* (Alstroemeriaceae), una herbácea perenne endémica de Chile central (Figura 1), que exhibe un amplio rango de distribución, enfrentándose a una gran variedad de condiciones ambientales. *A. ligtu simsii* es auto-incompatible y depende exclusivamente de polinizadores para su reproducción (Arroyo & Uslar, 1993; Botto-Mahan y col., 2011). Durante los últimos años se ha observado una sostenida reducción de sus poblaciones naturales, lo que estaría relacionado a que habita principalmente en zonas

cercanas a grandes asentamientos humanos (Muñoz & Moreira, 2003). Todo lo anterior, sugiere a *A. ligtu simsii* como un buen modelo de estudio para evaluar cambios en el ensamble de polinizadores, que podrían resultar en una variación espacial en la limitación de polen. A partir de esto, surgen dos preguntas: ¿existe LP en *A. ligtu simsii*? y ¿pueden las variaciones en los ensambles de polinizadores de *A. ligtu simsii* explicar posibles diferencias en limitación de polen entre distintas poblaciones?



Figura 1. Flores en umbela de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* (Alstroemeriaceae).

HIPÓTESIS

1. Dado que *A. ligtu simsii* habita en un amplio rango de distribución geográfica, se espera encontrar diferencias en la diversidad, riqueza y abundancia de polinizadores entre poblaciones.
2. Diferencias en la diversidad, riqueza y abundancia de polinizadores entre poblaciones de *A. ligtu simsii* podrían asociarse con variaciones en el sistema de reproducción y en el nivel de limitación de polen.

OBJETIVOS

Objetivo general

Examinar la variación geográfica en los ensambles de polinizadores en distintas poblaciones y evaluar el efecto de esta variación en el sistema de reproducción y limitación de polen de *A. ligtu simsii*.

Objetivos específicos

Para seis poblaciones de *A. ligtu simsii*:

1. Caracterizar el ensamble de polinizadores de cada población a nivel de grupos funcionales.
2. Cuantificar la limitación de polen en cada población.
3. Cuantificar la falla de polinizadores en cada población.
4. Determinar si existe una correlación entre la limitación de polen y la variación espacial del servicio de polinización de *A. ligtu simsii*.
5. Determinar si existe correlación entre limitación de polen y falla de polinizadores, y de esta última con los descriptores de ensamble de polinizadores.

METODOLOGÍA

1. Organismo de estudio

Alstroemeria ligtu var. *simsii* (Alstroemeriaceae) se distribuye desde el Cerro Caqui (Región de Valparaíso; 32° 45 LS) hasta Pichilemu (Región de O'Higgins; 34° 24 LS), y de costa (0 m.s.n.m) a la Cordillera de los Andes (1800 m.s.n.m) (Muñoz & Moreira, 2003), abarcando un amplio rango de condiciones climáticas. Su distribución coincide con grandes asentamientos humanos y hábitats degradados, por lo que algunas de sus poblaciones se consideran amenazadas (Muñoz & Moreira, 2003). Además, la especie sufre de extracción directa de las flores con propósitos comerciales y medicinales (Muñoz & Moreira, 2003).

Las flores son zigomorfas y hermafroditas de color rojo – anaranjado, arregladas en umbelas de 1 a 4 flores cada una (Muñoz & Moreira, 2003), sin embargo, se han registrado en promedio 10 flores por planta (pers. obs.). Su periodo de floración va desde noviembre a enero y el de fructificación de diciembre a febrero. Se trata de una especie generalista, polinizada por entre 4 a 8 especies distintas de insectos (Botto-Mahan y col., 2011). En términos reproductivos, es auto-incompatible (Arroyo & Uslar, 1993; Botto-Mahan y col., 2011) y por tanto, depende exclusivamente del servicio de polinización para su fructificación.

2. Periodo y sitios de estudio

El estudio se llevo a cabo entre noviembre y febrero de 2012-2013, en seis poblaciones: Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata

(ZA), Coya (CO), Termas del Flaco (TF) y Radal (RA), comprendiendo gran parte del rango de distribución latitudinal y altitudinal actual de la variedad (Tabla 1). Todas las poblaciones fueron georeferenciadas.

Tabla 1. Sitios de estudio de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*.

Población	Abreviación	Coordenadas geográficas	Altura (m.s.n.m)	Área población (m ²)	Actividades del entorno
Jardín Botánico	JB	33°02'42''S - 71°30'01''O	56	16,89	Turismo
Farellones	FA	33°22'51''S - 70°25'04''O	1175	28,04	Turismo, extracción de áridos
Cuesta Zapata	ZA	33°46'80''S - 71°49'72''O	529	18,76	Carretera cercana
Coya	CO	34°29'63''S - 70°58'72''O	442	2,5	Agricultura, minería, hidroeléctrica
Termas del Flaco	TF	34°60'87''S - 70°96'10''O	585	8,15	Turismo, agricultura, extracción de áridos
Radal	RA	35°36'66''S - 71°33'61''O	188	7,18	Turismo

De los sitios de estudio, Cuesta Zapata y Radal fueron las poblaciones con mayor densidad de plantas (pers. obs.) y menor intervención antrópica. Por su parte, Jardín Botánico se ubica en un recinto privado por lo que, a pesar de la actividad turística, no presenta grandes amenazas. Al contrario de estas poblaciones, el entorno de Farellones, Coya y Termas del Flaco presentaba mayor intervención al momento del estudio, observándose actividades como extracción de áridos, agricultura, turismo, entre otros (Tabla 1).

3. Caracterización del ensamble de polinizadores

En cada población se marcaron 200 plantas distribuidas en tres parches independientes. Estas plantas fueron monitoreadas por un periodo de 2 a 4 días por mes. Las visitas de polinizadores fueron cuantificadas mediante observaciones focales de 15 minutos por planta, entre las 10:00 y 18:00 horas. La identificación de los polinizadores fue realizada capturando los ejemplares e identificándoles en laboratorio, previa caracterización directa de morfotipos en terreno. Las visitas fueron consideradas sólo cuando los polinizadores contactaron las estructuras reproductivas de las flores. La caracterización del ensamble de polinizadores se realizó a nivel de grupo funcional y se determinó mediante:

i) Tasa de visita: se calculó el número de visitas por flor por hora ($\text{visitas} * \text{flor}^{-1} * \text{hora}^{-1}$). Los valores de tasa de visita promedio por grupo funcional para cada población fueron analizados mediante Modelo Lineal Generalizado (GLM) con distribución de Poisson y función log y un Test a Posteriori de Bonferroni en el programa STATISTICA versión 7.0 (Nelder & Wedderburn, 1972). De igual manera, se realizaron análisis comparativos entre poblaciones de la tasa de visita a nivel de especie.

ii) Diversidad de polinizadores: la riqueza, diversidad y dominancia fueron estimados a nivel de grupo funcional (Fenster y col., 2004). Así, la riqueza de polinizadores fue estimada como el número de especies S_{obs} (Mao-Tao), mientras que la diversidad se cuantificó por medio del índice H' de Shannon-Wiener (Pielou, 1966). Finalmente, la dominancia fue estimada como el número de taxa que domina en un grupo funcional, el que entrega valores entre 0 (taxa presentes equitativamente) y 1 (un taxón domina el

grupo funcional; Berger & Parker, 1970). Todos los índices fueron calculados con un intervalo de confianza del 95%, obtenido después de 1000 réplicas usando el software Past (Hammer y col., 2001).

4. Sistema de reproducción, limitación de polen y falla de polinizadores

Para evaluar la participación de los agentes polinizadores en la reproducción de *A. ligtu simsii*, se estudió su sistema de reproducción a nivel poblacional. Para ello se realizaron cuatro tratamientos en cada una de las seis poblaciones: i) H: suplemento de polen manual para saturación, flores receptivas, emasculadas y polinizadas con polen proveniente de aproximadamente 10 plantas ubicadas al menos a 10 metros de distancia (n = 30), ii) E: emasculación, botones cuyas anteras fueron removidas y dejadas expuestas a polinización natural (n = 30), iii) AS: autopolinización automática, botones cubiertos con tul aislados de la intervención de polinizadores (n = 10) y iv) N: control, flores no manipuladas expuestas a polinización natural (n = 30). La receptividad de las flores para el tratamiento H fue evaluada observando el pistilo trilobulado abierto (Aizen & Basilio, 1998). Cada tratamiento fue realizado en individuos diferentes, de manera de evitar resultados sesgados por reasignación de recursos y los cuatro se realizaron el mismo día para cada población. Las plantas de estudio fueron seleccionadas mediante muestreo estratificado al azar según la densidad del parche.

Al final de la estación reproductiva se cosechó los frutos formados y se contabilizó el número de semillas totales por fruto y el número de semillas viables por fruto. Las semillas viables fueron identificadas, mediante dos métodos. Primero se realizó la observación de éstas (semillas viables tipo I), considerando viables aquellas

sin rugosidades y no menores a un área de 2 mm². Luego, se testeó la viabilidad de todas las semillas mediante ensayo de tetrazolio (semillas viables tipo II), tratamiento que consiste en la tinción de los tejidos viables de la semilla (Moreno, 1984). Para esto, se siguió el protocolo desarrollado por Vankus (1997), el que comprende la hidratación de las semillas por 24 horas para activar las rutas metabólicas. Posteriormente, se les realizó un corte transversal y se añadió tetrazolio al 0,1% a pH neutro en tubos eppendorf. Estas semillas fueron incubadas en un baño termorregulador a 40° C por 2 horas. Finalmente, se evaluó su tinción bajo lupa (Figura 2). Se consideraron dos metodologías de identificación de semillas viables debido a que el ensayo de tetrazolio puede proporcionar resultados equívocos.

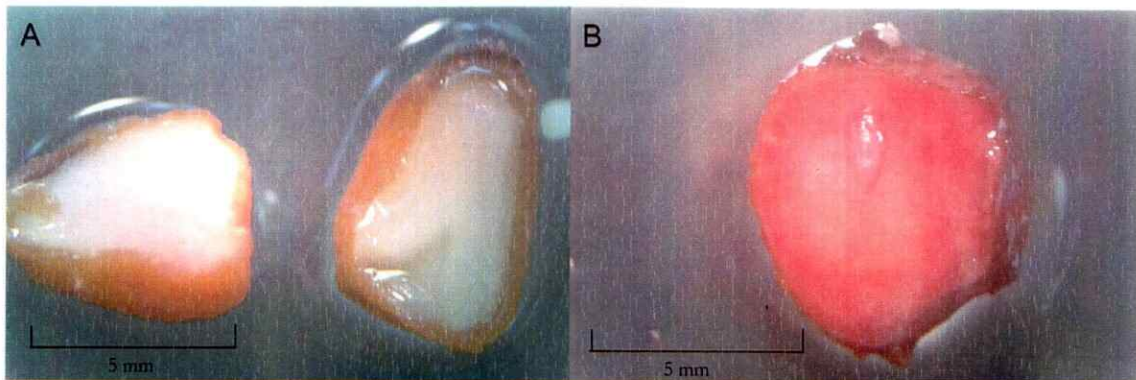


Figura 2. Semillas de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* sometidas a prueba mediante ensayo de tetrazolio. (A) semillas inviables y (B) semilla viable.

De los tratamientos que produjeron semillas (H, E y N), se realizaron análisis comparativos entre poblaciones a nivel de semillas totales, semillas viables tipo I y

semillas viables tipo II, usando un Modelo Lineal Generalizado (GLM) con distribución de Poisson y función log en el programa STATISTICA 7.0. Posteriormente, se realizó un Test a posteriori de Bonferroni, para determinar diferencias entre tratamientos y entre poblaciones.

Con los datos del set de semillas de los tratamientos H, E y N, se determinaron los índices de limitación de polen utilizando la fórmula $LP = 1 - N / H$ (Larson & Barret, 2000) y falla de polinizadores con la fórmula $FP = 1 - E / H$ (Lloyd & Schoen, 1992), a nivel de semillas totales, semillas viables tipo I y tipo II. Estos índices entregan valores entre 0 y 1, donde valores cercanos a cero indican poblaciones no limitadas por polen y baja falla de polinizadores, y valores cercanos a 1 indican poblaciones limitadas de polen y alta falla de polinizadores.

5. Relación entre el servicio de polinización y la limitación de polen

El efecto de la variación en el servicio de polinización sobre la limitación de polen se analizó mediante correlación de Spearman proporcionando el mejor ajuste ($P < 0,05$) entre los descriptores comunitarios del ensamble (tasa de visita, S_{obs} (Mao-Tao), índice de Shannon-Wiener (H') y dominancia) y el valor de limitación de polen en el programa R Project 2.12.2 (R Development Core Team, 2008). Además, los valores de limitación de polen de cada población fueron comparados con sus respectivos valores de índice de falla de polinizadores. Finalmente, se comparó el índice de falla de polinizadores y los descriptores comunitarios de ensamble ya mencionados a nivel poblacional. En el caso de valores negativos de índice de limitación de polen o de falla



de polinizadores, estos se consideraron como cero. Los valores de significancia se generaron usando un proceso de aleatorización de 1000 permutaciones en R Project.

RESULTADOS

Ensamble de polinizadores

Previo a la cosecha de frutos, gran parte de las plantas experimentales de la población Radal fueron extraídas con fines comerciales por habitantes de la zona. De esta manera, sólo cinco de las seis poblaciones fueron consideradas en los análisis (Jardín Botánico, Farellones, Cuesta Zapata, Coya y Termas del Flaco).

Un total de 24 especies de polinizadores fueron identificados visitando las flores de *A. ligtu simsii* en cinco poblaciones de estudio, correspondientes a tres grupos funcionales: Díptera, Himenóptera y Lepidóptera (Anexo 1). Las especies de polinizadores en común entre las cinco poblaciones fueron *Alloscirtetica gayi* y *Centris nigerrima*, ambas pertenecientes al orden Himenóptera. Por otra parte, la especie con la mayor tasa de visita fue *Lasia aenea* (Díptera) en la población Jardín Botánico.

A nivel de especie, Jardín Botánico presentó una tasa de visita significativamente mayor que el resto de las poblaciones ($F = 95,7$; $GL = 4$; $P < 0,0001$; Tabla 2). Por su parte, Cuesta Zapata y Coya presentaron la mayor riqueza de especies, mientras que en las cinco poblaciones se observaron bajos valores de dominancia. En cuanto a la diversidad de especies, Cuesta Zapata y Coya presentaron el menor y mayor índice de Shannon-Wiener, respectivamente (Tabla 2).

A nivel de grupo funcional, tres de las cinco poblaciones fueron visitadas por lepidópteros, sin embargo, la tasa de visita de este grupo funcional fue significativamente menor en Jardín Botánico y Coya (Tabla 2). A su vez, estas dos

poblaciones no presentaron diferencias significativas entre la tasa de visita de los grupos Díptera e Himenóptera, al igual que en la población Termas de Flaco (Tabla 2). Por el contrario, en Farellones, el grupo funcional Himenóptera presentó una tasa de visita significativamente mayor que el grupo Díptera, mientras que en Cuesta Zapata, fue el grupo Díptera el que presentó una tasa de visita significativamente mayor que el resto de los grupos (Tabla 2).

El grupo funcional con mayor riqueza y diversidad de especies en las cinco poblaciones fue Himenóptera, alcanzando un máximo valor de S_{obs} en Jardín Botánico y un máximo H' en Coya. Sin embargo, varios grupos funcionales en la mayoría de las poblaciones registraron valores bajos de diversidad debido a los altos valores de dominancia a nivel de grupo funcional y la baja representación de Lepidóptera (Tabla 2). Este último alcanzó un máximo de visitas en Cuesta Zapata donde el 5,9% del ensamble correspondía a este grupo (Anexo 2). Además, en las poblaciones en que estaba presente, registró altos valores de dominancia, con especies del género *Battus* y *Tatochila*, y especies de la familia Nymphalidae.

En general, los grupos funcionales Díptera e Himenóptera fueron representados equitativamente en cada población, excepto en Farellones, donde el 96% de los polinizadores pertenecieron al grupo funcional Himenóptera (Anexo 2). El grupo funcional Díptera presentó altos valores de dominancia, registrando en la mayoría de las poblaciones especies del género *Lasia*. Por su parte, el grupo funcional Himenóptera presentó bajos valores de dominancia.

Tabla 2. Descriptores comunitarios del ensamble de polinizadores a nivel de grupo funcional en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF). Tasa de visita ($\text{visitas} \cdot \text{flor}^{-1} \cdot \text{hora}^{-1}$), riqueza de especies observada (S_{obs}), índice de diversidad de especies Shannon-Wiener (H') y Dominancia de especies. Se indican los intervalos de confianza (IC) calculados por medio de bootstrapping de 1000 permutaciones para S_{obs} , Dominancia y H' . Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos funcionales para los distintos sitios.

Población	Grupo funcional	Tasa de visita	S obs	IC S obs	H'	ICH	Dominancia	IC Dominancia
JB	Díptera	6,44 _a	1	[1; 1]	-	-	1,00	[1,00; 1,00]
	Himenóptera	5,62 _a	7	[6; 7]	1,296	[1,176; 1,386]	0,36	[0,32; 0,41]
	Lepidóptera	0,10 _b	1	[1; 1]	-	-	1	[1,00; 1,00]
	Total	12,16	9	[8; 9]	1,332	[1,242; 1,409]	0,36	[0,33; 0,39]
FA	Díptera	0,16 _a	1	[1; 1]	-	-	1,00	[1,00; 1,00]
	Himenóptera	3,64 _b	5	[5; 5]	1,262	[1,132; 1,354]	0,35	[0,30; 0,40]
	Lepidóptera	0	0	[0; 0]	0	[0; 0]	-	-
	Total	3,80	6	[6; 6]	1,384	[1,247; 1,475]	0,32	[0,28; 0,37]
ZA	Díptera	2,18 _a	1	[1; 1]	-	-	1,00	[1,00; 1,00]
	Himenóptera	1,00 _b	6	[4; 6]	1,394	[1,103; 1,546]	0,30	[0,24; 0,42]
	Lepidóptera	0,20 _b	3	[1; 3]	0,639	[0; 0,950]	0,66	[0,44; 1,00]
	Total	3,38	10	[7; 10]	1,261	[1,044; 1,404]	0,44	[0,37; 0,54]

Continuación tabla 2.

Población	Grupo funcional	Tasa de visita	S obs	ICS obs	H'	ICH'	Dominancia	IC Dominancia
CO	Díptera	1,88 _a	3	[2 ; 3]	0,496	[0,339 ; 0,624]	0,71	[0,62 ; 0,81]
	Himenóptera	2,26 _a	6	[5 ; 6]	1,414	[1,233 ; 1,521]	0,30	[0,26 ; 0,37]
	Lepidóptera	0,04 _b	1	[1 ; 1]	-	-	1,00	[1,00 ; 1,00]
	Total	4,18	10	[8 ; 10]	1,724	[1,580 ; 1,816]	0,23	[0,21 ; 0,27]
TF	Díptera	0,96 _a	1	[1 ; 1]	-	-	1,00	[1,00 ; 1,00]
	Himenóptera	1,16 _a	6	[4 ; 6]	1,203	[0,922 ; 1,365]	0,38	[0,31 ; 0,49]
	Lepidóptera	0	0	[0 ; 0]	0	[0 ; 0]	-	-
	Total	2,12	7	[5 ; 7]	1,351	[1,155 ; 1,477]	0,32	[0,27 ; 0,38]

Sistema de reproducción y limitación de polen

De manera global, el tratamiento de suplemento de polen manual para saturación (H) y el tratamiento de emasculación (E) presentaron fructificación en cinco poblaciones, promediando un 69,3% y un 50,4% de fructificación del total de flores estudiadas, respectivamente. Por su parte, el tratamiento de autopolinización automática (AS) presentó fructificación sólo en la población de Jardín Botánico, promediando un 4% de fructificación del total de flores estudiadas. En cuanto al tratamiento control (N), el 100% de las flores estudiadas en las 5 poblaciones presentaron fructificación.

Si bien el tratamiento de autopolinización automática produjo un número menor de flores fructificadas en la población de Jardín Botánico, estos frutos presentaron sólo 15 semillas inviábiles, lo que indicaría que todas las poblaciones estudiadas de *A. ligtu simsii* no serían capaces de autofecundarse en ausencia de polinizadores.

En cuanto a la identificación de semillas viables, según las observaciones, un 62,8% del total de semillas fueron clasificadas como semillas viables tipo I. A partir del ensayo de tetrazolio, éste reveló que del total de semillas estudiadas, sólo el 42,0% resultaron ser semillas viables tipo II (Tabla 3).

Tabla 3. Conteo semillas totales, semillas viables tipo I y semillas viables tipo II de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* por población y tratamiento. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF). Suplemento de polen para saturación (H), emasculación (E), autopolinización automática (AS) y control (N).

Población	Tratamiento	Semillas totales	Semillas viables tipo I	Semillas viables tipo II
JB	H	185	79	42
	E	208	115	47
	AS	15	0	0
	N	387	230	177
FA	H	258	27	20
	E	62	16	5
	AS	0	0	0
	N	446	359	139
ZA	H	284	127	86
	E	499	489	448
	AS	0	0	0
	N	333	211	244
CO	H	44	0	0
	E	87	75	30
	AS	0	0	0
	N	360	246	119
TF	H	403	64	208
	E	270	136	169
	AS	0	0	0
	N	383	221	30

La comparación estadística entre tratamientos considerando todas las poblaciones indicó que existe un efecto significativo de población ($W = 193,44$; $GL = 4$; $P < 0,0001$), del tratamiento ($W = 934,25$; $GL = 2$; $P < 0,0001$) y de la interacción población x tratamiento ($W = 297,79$; $GL = 8$; $P < 0,0001$) sobre el set de semillas totales (Figura

3). El mismo efecto se registra sobre las semillas viables tipo I (Población: $W = 296,63$; $GL = 4$; $P < 0,0001$; Tratamiento: $W = 1741,91$; $GL = 2$; $P < 0,0001$; Población x tratamiento: $W = 348,42$; $GL = 8$; $P < 0,0001$; Figura 4) y sobre las semillas viables tipo II (Población: $W = 136,52$; $GL = 4$; $P < 0,0001$; Tratamiento: $W = 239,31$; $GL = 2$; $P < 0,0001$; Población x tratamiento: $W = 270,78$; $GL = 8$; $P < 0,0001$; Figura 5). En este análisis no se incluyó el tratamiento de autopolinización automática ya que no influiría en el sistema reproductivo de *A. ligtu simsii*.

El análisis *a posteriori* indicó que sólo Termas del Flaco (TF) presentó un set de semillas significativamente mayor en el tratamiento de suplemento de polen manual (H) que en el tratamiento control (N), a nivel de semillas viables tipo II (Figura 5). Al contrario, en la mayoría de las poblaciones en los tres niveles de viabilidad de semillas, el tratamiento H presentó un set de semillas significativamente menor que el tratamiento control (Figuras 3, 4 y 5). Por su parte, el tratamiento de emasculación presentó diferencias significativas en el set de semillas entre algunas poblaciones, siendo el set de semillas de Cuesta Zapata significativamente mayor que el resto de los tratamientos a nivel de semillas totales, semillas viables tipo I y semillas viables tipo II (Figuras 3, 4 y 5).

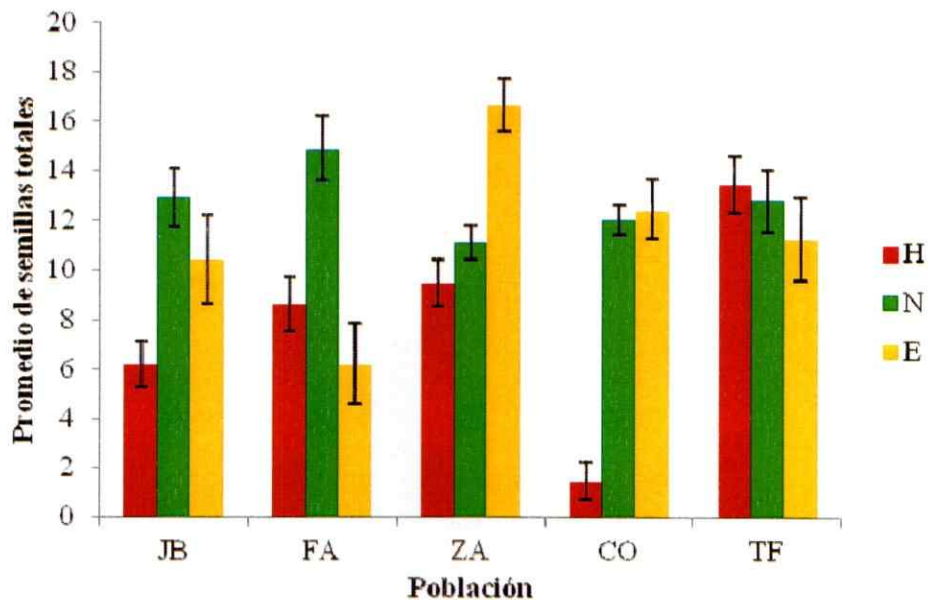


Figura 3. Número promedio de semillas totales por fruto para los tratamientos de suplemento de polen manual (H), no manipuladas o control (N) y emasculadas (E), en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF). Barras negras corresponden a un error estándar.

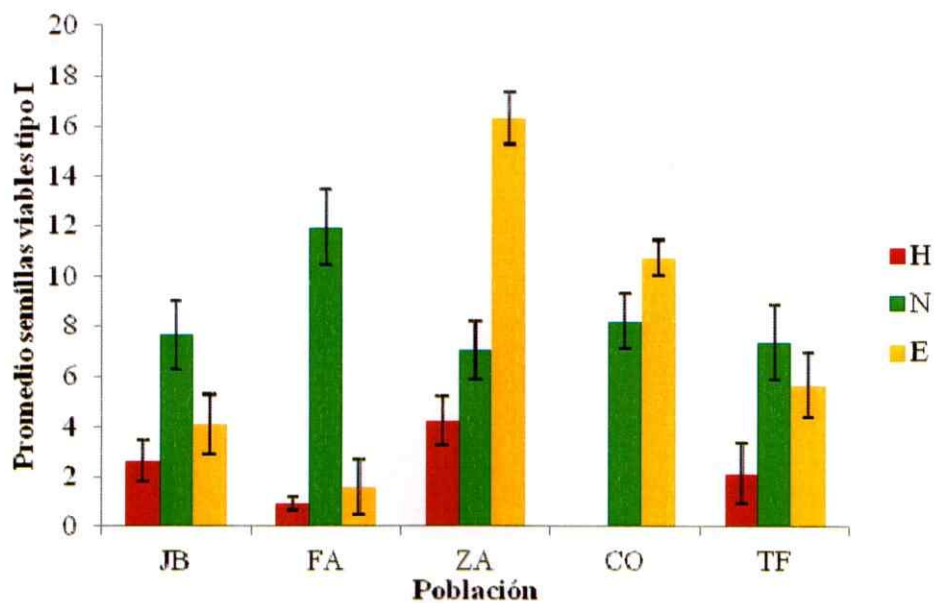


Figura 4. Número promedio de semillas viables tipo I por fruto para los tratamientos de suplemento de polen manual (H), no manipuladas o control (N) y emasculadas (E), en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF). Barras negras corresponden a un error estándar.



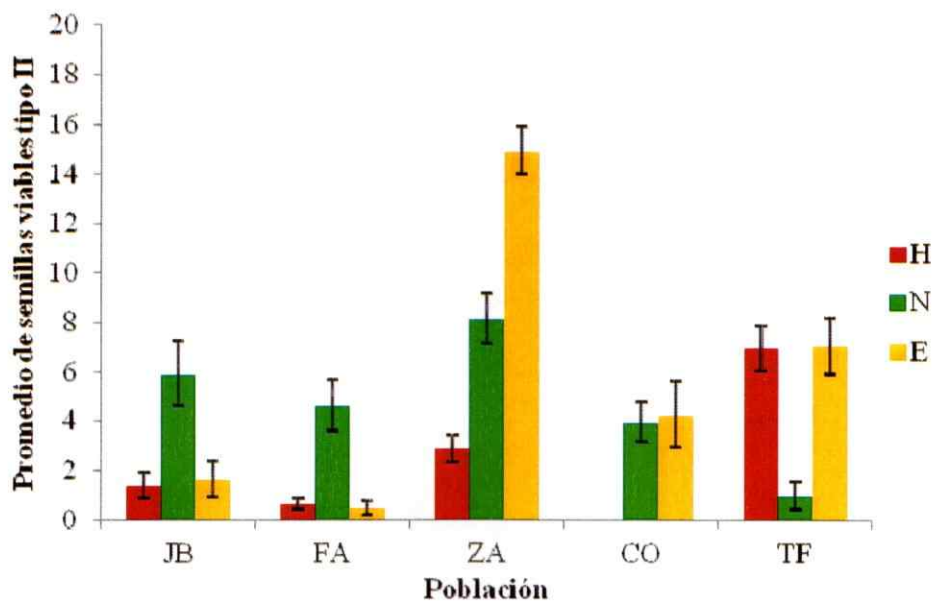


Figura 5. Número promedio de semillas viables tipo II por fruto para los tratamientos de suplemento de polen manual (H), no manipuladas o control (N) y emasculadas (E), en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF). Barras negras corresponden a un error estándar.

Con ello, muchos de los índices de limitación de polen resultaron negativos (Tabla 4). Debido a que en la práctica no existen índices negativos, estos son considerados como cero. De esta manera, sólo Termas del Flaco presentó limitación de polen a nivel de semillas viables tipo II.

Tabla 4. Índices de limitación de polen (LP) e índice de falla de polinizadores (FP) en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* según semillas totales, semillas viables tipo I y semillas viables tipo II. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF).

Población	Semillas totales		Semillas viables tipo I		Semillas viables tipo II	
	LP	FP	LP	FP	LP	FP
	1-(N/H)	1-(E/H)	1-(N/H)	1-(E/H)	1-(N/H)	1-(E/H)
JB	-1,09	-0,12	-1,91	-0,46	-3,21	0,28
FA	-0,73	0,76	-12,30	0,41	-5,95	0,75
ZA	-0,17	-0,76	-0,66	-2,85	-1,84	-3,02
CO	-7,18	-0,98	-	-	-	-
TF	0,05	0,33	-2,45	-1,13	0,86	0,33

Al igual que el índice de limitación de polen, varias poblaciones presentaron índices de falla de polinizadores negativos, los cuales se consideran como cero. La población Farellones fue la única con alto índice FP a nivel de semillas totales y semillas viables tipo II.

Análisis correlacionales

Los análisis de correlación se realizaron entre los descriptores comunitarios de ensamble y los valores de LP y FP en los niveles donde se registró limitación de polen (semillas viables tipo II) y falla de polinizadores (semillas totales y semillas viables tipo II). Para efectos de este análisis, los valores negativos de LP y FP se corrigieron a cero.

No se observaron correlaciones significativas entre ninguno de los descriptores comunitarios del ensamble de polinizadores y la limitación de polen ($P > 0,05$; Tabla 5).

Al contrario, la falla de polinizadores se correlacionó significativa y negativamente con la riqueza observada a nivel de semillas totales y semillas viables tipo II (Tabla 5). Finalmente, no se observó correlación significativa entre falla de polinizadores y limitación de polen a nivel de semillas viables tipo II ($R = 0,363$; $P = 0,549$).

Tabla 5. Coeficientes de correlación entre limitación de polen (LP) a nivel de semillas viables tipo II y falla de polinizadores (FP) a nivel de semillas totales y semillas viables tipo II con descriptores comunitarios del ensamble de polinizadores usando cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* como puntos independientes. Tasa de visita ($\text{visitas} \cdot \text{flor}^{-1} \cdot \text{hora}^{-1}$), Riqueza de especies observada (S_{obs}), Índice de Shannon-Wiener (H), Dominancia (D), Limitación de polen (LP) y Falla de polinizadores (FP). Coeficiente de correlación lineal representado por r y P su significancia a un $\alpha < 0,05$.

Descriptores ensamble de polinizadores	LP viables tipo II (1-N/H)		FP semillas totales (1-E/H)		FP viables tipo II (1-E/H)	
	R	P	R	P	R	P
Tasa de visita total	-0,707	0,182	-0,447	0,450	-0,205	0,741
Sobs total	-0,363	0,549	-0,918	0,028	-1,000	< 0,0001
H' total	0,000	1,000	0,335	0,581	0,205	0,741
D total	-0,181	0,770	-0,287	0,640	-0,158	0,800

DISCUSIÓN

El objetivo central de este estudio fue examinar la variación geográfica de los ensambles de polinizadores en seis poblaciones de *A. ligtu simsii* y evaluar el efecto de esta variación en el sistema de reproducción y la limitación por polen. De manera general, los resultados indican que aun cuando *A. ligtu simsii* no es autógama, existe una variada respuesta en la biología reproductiva de las poblaciones, evidenciándose limitación de polen sólo en una de las poblaciones en estudio a nivel de semillas viables tipo II (i.e., Termas del Flaco). De acuerdo con lo anterior, el análisis de los datos muestra ausencia de correlación entre el índice de limitación de polen versus los descriptores de ensamble de polinizadores estudiados (tasa de visita, riqueza, diversidad y dominancia), presentándose características particulares para cada población estudiada. En cuanto a falla de polinizadores, los datos muestran una correlación negativa entre ésta y la riqueza observada a nivel de semillas totales y semillas viables tipo II.

Sobre la caracterización de los ensambles de polinizadores, si bien no se registraron diferencias significativas de tasa de visita a nivel de especie entre la mayoría de las poblaciones, se puede observar una heterogeneidad de ensambles, presentando variaciones a nivel de grupos funcionales y distintas composiciones entre poblaciones. El efecto de estas variaciones sobre los niveles de limitación de polen y falla de polinizadores es discutido más adelante.

Por otro lado, ambos métodos de identificación de semillas, por observación y ensayo de tetrazolio, indican diferencias en el conteo, los que se expresan en diferencias

en los índices de limitación de polen y falla de polinizadores. Si bien existe una dificultad en la realización de experimentos germinativos (Knight y col., 2005, 2006), una estimación exacta de estos índices requiere la exploración de varios componentes reproductivos a través del ciclo de vida de la planta, es decir, en etapas pre y post dispersión (Calvo, 1993; Ehrlén & Eriksson, 1995; Knight y col., 2005). A pesar de que la identificación de semillas viables depende en gran medida del punto de vista del investigador, cabe destacar la estimación de viabilidad mediante el ensayo de tetrazolio, que ha demostrado ser consistente respecto al potencial germinativo de las semillas (Jara y col., 2006). Así, el análisis de las semillas viables tipo II puede dar una mejor perspectiva de los efectos de la limitación de polen y falla de polinizadores.

Respecto a la biología reproductiva de *A. ligtu simsii*, ésta presentó un patrón población dependiente. Esto se refleja por un lado, en el análisis estadístico de la comparación de semillas entre tratamientos y poblaciones, el que indica un efecto significativo de la interacción población x tratamiento, sugiriendo que existen múltiples variables que podrían estar afectando la formación de semillas, tales como las condiciones del hábitat, la ubicación geográfica, entre otras.

De esta manera, las poblaciones de Jardín Botánico, Farellones, Cuesta Zapata y Coya presentaron un menor promedio de semillas por fruto en el tratamiento de suplemento de polen manual para saturación (H) que en el tratamiento control (N), es más, Coya no presentó producción de semillas en el tratamiento H a nivel de semillas viables tipo I y II. Esto no es un resultado común, registrándose sólo en el 17% de los experimentos de suplemento de polen manual, de acuerdo a la revisión realizada por

Young & Young (1992). En general, existen diversos factores que podrían dar cuenta de este fenómeno, siendo el suplemento de plantas fuera del máximo de receptividad de los estigmas (Young & Young, 1992) y el uso de polen inviable (Hall & Brown, 1977) las causas más probables de la disminución de semillas viables en el tratamiento de suplemento de polen manual para saturación en este estudio. La producción de polen inviable pudo deberse a una limitación de recursos provocada por la sequía que afecta a la zona central del país, la cual en el año de estudio llegó a un déficit de precipitaciones de un 30% (DGA, 2012). La reducción en la viabilidad de polen es un síntoma común en angiospermas bajo condiciones de estrés ambiental (Porch & Jahn, 2001) como, por ejemplo, déficit de agua durante el desarrollo floral, que se ha asociado a la disminución de la viabilidad y germinación de polen en distintas herbáceas (Shen & Webster, 1986; Fang y col., 2010). De esta manera, el periodo de sequía sumado a los altos niveles de modificación de hábitat causada por plantaciones agrícolas, minería y desarrollo hidroeléctrico presentes en Coya, podrían estar favoreciendo el traslado tanto natural (por los polinizadores) y/o manual (tratamientos) de polen inviable, incompatible o insuficiente (Young & Young, 1992).

Frente a índices de limitación de polen negativos, se consideró ausencia de limitación de polen poblacional, como se registra en Jardín botánico, Cuesta Zapata y Farellones, poblaciones que presentaron una producción de semillas de manera natural hasta siete veces mayor que los tratamientos de suplemento de polen manual. Estas poblaciones, especialmente Jardín Botánico y Cuesta Zapata, se caracterizaron por tener una menor actividad en su entorno, gran densidad de plantas, alta tasa de visita y

diversidad de polinizadores a nivel de grupo funcional, lo que podría explicar la ausencia de limitación de polen. El género *Alstroemeria* presenta una amplia variedad de modalidades reproductivas, desde especies autógamas a especies con varios niveles de exogamia (Rougier, 2005), sin embargo, el estudio sobre la biología reproductiva de *Alstroemeria aurea*, de similar sistema reproductivo al de *A. ligtu simsii*, encontró que los tratamientos de suplemento de polen manual no producen mayor número de semillas que los controles (Aizen, 2001), sugiriendo que esta especie tampoco estaría limitada de polen aun cuando no hay una estimación directa. En este sentido, otros estudios han documentado baja limitación de polen en poblaciones de plantas auto-incompatibles (Jakobsson y col., 2009; Davila y col., 2012; Pattermore & Anderson, 2013). De hecho, en un análisis comparativo entre especies auto-incompatibles, Larson y Barrett (2000) sugieren que aquellas que eran herbáceas, nectaríferas y de distribución temperada exhibían menor limitación de polen debido a una mayor tasa de visita por flor de polinizadores en especies herbáceas, gran influencia de las recompensas de especies nectaríferas y menor dependencia de polinizadores especialistas en hábitats templados. Además, especies generalistas, como *A. ligtu simsii*, serían menos susceptibles de presentar limitación de polen (Larson & Barrett, 2000), como se demuestra en el estudio comparativo de Martén-Rodríguez y Fenster (2010) entre especies de la tribu Gesneriaceae, en el que especies generalistas no experimentaron limitación de polen a diferencia de especies congénéricas con sistemas de polinización especialistas.

A diferencia del resto de las poblaciones, en Termas del Flaco el tratamiento de suplemento de polen manual para saturación evidenció un alto índice de limitación de

polen a nivel de semillas viables tipo II. Si bien en este caso es posible que la baja densidad poblacional de plantas pueda afectar la formación de semillas, una explicación adicional a la alta limitación por polen observada sería la baja tasa de visita registrada en esta localidad. Así, la escasa frecuencia de polinizadores de esta población sería insuficiente para asegurar la producción de semillas. Sin embargo, ya que la asociación entre altos niveles de limitación de polen y ambientes de polinización variables se da a lo largo de los años (Burd, 1995), se requieren estudios a largo plazo para examinar si este valor es recurrente o si se correlaciona a condiciones ambientales que disminuyen la abundancia de polinizadores en una escala temporal acotada (Eisikowitch & Galil, 1971; Heinrich, 1975; Primack, 1978; Arroyo y col, 1985). Por otra parte, a nivel de semillas totales y semillas viables tipo I no se observó limitación de polen lo que podría indicar una subestimación de semillas viables tipo II. Sin embargo, considerando que el cálculo de limitación de polen a nivel de semillas viables tipo II es una buena estimación de lo que ocurre en etapas post-dispersión, los valores de limitación de polen a nivel de semillas totales, probablemente sean subestimados (Gómez y col., 2010).

De las poblaciones estudiadas sólo Farellones registró un índice de falla de polinizadores relativamente alto, tanto a nivel de semillas totales, como de semillas viables tipo II, lo que coincide con una gran representación del grupo Himenóptera en el ensamble de esta población (ver Anexo 2). Ya que Farellones no presentó limitación de polen, la falla en el servicio de polinización, ya sea por depósito insuficiente de polen, baja actividad de polinizadores, pérdida de polen, etc., aún no repercute en el éxito reproductivo de las plantas a nivel poblacional. Debido a que *A. ligtu simsii* no

desarrolló autofecundación por autogamia y sus flores no son capaces de ser fertilizadas con polen de otra flor del mismo individuo (geitonogamia, datos no publicados), el alto índice de falla de polinizadores indica que esta población podría ser vulnerable a una disminución en la producción de semillas por medio de limitación de polen.

Como fue mencionado anteriormente, se observó una heterogeneidad de ensambles entre poblaciones, presentando variaciones principalmente a nivel de grupos funcionales. Por ejemplo, Termas del Flaco y Farellones, poblaciones con limitación de polen y falla de polinizadores respectivamente, no presentaron especies del grupo Lepidóptera en su ensamble. Si bien este grupo tiende a pasar mucho tiempo en cada flor sin tocar las estructuras reproductivas (Waites & Agren, 2004), es necesario evaluar sus patrones de forrajeo para determinar su rol en la producción de semillas. Cabe destacar la identificación de un número mayor de especies de polinizadores que visitan *A. ligtu simsii*, respecto a otros estudios, ampliando el marco de investigación de esta herbácea.

Finalmente, las variaciones presentadas en los descriptores comunitarios de polinizadores no se correlacionaron con diferencias en el índice de limitación de polen entre las poblaciones. Una explicación posible a la ausencia de correlación podría estar relacionada al bajo número de poblaciones estudiadas, además de la ausencia de limitación de polen en la mayoría de las poblaciones (Jakobsson y col., 2009). Además, dado que *A. ligtu simsii* es una especie generalista, cambios en la diversidad del ensamble no afectarían su éxito reproductivo, mientras los polinizadores visiten la planta y depositen efectivamente el polen. La falta de correlación entre descriptores de ensamble y limitación de polen, también se registró en el estudio de la especie arbustiva

auto-incompatible *Dryas octopetala* (Lundemo & Totland, 2007), en el sugieren que la variación de limitación de polen en diferentes poblaciones pudo deberse a cambios en la efectividad de los polinizadores. En este sentido, muchas variables podrían determinar la efectividad y relacionarse con limitación de polen como el tiempo de visita, frecuencia de polinizaciones, distancia de vuelo promedio, capacidad de acarrear polen durante una visita ("pollen carryover"), entre otros (Snow y col., 1996; Gómez y col., 2010).

No obstante y basado en lo anterior, aun cuando no se evidenciaron correlaciones significativas, se podría sugerir que de manera global en *A. ligtu simsii*, las poblaciones con mayor densidad de plantas y tasa de visita de polinizadores no presentarían limitación de polen. De manera similar, Fernández y colaboradores (2012) concluyeron que ni la diversidad ni la abundancia de polinizadores estaban correlacionadas a la limitación de polen de *Erysimum popovii*, si no que más bien podría estar relacionado a la tasa de visita. Es más, un estudio reciente revela que hay poca evidencia de que la diversidad de polinizadores determine la limitación de polen (Dávila y col., 2012). Un ejemplo de esto, se da en Cuesta Zapata, donde se presenta una baja diversidad y bajos índices de limitación de polen y falla de polinizadores. Esta población se caracteriza por la alta dominancia de *Lasia aenea* en el grupo funcional Díptera, por lo que posiblemente, a pesar de desplazar las visitas de otros polinizadores, deposita polen suficiente para asegurar la producción de semillas. El análisis de cargas de polen permite relacionar el comportamiento de los polinizadores con el éxito reproductivo de las plantas (Harder & Barrett, 1996; Morales & Traveset, 2008; Alarcón, 2010), por lo que su estudio podría revelar el rol de los polinizadores a un nivel más específico.

La correlación negativa entre la falla de polinizadores y la riqueza observada, indica la relevancia del carácter generalista de *A. ligtu simsii*. Casi todas las plantas con sistemas de reproducción mediados por polinizadores tienden hacia grados de generalización moderados a altos (Waser y col., 1996), evitando así la limitación y falla por polinizadores. Como señalan los datos, una disminución en la riqueza de polinizadores conlleva un aumento en el índice de falla de polinizadores. En el caso de la población Farellones, existe una alta dominancia del grupo funcional Himenóptera, además de una nula representación del grupo Lepidóptera y los niveles más bajos de riqueza observada, tanto a nivel de grupos funcionales, como del total de especies. En este caso, es posible que las pocas especies presentes en esta población no acarreen suficiente polen (a diferencia de las especies de polinizadores de Cuesta Zapata), lo que eventualmente podría afectar el éxito reproductivo poblacional. De esta manera, vuelve a surgir el importante papel de los estudios de comportamiento de polinizadores y carga de polen en términos conservacionistas (Ellstrand, 1992; Lopezaraiza-Mikel y col., 2007).

Aun cuando en la mayoría de las poblaciones estudiadas no se observa limitación de polen, poblaciones fragmentadas y pequeñas no solo presentarían limitación de polen si no que una baja producción de semillas viables. Este hecho adquiere relevancia si se considera que las poblaciones de *A. ligtu simsii* están amenazadas por su extracción con fines comerciales (como se dio en la población Radal) y distribuidas en los lugares de mayor asentamiento humano, donde la reducción del hábitat y uso de suelos con fines agrícolas han fragmentado de manera importante y sistemática sus poblaciones naturales.

CONCLUSIÓN

Los descriptores comunitarios de ensamble indican una heterogeneidad entre poblaciones, presentando diferencias a nivel de grupos funcionales. Himenópteros y Dípteros serían los principales polinizadores de *A. ligtu simsii*, mientras que el grupo Lepidóptera tuvo una baja representación en las poblaciones estudiadas.

La mayoría de las poblaciones de *A. ligtu simsii* estudiadas no presentaron limitación de polen, a pesar de depender completamente de los polinizadores para su reproducción. Los resultados evidencian una variación en los ensambles de polinizadores que visitan las poblaciones de *A. ligtu simsii*, pero no sostienen la hipótesis de una relación entre limitación de polen y diversidad, abundancia y riqueza de polinizadores.

Sólo la población Termas del Flaco presentó limitación de polen, lo que podría deberse a la baja densidad de plantas y baja tasa de visita de polinizadores, lo que coincide con una alta perturbación antrópica en la localidad. Por otra parte, en Coya no se observó producción de semillas viables en el tratamiento de suplemento de polen manual para saturación, lo que podría deberse a una limitación de recursos ocasionada por el periodo de sequía que acompañó al desarrollo floral, traduciéndose en una reducción de la viabilidad del polen.

El resto de las poblaciones, presentó una mayor producción de semillas en el tratamiento control no manipulado que el tratamiento de suplemento de polen manual para saturación. Debido a que estas poblaciones se caracterizaron por la gran densidad

de plantas, alta tasa de visita y diversidad de polinizadores, este resultado indicaría que no existe limitación de polen.

El mayor índice de falla de polinizadores se presentó en Farellones, población en que el grupo Himenóptera constituye un gran porcentaje del ensamble de polinizadores. Debido a que *A. ligtu simsii* depende exclusivamente de los polinizadores para su reproducción, es posible que esta falla afecte el éxito reproductivo de la población.

De acuerdo a los análisis correlacionales, no existiría una relación entre la limitación de polen y la variación espacial del servicio de polinización. Probablemente, en sistemas de polinización generalista, como es el caso de *A. ligtu simsii*, numerosos factores bióticos, tales como, reemplazo en la identidad del ensamble de polinizadores y factores abióticos, como las condiciones ambientales, pueden actuar independiente o sinérgicamente regulando la biología reproductiva de las poblaciones y en consecuencia la limitación de polen.

Por su parte, la falla de polinizadores se correlacionó negativamente con la riqueza observada del ensamble. De esta manera, el carácter generalista de *A. ligtu simsii* se refuerza ante estos datos, indicando que a mayor riqueza de especies, menor falla de polinizadores. El estudio del comportamiento de polinizadores y carga de polen ayudarían a comprender mejor el rol de cada grupo funcional sobre el éxito reproductivo de *A. ligtu simsii*.

REFERENCIAS

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

Aguilar, R.L., Ashworth, L.A., Agnolo, L.C., Ausoro, M.J., Quesada, M. y Galetto, L. 2009. Dinámica de interacciones mutualistas y antagonistas en ambientes fragmentados. *En: R. Medel, M. Aizen y R. Zamora (eds.), Ecología y Evolución de interacciones planta-animal.* pp 199 – 230. Editorial Universitaria, Santiago.

Aizen, M.A. 2001. Flower sex ratio, pollinator abundance, and the seasonal pollination dynamics of a protandrous plant. *Ecology* 82: 127 – 144.

Aizen, M.A. y Basilio, A. 1998. Sex differential nectar secretion in protandrous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae): is production altered by pollen removal and receipt? *American Journal of Botany* 85: 245 – 252.

Aizen, M.A. y Harder, L.D. 2007. Expanding the limits of the pollen limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology* 88: 271 – 281.

Alarcón, R. 2010. Congruence between visitation and pollen-transport networks in a California plant–pollinator community. *Oikos* 119: 35 – 44.

Arroyo, M.T.K., Muñoz, M., Henríquez, C., Till-Bottraud, I., Perez, F. 2006. Erratic pollination, high selfing levels and their correlates and consequences in an altitudinally widespread above tree line species in the high Andes of Chile. *Acta Oecologica* 30: 248 – 257.

Arroyo, M.T.K., Armesto, J. y Primack, R. 1985. Community studies in pollination ecology in the high Andes of central Chile. II. Effect of temperature on visitation rates and pollination possibilities. *Plant Systematics and Evolution* 149: 187 – 203.

Arroyo, M.T.K. y Uslar, P. 1993. Breeding systems in a temperate Mediterranean type climate montane sclerophyllous forest in central Chile. *Botanical Journal of the Linnean Society* 111: 83 – 102.

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

Ashman, T.L. y Diefenderfer, C. 2001. Sex ratio represents a unique context for selection on attractive traits: consequences for the evolution of sexual dimorphism. *American Naturalist* 157: 334 – 347.

Baker, A.M., Barrett, S.C.H. y Thompson, J.D. 2000. Variation of pollen limitation in the early flowering Mediterranean geophyte *Narcissus assoanus* (Amaryllidaceae). *Oecologia* 124: 529 – 535.

Berger, W. y Parker, F. 1970. Diversity of planktonic foraminifera in deep sea sediments. *Science* 168: 1345 – 1347.

Botto-Mahan, C., Ramírez, P., Ossa, C., Medel, R., Ojeda-Camacho, M. y González, A. 2011. Floral herbivory affects female reproductive success and pollinator visitation in the perennial herb *Alstroemeria ligtu* (Alstroemeriaceae). *International Journal of Plant Science* 172: 1130 – 1136.

Burd, M. 1994. Batemans Principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review* 60: 84 – 112.

Burd, M. 1995. Ovule packaging in stochastic pollination and fertilization environments. *Evolution* 49: 100 – 109.

Calvo, R.N. 1993. Evolutionary demography of orchids: intensity and frequency of pollination and the cost of fruiting. *Ecology* 74: 1033 – 1042.

Dávila, Y.C., Elle, E., Vamois, J.C., Hermanutz, L., Kerr, J.T., Lortie, C.J., Westwood, A.R., Woodcock, T.S. y Worley, A.C. 2012. Ecosystem services of pollinator diversity: a review of the relationship with pollen limitation of plant reproduction. *Botany* 90: 535 – 543.

División de Hidrología de Dirección General de Aguas (DGA). 2012. Pronóstico de disponibilidad de agua temporada de riego 2012-2013.

Delmas, C.E.L., Escaravage, N. y Pornon, A. 2013. Massive floral display affects insect visits but not pollinator-mediated pollen transfer in *Rhododendron ferrugineum*. *Plant Biology* doi: 10.1111/plb.12039.

Duckworth, J.C., Kent, M. y Ramsay, P.M. 2000. Plant functional types: an alternative to taxonomic plant community description in biogeography? *Progress in Physical Geography* 24: 515 – 542.

Eckert, C.G., Samis, K.E. y Dart, S. 2006. Reproductive assurance and the evolution of uniparental reproduction in flowering plants. *En: S.C.H. Barrett y L.D. Harder (eds.), The ecology and evolution of flowers.* pp 183 – 203. University Press, Oxford.

Ehrlén, J. 1992. Proximate limits to seed production in an herbaceous perennial legume, *Lathyrus vernus*. *Ecology* 73: 1820 – 1831.

Ehrlén, J. y Eriksson, O. 1995. Pollen limitation and population growth in an herbaceous perennial legume. *Ecology* 76: 652 – 656.

Eisikowitch, D. y Galil, J. 1971. Effect of wind on the pollination of *Panacratium maritimum* (Amaryllidaceae) by hawkmoths (Lepidoptera: Sphingidae). *Journal of Animal Ecology* 40: 673 – 678.

Ellstrand, N.C. 1992. Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. *Oikos* 63: 77 – 86.

Fang, X., Turner, N., Yan, G., Li, F. y Siddique, K. 2010. Flowers numbers, pod production, pollen viability, and pistil function are reduce and flower and pod abortion increased in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under terminal drought. *Journal of Experimental Botany* 61: 335 – 345.

Fenster, C., Armbruster, W.S., Wilson, P., Dudash, M. y Thompson, J. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 375 – 403.

Fernández, J., Bosch, J., Nieto-Ariza, B. y Gómez, J. 2012. Pollen limitation in a narrow endemic plant: geographical variation and driving factors. *Oecologia* 170: 421 – 431.

Fulkerson, J.R., Whittall, J.B. y Carlson, M.L. 2012. Reproductive ecology and severe pollen limitation in the polychromic tundra plant, *Parrya nudicaulis* (Brassicaceae). *Plos One* 7 (3): e32790.

Gómez, J., Abdelaziz, M., Lorite, J., Muñoz-Pajares, A. y Perfectti, F. 2010. Changes in pollinator fauna cause spatial variation in pollen limitation. *Journal of Ecology* 98: 1243 – 1252.

Hall, J.P. y Brown, I.R. 1977. Embryo development and yield of seed in *Larix*. *Silvae Genetica* 26: 77 – 84.

Hammer, Ø., Harper, D.A.T., y Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4 (1): 9.



Harder, L.D. y Aizen, M.A. 2010. Floral adaptation and diversification under pollen limitation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 365: 529 – 543.

Harder, L.D. y Barret, C.H. 1992. The energy cost of bee pollination for *Pontederia cordata* (Pontederiaceae). *Functional Ecology* 6: 226 – 233.

Heinrich, B. 1975. Thermoregulation in bumblebees. II. Energetics of warm-up and free flight. *Journal of Comparative Physiology* 96: 155 – 166.

Hooper, D.U., Solan, M., Symstad, A., Díaz, S., Gessner, M.O., Buchmann, N., Degrange, V., Grime, F., Hulot, F., Mermillod-Blondin, F., Roy, J., Spehn, E. y vanPeer, L. 2002. Species diversity, functional diversity, and ecosystem functioning. *En: M. Loreau, S. Naeem y P. Inchausti (eds.), Biodiversity and ecosystem functioning: synthesis and perspectives.* pp 195 – 208. Oxford University Press, Nueva York.

Jakobsson, A., Lázaro, A. y Totland, O. 2009. Relationships between the floral neighborhood and individual pollen limitation in two self-incompatible herbs. *Oecologia* 160: 707 – 719.

Jara, P., Arancio, G., Moreno, R. y Carmona, M. 2006. Factores abióticos que influyen la germinación de seis especies herbáceas de la zona árida de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 309 – 319.

Johnston, M.O. 1991a. Natural selection of floral traits in 2 species of *Lobelia* with different pollinators. *Evolution* 45: 1468 – 79.

- Johnston, M.O. 1991b. Pollen limitation of female reproduction in *Lobelia cardinalis* and *L. siphilitica*. *Ecology* 72: 1500 – 1503.
- Jones, N., Husband, B. y MacDougall, A. 2013. Reproductive system of a mixed-mating plant responds to climate perturbation by increased selfing. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280: 1776.
- Kalisz, S. y Vogler, D. 2003. Benefits of autonomous selfing under unpredictable pollinator environments. *Ecology* 84: 2928 – 2942.
- Knight, T.M., Steets, J.A. y Ashman, T.L. 2006. A quantitative synthesis of pollen supplementation experiments highlights the contribution of resource reallocation to estimates of pollen limitation. *American Journal of Botany* 93: 271 – 277.
- Knight, T., Steets, J., Vamosi, J., Mazer, S., Burd, M., Campbell, D., Dudash, M., Johnston, M., Mitchell, R., Ashman, T. 2005. Pollen limitation of plant reproduction: pattern and process. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36: 467 – 497.
- Larson, B.M.H. y Barrett, S.C.H. 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 69: 503 – 520.
- Lavorel, S. y Garnier, E. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* 16: 545 – 556.

- Lay, C.R., Linhart, Y.B. y Diggle, P.K. 2011. The good, the bad and the flexible: plant interactions with pollinators and herbivores over space and time are moderated by plant compensatory responses. *Annals of Botany* 108: 749 – 763.
- Liston, A., Rieseberg, L.H. y Elias, T.S. 1990. Functional androdioecy in the flowering plant *Datisca glomerata*. *Nature* 343: 641 – 642.
- Lloyd, D.G. y Schoen, D.J. 1992. Self-fertilization and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *International Journal of Plant Science* 153: 358 – 369.
- Lopezaraiza-Mikel, M.E., Hayes, R.B., Whalley, M.R. y Memmott, J. 2007. The impact of an alien plant on a native plant–pollinator network: an experimental approach. *Ecology Letters* 10: 539 – 550.
- Lundemo, S. y Totland, O. 2007. Within-population spatial variation in pollinator visitation rates, pollen limitation on seed set, and flower longevity in an alpine species. *Acta Oecologica* 32: 262 – 268.
- Maurice, S. y Fleming, T.H. 1995. The effect of pollen limitation on plant reproductive systems and the maintenance of sexual polymorphisms. *Oikos* 74: 55 – 60.
- Martén-Rodríguez, S. y Fenster, C.B. 2010. Pollen limitation and reproductive assurance in Antillean Gesnerieae: a specialist vs. generalist comparison. *Ecology* 91: 155 – 165.
- Morales, C.L. y Traveset, A. 2008. Interspecific pollen transfer: magnitude, prevalence and consequences for plant fitness. *Critical Reviews in Plant Sciences* 27: 221 – 238.

- Moreno, E. M. 1984. Análisis físicos y biológicos de semillas agrícolas. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- Muñoz, M. y Moreira, M.A. 2003. Alstroemerias de Chile: diversidad, distribución y conservación. Taller La Era, Santiago.
- Nelder, J.A. y Wedderburn, W.M. 1972. Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society* 135: 370 – 384.
- Obeso, J.R. y Retuerto, R. 2002. Dimorfismo sexual en el acebo, *Ilex aquifolium*: ¿coste de la reproducción, selección sexual o diferenciación fisiológica? *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 67 – 77.
- Pattemore, D.E. y Anderson, S.H. 2013. Severe pollen limitation in populations of the New Zealand shrub *Alseuosmia macrophylla* (Alseuosmiaceae) can be attributed to the loss of pollinating bird species. *Austral Ecology* 38: 95 – 102.
- Pielou, E.C. 1966. Shannon's formula as a measure of specific diversity: its use and misuse. *The American Naturalist* 100: 463 – 465.
- Porch, T.G. y Jahn, M. 2001. Effects of high temperature stress on microsporogenesis in heat sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell and Environment* 24: 723 – 731.
- Porcher, E. y Lande, R. 2005. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression under pollen discounting and pollen limitation. *Journal of Evolutionary Biology* 18: 497 – 508.

Primack, R.B. 1978. Variability in New Zealand montane and alpine pollinator assemblages. *New Zealand Journal of Ecology* 1: 66 – 73.

R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna (online). URL: <http://www.lsw.uni-heidelberg.de/users/christlieb/teaching/UKStaSS10/R-refman.pdf> (accessed November 23, 2013).

Reich, P.B., Walters, M.B. y Ellsworth, D.S. 1997. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academic of Sciences* 94: 13730 – 13734.

Rougier, D.L. 2005. Evolución de caracteres florales relacionados con el sistema de reproducción en el género *Alstroemeria* L. (Alstroemeriaceae) en Chile. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Shen, X.Y. y Webster, B.D. 1986. Effects of water stress on pollen of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 111: 807 – 810.

Smith, T.M., Shuggart, H.H. y Woodward, F.I. 1997. Plant functional types: their relevance to ecosystem properties and global change. *International Geosphere-Biosphere Programme Book Series*, Cambridge University Press, Cambridge.

Snow, A.A., Spira, T.P., Simpson, R. y Klips, R.A. 1996. The ecology of geitonogamous pollination. *En: D.G. Lloyd y S.C.H. Barrett (eds), Floral biology.* pp 191-216. Chapman and Hall, New York.

Vankus, V. 1997. The Tetrazolium Estimated Viability Test for Seeds of Native Plants. *En: T. D. Landis, J. R. Thompson (eds.), National Proceedings, Forest and Conservation Nursery Associations.* pp 57-62. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station, Portland.

Waites, A. y Agren, J. 2004. Pollinator visitation, stigmatic pollen loads and among-population variation in seed set in *Lythrum salicaria*. *Journal of Ecology* 92: 512 – 526.

Waser, N., Chittka, L., Price, M., Williams, N. y Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77: 1043 – 1060.

Wilcock, C. y Neiland, R. 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science* 7: 270 – 277.

Wilson, P., Thomson, J.D. y Stanton, M.L. 1994. Beyond floral Batemanian: gender biases in selection for pollination success. *American Naturalist* 143: 283 – 296.

Wolf, D.E. y Takebayashi, N. 2004. Pollen limitation and the evolution of androdioecy from dioecy. *American Naturalist* 163: 122 – 137.

Young, H. y Young, T. 1992. Alternative outcomes of natural and experimental high pollen loads. *Ecology* 73: 639 – 647.

ANEXOS

Anexo 1. Número de visitas de polinizadores por especie en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii*. Jardín Botánico de Viña del Mar (JB), Farellones (FA), Cuesta Zapata (ZA), Coya (CO) y Termas del Flaco (TF).

Grupo funcional	Taxa	Población				
		JB	FA	ZA	CO	TF
Díptera	<i>Bombyliidae (sp. 1)</i>	0	0	0	1	0
	<i>Lasia aenea</i>	322	0	109	0	0
	<i>Lasia corvina</i>	0	0	0	78	48
	<i>Tabanidae (sp. 1)</i>	0	8	0	15	0
Hymenóptera	<i>Lasioglossum sp.</i>	0	0	0	4	0
	<i>Ruizantheda mutabilis</i>	71	92	0	23	0
	<i>Ruizantheda proxima</i>	150	12	8	0	0
	<i>Andrenidae (sp. 1)</i>	0	0	11	0	0
	<i>Alloscirtetica gayi</i>	21	46	1	23	7
	<i>Andrenidae (sp. 2)</i>	0	0	0	0	2
	<i>Megachile cinérea</i>	0	0	0	0	1
	<i>Bombus terrestris</i>	3	0	0	0	0
	<i>Centris nigérrima</i>	21	6	23	52	31
	<i>Cerceris gayi</i>	0	0	1	0	0
	<i>Manuelia gayi</i>	2	26	6	7	0
	<i>Mesonychium gayi</i>	0	0	0	0	17
	<i>Megachile cinérea</i>	0	0	0	4	0
	<i>Svastrides melanura</i>	13	0	0	0	0
	<i>Trichothurgus sp.</i>	0	0	0	0	1
Lepidóptera	<i>Phoebis sp.</i>	0	0	8	0	0
	<i>Tatochila sp.</i>	0	0	0	2	0
	<i>Nymphalidae (sp. 2)</i>	0	0	1	0	0
	<i>Battus archidamas</i>	5	0	0	0	0
	<i>Nymphalidae (sp. 1)</i>	0	0	1	0	0

Anexo 2. Proporción de grupos funcionales de polinizadores en cinco poblaciones de *Alstroemeria ligtu* var. *simsii* a lo largo de Chile. Grupos funcionales: Díptera, Himenóptera, Lepidóptera. Valores de proporción de polinizadores por grupo funcional son expresados en porcentaje.

