

mbiental



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE CIENCIAS - ESCUELA DE PREGRADO



Efecto de la autocorrelación espacial sobre la selección multivariada en una interacción planta-polinizador

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.

Pedro Felipe Ferrer Rosende

Director del Seminario de Título: Dr. Rodrigo Medel

Co-Director del Seminario de Título: Dr. Carezza Botto

Abril de 2016
Santiago - 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 el **Sr. Pedro Felipe Ferrer Rosende**

“Efecto de la autocorrelación espacial sobre selección multivariada en una interacción planta-polinizador”

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

Director Seminario de Título:

Dr. Rodrigo Medel

Co-Director Seminario de Título:

Dra. Carezza Botto

Comisión revisora y evaluadora

Presidente Comisión

Dr. Ramiro Bustamante

Evaluador

Dr. Francisco Fontúrbel



Santiago, 18 de Abril de 2016.

BIOGRAFÍA



Pedro Ferrer Rosende nació el 16 de Octubre de 1990 en Santiago. Realizó sus estudios de educación básica y media en el Colegio San Esteban Diácono. Siempre motivado por el área de las ciencias ingresó a estudiar ingeniería, donde permaneció solo un año tras darse cuenta de su vocación, esto es, las respuestas que encontraría,

con la Biología, a sus preguntas. A medida que cursaba la carrera de Biología Ambiental en la Universidad de Chile se interesó inmediatamente con la evolución, es por esto que ingresó al Laboratorio de Ecología Evolutiva a cargo del profesor Rodrigo Medel. Con el tiempo además de la evolución su interés se centró en los métodos cuantitativos utilizados tanto en esta como en ecología por lo que comenzó a adentrarse en al área de la Bioestadística, área que busca complementar con los conocimientos adquiridos directamente de la naturaleza. Pedro encontró un campo que combina a la perfección estas dos disciplinas en la ecología espacial y las aplicaciones de esta sobre los estudios de la selección natural, es de ahí donde nacen los cimientos para la realización de esta tesis, signo de la culminación de un proceso, pero que en realidad no es más que el inicio de una etapa mucho mayor.

*" Para investigar la verdad es preciso dudar,
en cuanto sea posible,
de todas las cosas, una vez en la vida."*

René Descartes

AGRADECIMIENTOS

Agradezco el incondicional apoyo de mis tutores, Rodrigo Medel y Carezza Botto, quiénes desde el 2013 han sido un aporte fundamental en mi formación no solo como biólogo y profesional sino que como persona. Por darme la oportunidad de trabajar en el laboratorio de Ecología Evolutiva, y con esto poder relacionarme con un grupo de trabajo tan íntegro y honesto. A mis revisores, Ramiro Bustamante y Francisco Fontúrbel por darse el tiempo de revisar esta tesis y sus importantes aportes.

Agradezco a todos mis compañeros de laboratorio, que siempre colaboraron en mis trabajos con diversos y valiosos comentarios, en especial a mis compañeros de terreno Roxana C, Mildred E, Gabriel E, Catalina G, Javiera M, Vicente M, Daniela S por el apoyo y las historias en los dos veranos de terreno que aportaron a la realización de esta tesis.

Infinitas gracias a mis padres, por el apoyo y cariño incondicional. A mis queridos amigos de la Universidad y de la vida, que no sólo ayudaron a formarme y madurar como profesional, sino que fueron una alegría y enriquecimiento humano constante. Todo este proceso hubiese sido mucho menos enriquecedor de no tener la suerte de encontrar a la Dani, quién fue mi soporte a lo largo de toda mi vida universitaria.

Agradecer también a SOCEVOL por darme la oportunidad de presentar el tema de este estudio en su reunión anual del 2015 donde recibí críticas constructivas de personas de diversas áreas, así como el reconocimiento por ser la mejor presentación de poster de pregrado.

Por último agradecer a CONICYT que en el marco del proyecto FONDECYT 1150112 hizo posible la realización de este estudio.

RESUMEN

La estructura espacial es una variable que influye en una amplia variedad de fenómenos en ecología y evolución. En ecología evolutiva, se ha señalado que la covarianza fenotipo-*fitness* puede ser sobrestimada si no se controla por efectos de dependencia espacial. Sin embargo, raras veces la estructura espacial de los organismos ha sido explícitamente considerada en estudios de selección natural. Este estudio se focaliza en la relación de la herbácea *Mimulus luteus* (Phrymaceae) con sus polinizadores en una población de Chile central, en un intento por indagar de qué manera la estructura espacial de las plantas afecta las estimaciones de la selección mediada por polinizadores. Se examinó la asociación de nueve rasgos fenotípicos (volumen de néctar, concentración de glucosa, altura de la planta, número de flores en un radio de 30 cm, largo del tubo floral, distancia antera-estigma, granos de polen por antera, área de corola y señal de néctar), con estimaciones de *fitness* femenino y masculino, considerando la estructura espacial mediante correlogramas de Moran o Geary. Para ello se construyó un vector con valores autocovariados generados con las coordenadas de cada planta, lo que permitió comparar la selección multivariada de los rasgos sobre las funciones sexuales en presencia y ausencia de la variable espacial. Los resultados revelaron autocorrelación espacial en las primeras categorías de distancia. A pesar de no detectar una gran variación en los coeficientes de selección al controlar por la estructura espacial, la distancia antera-estigma, una variable relacionada con la evitación de la autofecundación, disminuyó a través de la función femenina hasta alcanzar un gradiente significativo, en contraste con el gradiente positivo de esta variable sobre la función masculina. Estos resultados implican la existencia de un posible compromiso entre funciones sexuales respecto a la

autofecundación que es revelado solamente en ausencia de efectos espaciales. Independiente de la magnitud, estimaciones de selección que no consideren la autocorrelación espacial como una variable que contribuye a la covariación fenotipo-fitness corren el riesgo de sobre o subestimar las fuerzas selectivas actuando sobre el fenotipo floral en las poblaciones de plantas. El método propuesto en este estudio sería una herramienta muy útil para disminuir la posibilidad que esto ocurra.

ABSTRACT

The spatial structure influences an ample variety of phenomena in ecology and evolution. One of the important processes susceptible of being affected by spatial autocorrelation is phenotypic selection, as phenotype-fitness covariance under field conditions can provide biased selection estimates. Surprisingly, few studies have examined the spatial structure in studies of natural selection, which is unfortunate as published estimates may contain an undetermined amount of error not accounted by conventional models. This study is an attempt to inquire into the way spatial structure influence pollinator-mediated selection estimates. To this end, I focused on the relationship between the herb *Mimulus luteus* (Phrymaceae) and its pollinator assemblage in a population of central Chile. The association among nine floral traits (nectar volume, glucose concentration, plant height, number of flowers within 30 cm, length of floral tube, anther-stigma distance, pollen grains per anther, corolla area and nectar signal) and male and female fitness components were estimated in the presence and absence of spatial structure. A vector of spatial dependence was calculated from x and y coordinates using Moran and Geary correlograms. Results revealed an important spatial autocorrelation at the first distance categories. In spite of this, no significant change in selection estimates were observed, excepting for anther-stigma distance, a variable directly related with selfing avoidance. In particular, the selection upon herkogamy through the female component was significant when the spatial structure was considered, disappearing its effect when the spatial structure was removed from analyses. Interestingly, the selection gradient upon herkogamy was negative in sign through female fitness and positive through male fitness, suggesting a potential tradeoff in selfing avoidance between sex functions, that is revealed only when spatial structure

is considered. Regardless of magnitude, studies that omit spatial autocorrelation in phenotypic selection analyses run the risk of providing biased estimates of selection in natural populations. The methodology proposed in this study may help to reduce the uncertainty associated to measurements of selection in heterogeneous and spatially structured environments.

INDICE

Índice.....	ii
Lista de Figuras.....	iii
Lista de Tablas.....	iii
Resumen.....	iv
Abstract.....	vi
Introducción.....	1
Objetivos.....	4
Materiales y métodos.....	5
Historia natural y área de estudio.....	5
Trabajo de campo y procedimientos de laboratorio.....	6
Análisis de autocorrelación espacial.....	6
Análisis de selección fenotípica.....	8
Resultados.....	12
Mapeo de individuos y rasgos medidos.....	12
Autocorrelación espacial.....	13
Correlaciones entre los rasgos.....	19
Análisis de selección fenotípica.....	22
Discusión.....	26
Conclusiones.....	33
Bibliografía.....	34

LISTA FIGURAS

Figura 1. Ubicación de individuos.....	12
Figura 2. Correlogramas de Moran para tres rasgos de <i>Mimulus luteus</i>	14
Figura 3. Correlogramas de Geary para ocho rasgos de <i>Mimulus luteus</i>	15
Figura 4. Correlograma de Mantel para 11 rasgos de <i>Mimulus luteus</i>	18
Figura 5. Correlograma de spline para los residuales.....	23

LISTA TABLAS

Tabla 1. Media y desviación estándar de cada rasgo medido para 90 individuos.....	12
Tabla 2. Rangos de las clases de distancia con índices r de Mantel, I de Morán y c de Geary para rasgos de <i>Mimulus luteus</i>	20
Tabla 3. Coeficientes de correlación de Pearson entre 11 rasgos de <i>Mimulus luteus</i>	21
Tabla 4. Coeficientes de correlación de Pearson entre 11 rasgos de <i>Mimulus luteus</i> después de corrección Dutilleul.....	21
Tabla 5. Análisis de selección fenotípica de las funciones sexuales masculinas y femeninas para seis rasgos de <i>Mimulus luteus</i>	24
Tabla 6. Análisis de selección fenotípica de las funciones sexuales masculinas y femeninas para seis rasgos de <i>Mimulus luteus</i> incluyendo variable espacial.....	25

INTRODUCCIÓN

Las interacciones ecológicas constituyen un aspecto central de la biodiversidad (Valiente-Banuet y col., 2015), y la estructura espacial de los individuos que componen las poblaciones es una variable que puede afectar la manera en que estas interacciones se establecen, mantienen y evolucionan. La distribución espacial de los individuos puede afectar interacciones ecológicas tanto mutualistas como antagonistas. Por ejemplo, se ha descrito que una mayor densidad conespecífica de plantas se relacionaría positivamente con el éxito en la polinización (Ghazoul, 2005) así como con la remoción de frutos y dispersión de semillas (Carlo & Morales, 2008). Por otro lado, se ha estudiado que la densidad interespecífica alteraría las respuestas de ciertas plantas a micorrizas arbusculares disminuyendo su tasa de crecimiento relativo a mayores densidades (Schroeder & Janos, 2004), mientras que parches más densos serían más susceptibles a la herbivoría (Sletvold & Grindeland, 2008). El espaciamiento de las plantas también influye en la mortalidad de semillas y plántulas donde a mayor densidad habría una menor supervivencia tanto de semillas como de plántulas (Ghazoul, 2005; Elliot y col., 2009). A mayores escalas, la autocorrelación espacial se ha incluido en modelos para analizar el patrón biogeográfico de los diferentes tipos de polinización (anemofilia, entomofilia o autogamia) junto a otras variables como la altitud, velocidad del viento, geología o uso de suelo, obteniendo resultados muy cercanos a la realidad (Kuhn y col., 2006).

Al influir sobre la abundancia o comportamiento de agentes bióticos responsables de la polinización, la densidad local de plantas puede determinar su éxito reproductivo, y jugar un papel importante en procesos microevolutivos tales como la selección de

rasgos fenotípicos (Kunin, 1997). Por consiguiente, en principio, la estructura espacial puede afectar el potencial evolutivo de las especies involucradas en la interacción.

En el último tiempo, el estudio del componente espacial en la ecología se ha diversificado, desarrollándose diversos métodos dirigidos no sólo a describir la importancia del espacio, sino a indagar su influencia en estimaciones de parámetros ecológicos y evolutivos (Maestre & Escudero 2008).

En cualquier análisis estadístico, tanto paramétrico como no paramétrico, uno de los principales requisitos muestrales es la independencia de los datos, la que es usualmente supuesta por el investigador pero raras veces demostrada. Al respecto, se ha indicado que una variable presenta autocorrelación espacial cuando sus valores en un sistema de coordenadas x e y difieren menos de lo que cabría esperar según una distribución aleatoria (Fortín & Dale 2005). En caso de existir autocorrelación, la independencia podría ser cuestionada, lo que plantearía numerosos problemas al momento de realizar e interpretar análisis estadísticos (Legendre, 1993). Una forma de solucionar este eventual inconveniente es cuantificar y agregar el factor espacial como una variable adicional dentro del análisis y así obtener un resultado más robusto (Dormann y col., 2007). Estos análisis permiten tomar en cuenta los resultados de efectos espaciales, evitando estimaciones sesgadas de los resultados. En particular, los modelos que ignoran la autocorrelación espacial son especialmente susceptibles a error tipo I, esto debido a un sobreoptimismo en la precisión de los valores de parámetros estimados (Cressie, 1993; Sadoti y col., 2010).

En ausencia de estimaciones de autocorrelación espacial de las variables se corre el riesgo de extraer conclusiones erróneas que pueden afectar decisiones críticas en áreas como la ecología, la conservación y la planificación ambiental, entre otras

(Escudero y col., 2003; Maestre & Escudero 2008). Más aún, se ha establecido que el estudio de la autocorrelación espacial siempre debería formar parte de una investigación en ecología, tanto así, que existen afirmaciones que los análisis que no la toman en cuenta serían deficientes e infundados (Diniz-Fhilo y col., 2003).

A pesar lo mencionado anteriormente y de la gran cantidad de estudios sobre la influencia del espacio sobre la sobrevivencia y reproducción de los organismos, la relación entre la distribución espacial y la selección natural ha recibido muy poca atención, aún cuando, se ha especulado que tanto la fragmentación como la transformación del hábitat podría influir en la selección de diferentes rasgos fenotípicos (Weber & Kolb 2011; Fontúrbel y col., 2015).

En este estudio se focalizará en la relación entre la herbácea *Mimulus luteus* (Phrymaceae) y sus polinizadores en una población de Chile central, con el fin de indagar de qué manera la estructura espacial de las plantas puede afectar las estimaciones de la selección mediada por polinizadores.

Hipótesis

Existe autocorrelación positiva en los distintos rasgos de *Mimulus luteus* en los intervalos de distancia más cercanos. Es decir, los rasgos serían más similares entre sí a cortas distancias que lo que cabría esperar por azar, debido a condiciones microambientales. Esto se vería reflejado en la sobreestimación de los resultados en un análisis de selección multivariada, ya que, al existir autocorrelación, se podrían considerar como pseudoréplicas.

Objetivo general

Investigar la importancia del componente espacial a pequeña escala en sistemas planta-polinizador y su efecto en estimaciones de selección.

Objetivos específicos

1. Estudiar si existe autocorrelación espacial en rasgos florales de *Mimulus luteus*.
2. Analizar si la estructura espacial de *Mimulus luteus* afecta las estimaciones de selección fenotípica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Historia natural y área de estudio

Mimulus luteus es una hierba perene e hidrófila que crece entre 0 y 3650 msnm y entre 29° y 45° latitud Sur (von Bohlen, 1995). Presenta flores hermafroditas solitarias con corolas tubulares de color amarillo y una mancha roja visible en el lóbulo inferior, que actúa como guía de néctar (Medel y col., 2003). Las flores son zigomorfas, con dimensiones de 34 mm de altura (a lo largo del plano de simetría) y 26 mm de ancho. Las flores permanecen abiertas entre 3,6 a 5,9 días, dependiendo de si es polinizada o no (Medel y col., 2003) y tienen el estigma por sobre las anteras, fenómeno denominado "hercogamia de aproximación" (Barret, 2002). A pesar de tratarse de una especie autocompatible, se ha descrito que mediante autopolinización, la cantidad de frutos y semillas es menor que mediante polinización cruzada (Carvallo & Medel 2010).

El presente estudio se realizó en una población altoandina ubicada en Juncal (32°52'S, 70°09'W,, 2216 msnm), zona que se cubre totalmente de nieve al menos tres meses al año, donde *Mimulus luteus* (Phrymaceae) es la especie más representativa con una abundancia relativa de 67,8%. La siguen en abundancia: *Brassica campestris* (Brassicaceae) (11,7 %), *Chrysanthemum parthenium* (Asteraceae) (9,5 %), *Veronica anagallis-aquatica* (Scrophulariaca) (6,4 %), *Verbascum densiflorum* (Scrophulariaceae) (1,9 %), *Solidago chilensis* (Asteraceae) (1,5 %), y *Lactuca serriola* (Asteraceae) (1,1 %) (Esterio y col., 2013). Los principales polinizadores descritos para esta población son los abejorros *Bombus terrestris*, *Centris nigerrima*, *Centris chilensis*, *Megachile saulcyi*, *Megachile semirufa* y el picaflor *Oreotrochilus leucopleurus* (Esterio y col., 2013).

Trabajo de campo y procedimientos de laboratorio

El muestreo se llevó a cabo en Diciembre de 2014. Se seleccionaron 90 individuos al azar de la población, registrándose sus coordenadas mediante el método propuesto por Dale (1999). También se registró la altura y el número de flores en un radio de 30 cm para cada planta. Las mediciones de los rasgos florales se realizaron todas sobre flores en el primer día de antesis. En cada planta se marcó y retiró entre 2 y 3 flores dependiendo de la disponibilidad, a las cuales se les midió la distancia antera-estigma (mm), longitud del tubo floral (mm), volumen de néctar (μl), concentración de glucosa ($^{\circ}\text{Brix}$), área de la corola (mm^2), área de la guía de néctar (mm^2), y número de granos de polen por antera. Tanto la distancia antera-estigma como la longitud del tubo floral se midieron directamente con un caliper digital (precisión de 0,01 mm). El néctar se retiró de cada flor mediante un tubo capilar de 10 μl . La concentración de glucosa fue obtenida mediante un refractómetro de mano (Atago PAL 1). Tanto el área de la corola como el de la guía de néctar se midieron con el programa Image J 1.47v sobre fotografías frontales de cada flor. Finalmente, dos anteras por flor fueron almacenadas en una solución de alcohol al 70% para el conteo del número de granos de polen mediante un contador de partículas Beckmann Z1.

Análisis de autocorrelación espacial

Para todos los análisis de autocorrelación espacial se utilizó el programa Passage 2 v2.0.11.6. Se realizó un test de Moran sobre cada variable medida en el caso de poseer distribución normal y un test de Geary en el caso contrario. En el test de Moran se calcula el coeficiente I de Moran para cada intervalo de distancia, cuyo valor oscila

entre -1 y 1, de manera que los valores positivos indican la existencia de autocorrelación positiva mientras que los valores negativos la presencia de autocorrelación negativa. Valores cercanos a cero indican ausencia de autocorrelación. Por otro lado, el coeficiente c de Geary se comporta como una medida de distancia y varía desde 0 (valor máximo de autocorrelación positiva) hasta 2 (valor de fuerte autocorrelación negativa). En ausencia de autocorrelación el valor esperado tiende hacia 1 (Iriondo y col., 2008). Los correlogramas de Moran y Geary fueron estimados usando 10000 aleatorizaciones. La significación global de cada correlograma usó la corrección de Bonferroni. Para analizar si existía autocorrelación espacial a nivel global, se realizó un correlograma de Mantel con 10000 aleatorizaciones utilizando las matrices de distancia de datos y coordenadas.

Se seleccionaron 13 clases de distancia siguiendo la regla de Sturge (Legendre & Legendre, 1998) según la cual el número de clases (n) a utilizar se calcula siguiendo la expresión: $n = 1 + 3,3 \log(m)$, siendo m el número de pares de puntos existentes (i.e., el número de elementos de la matriz triangular de distancias). Posteriormente se realizó un análisis de correlación utilizando un test de t con corrección Dutilleul, la cual corrige los grados de libertad para variables espacialmente autocorrelacionadas. Este método estima la reducción en el tamaño muestral causada por la autocorrelación, con el fin de obtener un tamaño de muestra efectivo, que ajusta los grados de libertad del test estadístico y, por consiguiente su significación (Dutilleul, 1993). Esta modificación se resume en la siguiente ecuación.

$$n' = 1 + \frac{\text{tr}(\mathbf{B}\hat{\Sigma}_x)\text{tr}(\mathbf{B}\hat{\Sigma}_y)}{\text{tr}(\mathbf{B}\hat{\Sigma}_x\mathbf{B}\hat{\Sigma}_y)} \quad (1)$$

Donde n' es el tamaño muestral efectivo, tr es la traza de la matriz o suma de los elementos de la diagonal, B es una matriz con $b_{ij} = 1/n - 1/n^2$ en la diagonal y $d_{ij} = -1/n^2$ en el resto y $\hat{\Sigma}$ es la matriz estimada de covarianza para x e y . Se debe enfatizar que este método sólo ajusta la significación del coeficiente de correlación, y no el valor mismo de dicho coeficiente, el que sigue siendo válido.

Análisis de selección fenotípica

Las mismas variables obtenidas en los análisis de autocorrelación espacial fueron utilizadas para estimar coeficientes de selección. Sin embargo, para evitar la multicolinealidad, se formó un vector mediante un análisis de componentes principales (PCA) para las variables significativamente correlacionadas entre sí ($p < 0,001$). Por ello, las variables predictoras finalmente utilizadas fueron:

- a) Recompensa (composición entre volumen de néctar y concentración de glucosa)
- b) Tamaño de la planta (composición entre altura y número de flores en radio de 30 cm)
- c) Tamaño de la flor (composición entre el área de corola y el largo del tubo floral)
- d) Área de la señal de néctar.
- e) Distancia antera-estigma
- f) Granos de polen por antera.

Debido a los diferentes órdenes de magnitud, cada una de estas variables se estandarizó para tener una media = 0 y varianza = 1 y hacer los resultados comparables entre sí.

Como variable respuesta se utilizaron el número de semillas por planta como proxy de fitness femenino y remoción de polen como proxy de fitness masculino. Este último ha sido descrito por diversos autores como un proxy apropiado, debido a la correlación entre remoción de polen y donación/paternidad en orquídeas (Broyles & Wyatt, 1990; Nilsson y col., 1992a). En el caso de la función femenina, las semillas fueron recolectadas y contadas después de la temporada de floración para cada uno de los individuos anteriormente marcados. Para la función masculina, la remoción de polen se estimó restando el número de granos de polen por antera en flores con 2 días de floración del número de granos por antera en flores con un día de antesis. Tanto el fitness femenino como el masculino se relativizaron utilizando la media poblacional de fitness ($w = w_i / w_{\text{media poblacional}}$). Debido a que para algunas plantas no se obtuvo néctar y, por ende, fue imposible medir la concentración de glucosa, se utilizaron 67 plantas para los análisis fenotípicos de selección.

Los coeficientes de selección estimados consistieron en el diferencial de selección direccional (S'), calculado como la covarianza entre cada variable (z_i) y el fitness relativo ($S_i = \text{COV}(z_i, w)$). Su significancia fue estimada de 10000 repeticiones bootstrap. Para los gradientes de selección lineal se utilizó el modelo multivariado de Lande y Arnold (1983):

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

donde α es una constante, β_i representa la pendiente promedio de la superficie de selección en el plano del rasgo z_i y ε es un término de error. A través de esta ecuación se estima la fuerza de la selección direccional sobre el fenotipo i (Medel, 2014). Por

otro lado, para los gradientes de selección no lineal se utilizó una versión modificada de la ecuación 2:

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

En esta ecuación se describe el efecto directo de la selección estabilizadora o disruptiva sobre el rasgo z_i mediante el parámetro γ_{ii} . Cuando $\gamma_{ii} < 0$ la función es cóncava hacia abajo y se describe una selección estabilizadora sobre el rasgo mientras que si $\gamma_{ii} > 0$ habría selección disruptiva sobre el rasgo ya que representaría una función cóncava hacia arriba. En la ecuación, γ_{ij} representa la selección actuando sobre la correlación de los rasgos i y j . La significancia estadística para los gradientes lineales y no lineales se obtuvo de los valores de probabilidad provenientes de los análisis de regresión (GLM) respectivos. Se realizó un análisis de regresión lineal con la variables predictoras para ambas variables respuesta por separado para cada función sexual y luego se realizaron los mismos análisis agregándose un vector con valores autocovariados generados con las coordenadas de cada planta (Augustin y col., 1996; Dormann y col., 2007). De esta manera es posible obtener los coeficientes de selección corregidos espacialmente y examinar la influencia de la estructura espacial sobre los resultados. El vector se generó según el modelo descrito por Augustin y col. (1996):

$$autocov_i = \frac{\sum_{j=1}^{k_i} w_{ij} y_j}{\sum_{j=1}^{k_i} w_{ij}} \quad (4)$$

donde k_i es el número de vecinos del individuo i según el radio escogido, y es la variable respuesta y $w_{ij}=1/h_{ij}$, donde h_{ij} es la distancia euclidiana entre los individuos.

Para asegurar que la autocorrelación espacial depende exclusivamente de las variables analizadas y no de errores asociados, se realizó un correlograma de spline a los residuales para cada modelo de regresión múltiple (Bjornstad y Falck, 2001). Para todos los análisis fenotípicos de selección se utilizó el software R 3.1.1.

RESULTADOS

Mapeo de individuos y rasgos medidos

Se realizó un mapa de los 90 individuos medidos (Figura 1) utilizando las coordenadas registradas, y para cada uno de éstos se midieron los 11 rasgos mencionados anteriormente (Tabla 1).

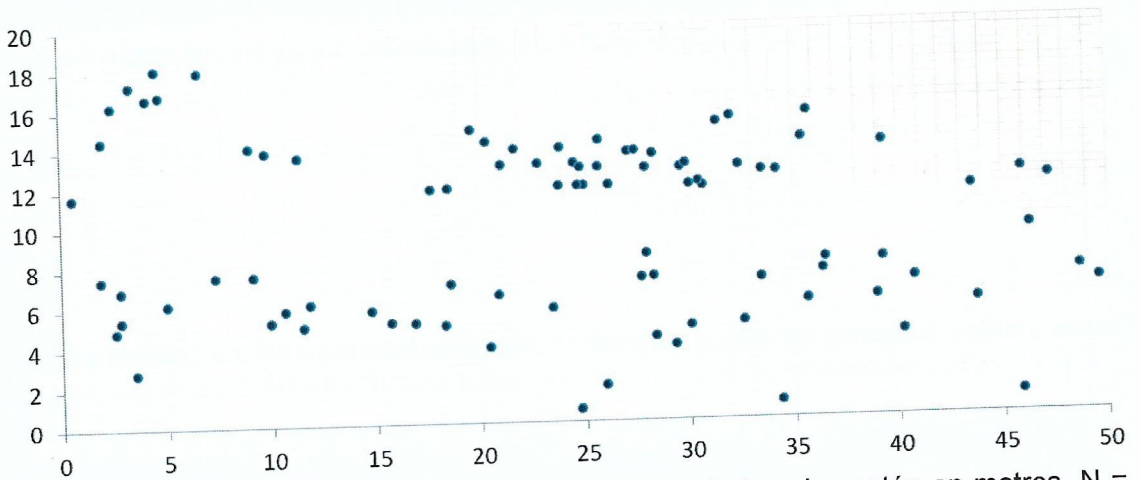


Figura 1. Ubicación de individuos. Las coordenadas de los ejes están en metros. N = 90 individuos.

Tabla 1. Media (\bar{X}) y desviación estándar (DE) de cada rasgo. N = 90 individuos.

Rasgo	$\bar{X} \pm DE$
Altura Planta (cm)	56,02 \pm 22,2
Flores por Área (#)	12,13 \pm 4,92
Distancia Antera Estigma (mm)	4,957 \pm 1,45
Largo Tubo Floral (mm)	30,03 \pm 2,81
Volumen Néctar (μ l)	0,276 \pm 0,24
Concentración Glucosa ($^{\circ}$ Brix)	45,11 \pm 51,67
Área Señal (mm ²)	42,96 \pm 24,6
Área Corola (mm ²)	582,7 \pm 109
Granos Polen por Antera (#)	19410 \pm 3560
Remoción Polen (#)	6747 \pm 4760
Número Semillas (#)	698,8 \pm 426

Autocorrelación espacial

Siguiendo la regla de Sturge se seleccionaron 13 clases de distancia con el mismo ancho. Las medidas de tres caracteres se ajustaron a una distribución normal (distancia antera-estigma, longitud del tubo y área de la corola), por lo que se les realizó un correlograma de Moran obteniéndose correlogramas significativos para la longitud del tubo ($P < 0,01$) y área de la corola ($P < 0,05$), mostrando una tendencia a autocorrelación positiva en los primeros dos rangos de distancia (Figura 2b, 2c).

Para los otros ocho rasgos se realizó un correlograma de Geary (Figura 3), donde sólo concentración fue estadísticamente significativo luego de la corrección de Bonferroni ($P < 0,001$), pero sin mostrar una tendencia clara de autocorrelación. Por otro lado para el rasgo granos de polen por antera, se observa una tendencia a autocorrelación positiva significativa en los primeros tres rangos, pero sin significancia estadística total del correlograma luego de corrección de Bonferroni ($P = 0,196$).



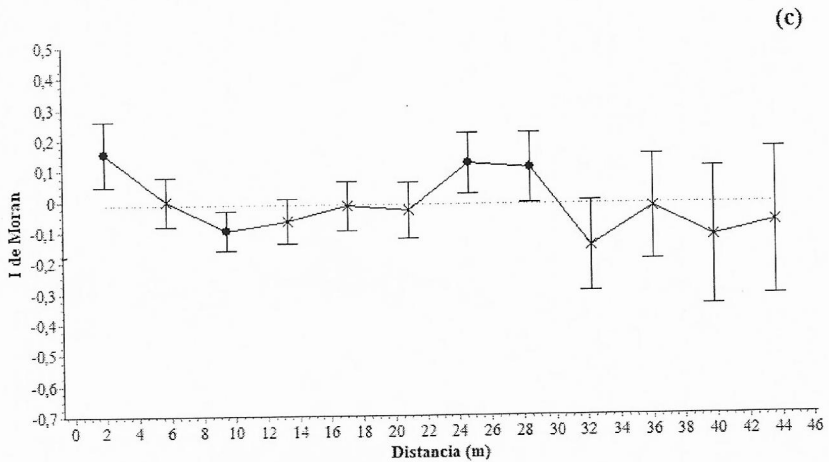
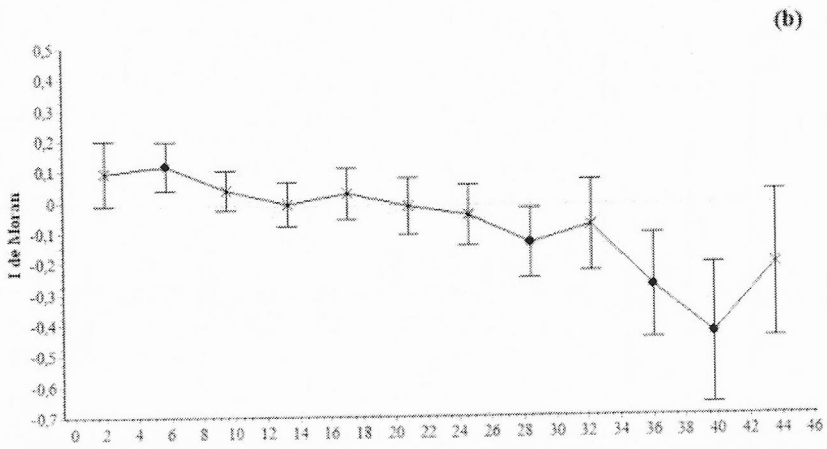
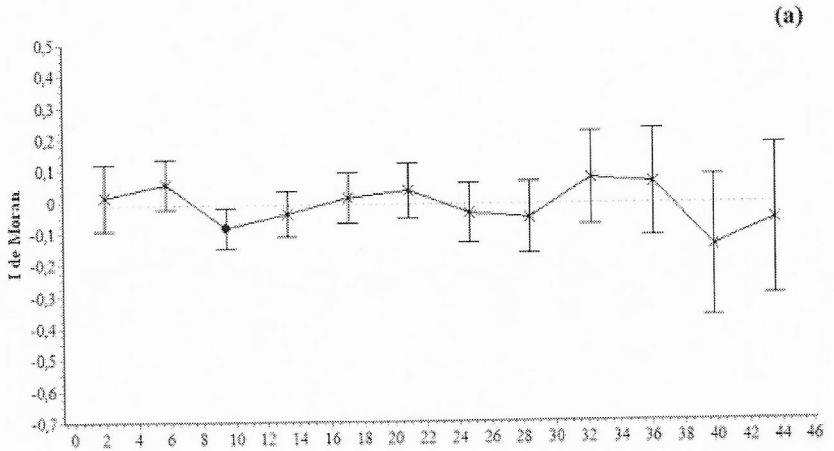
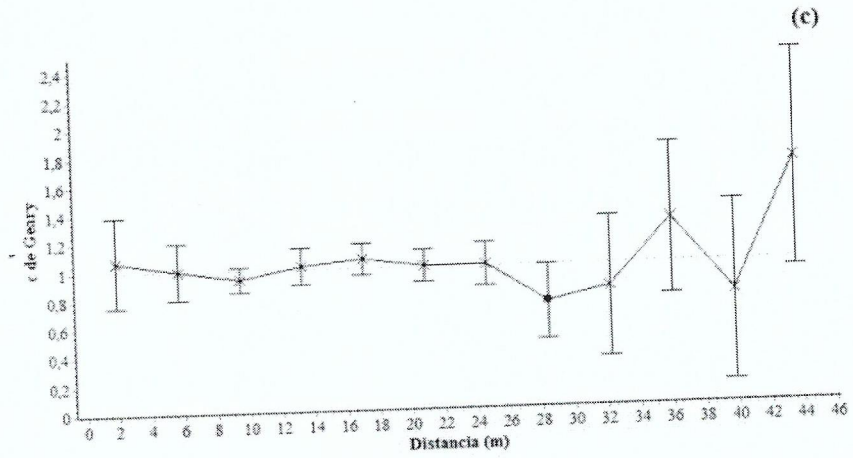
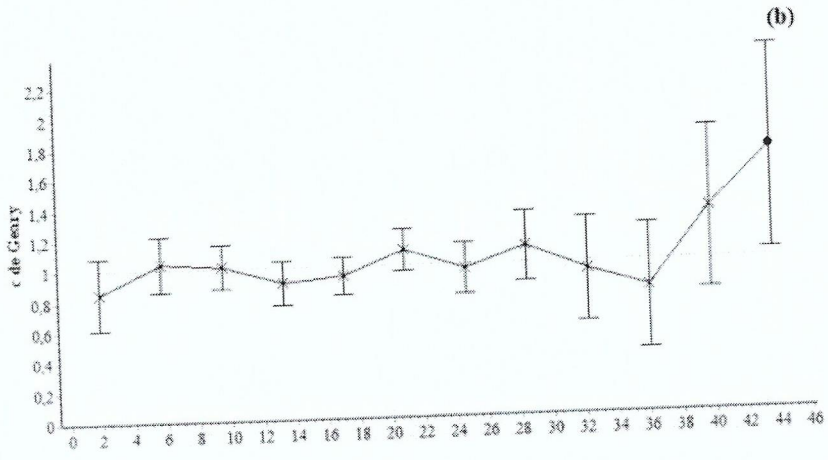
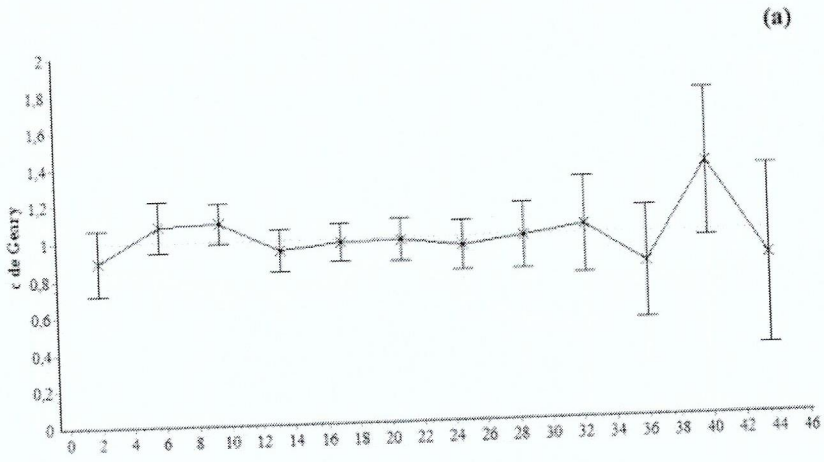
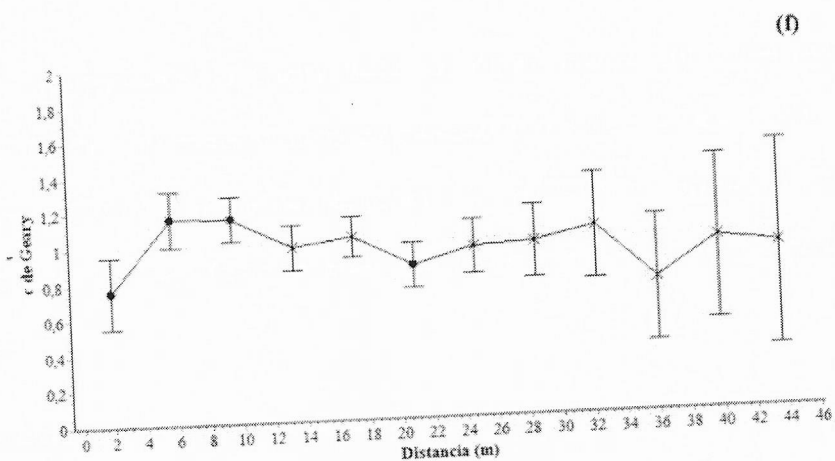
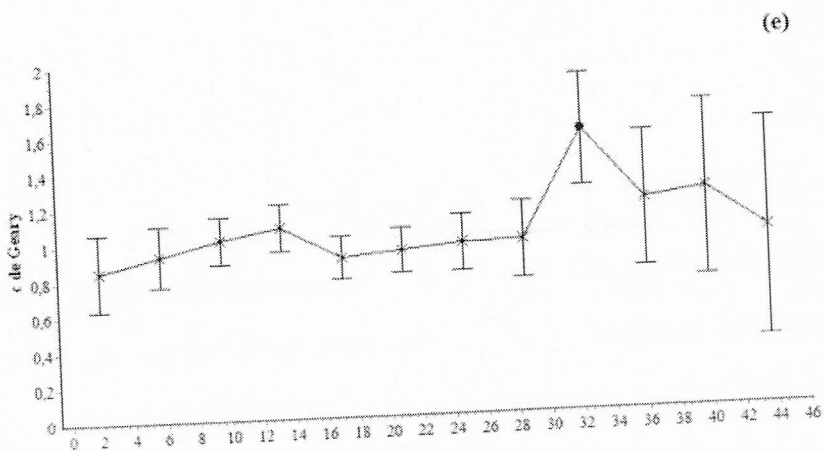
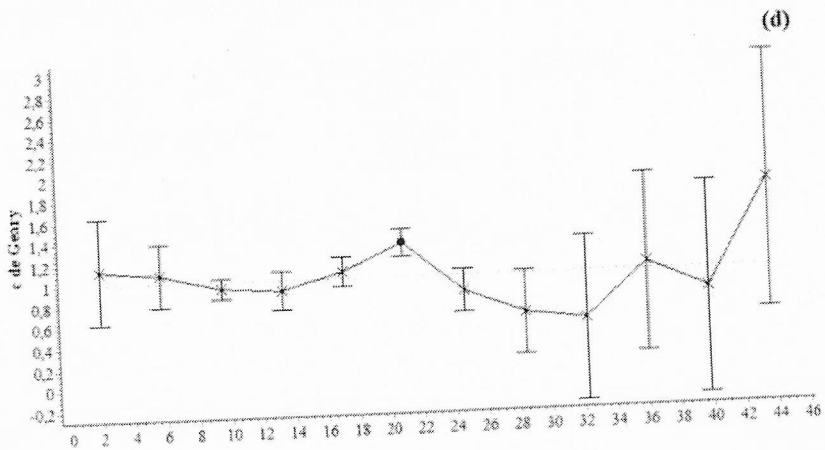


Figura 2. Correlogramas de Moran para: (a) Distancia antera-estigma, (b) largo tubo floral y (c) área de la corola. Puntos negros (●) denotan rangos significativos luego de corrección bootstrap. N = 90 individuos.





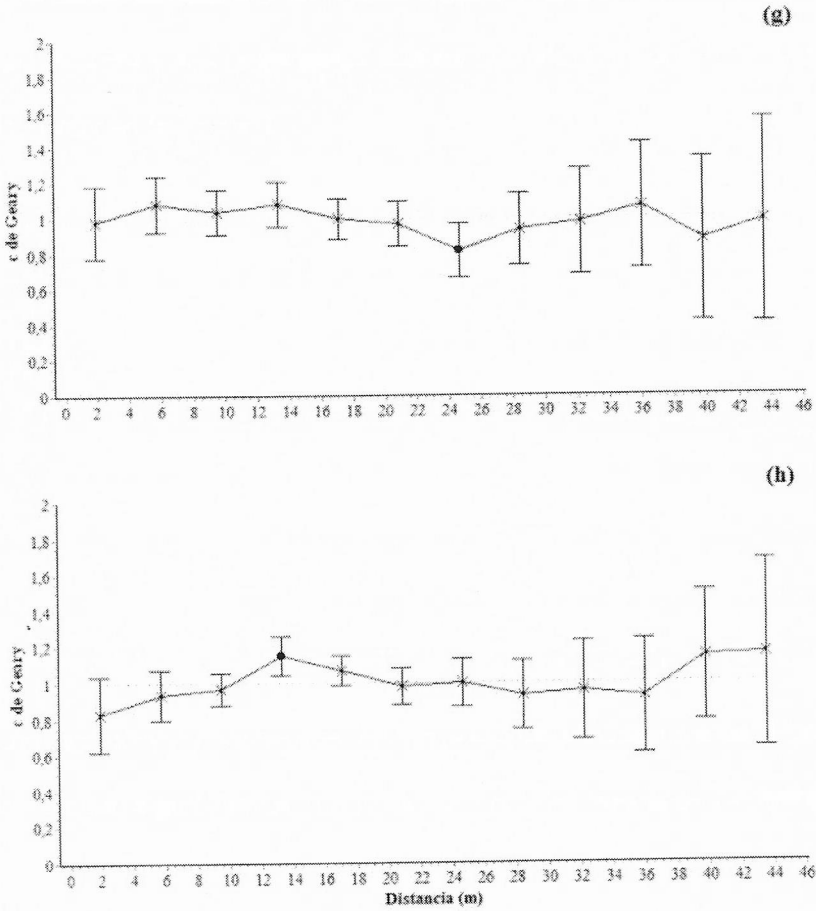


Figura 3. Correlogramas de Geary para: (a) Altura planta, (b) flores por área, (c) volumen de néctar, (d) concentración de glucosa en néctar, (e) área señal, (f) granos de polen por antera, (g) remoción de polen y (h) número de semillas. Puntos negros (●) denotan rangos significativos luego de corrección mediante bootstrap. N = 90 individuos.

Al confeccionar las matrices de distancia para las coordenadas y para los datos se realizó un correlograma de Mantel (Figura 4), donde se observa que existe autocorrelación positiva para el primer rango de distancia ($r = 0,077$; $P < 0,05$).

El resumen de todos los análisis de autocorrelación espacial, incluidos los rangos de las clases de distancia y sus respectivos índices r de Mantel, I de Moran y c de Geary, se puede encontrar en la Tabla 2.

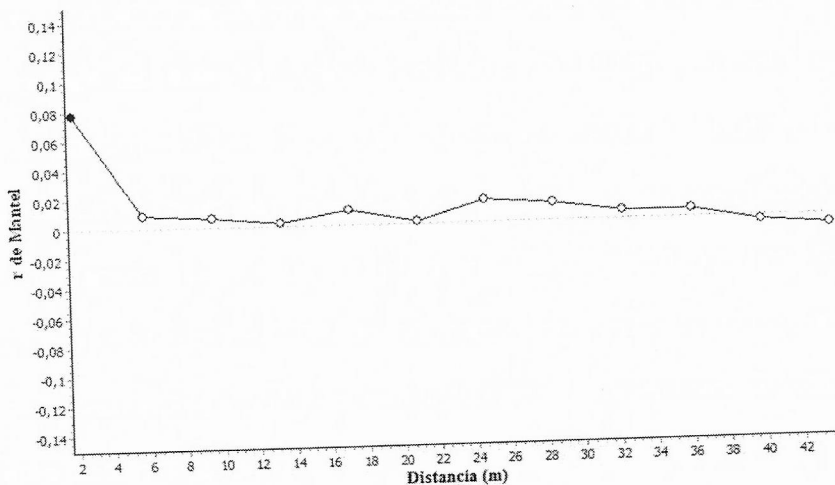


Figura 4. Correlograma de Mantel para 11 rasgos de *Mimulus luteus*. Puntos negros (●) denotan rangos significativos luego de corrección mediante bootstrap. $N = 90$ individuos.

Correlaciones entre los rasgos

Para cada rasgo se realizaron correlaciones simples de Pearson (Tabla 3) para luego aplicar la corrección de Dutilleul (Tabla 4). Al comparar ambas tablas se observa una reducción en el nivel de significancia estadística entre los pares de rasgos: número de semillas - granos de polen por antera ($t = 0,216$; $P < 0,05$) y número de semillas - remoción de polen ($t = 0,212$; $P < 0,05$). Asimismo, la altura de la planta y el área de corola disminuyen su grado de significancia estadística en su correlación con granos de polen por antera de un $P < 0,01$ a $P < 0,05$. Tomando en cuenta estas correlaciones y mediante un PCA se generaron los vectores recompensa (PC1 = 91%), tamaño planta (PC1 = 68%) y tamaño flor (PC1 = 69%) para ser utilizados en el análisis de selección fenotípica.

Tabla 2. Rangos de las clases de distancia con índices r de Mantel e índices I de Morán y c de Geary para rasgos con distribución normal y no normal, respectivamente. La última fila contiene la significancia total del correlograma luego de corrección de Bonferroni.

Clase	Mantel r			Moran I				Geary c								
	Min	Max	Pares	Distancia A-E	Largo tubo	Área Corola	Altura	Flores	Volumen	Concentración	Área Señal	Polen	Remoción	Nº Semillas		
1	0,00	3,79	289	0,077*	0,01	0,09†	0,15*	0,89	0,85	1,07	1,13	0,75	0,75*	0,98	0,83	
2	3,79	7,58	486	0,008	0,05	0,12*	0	1,08	1,04	1	1,08	1,05	1,16*	1,08	0,94	
3	7,58	11,37	683	0,007	-0,08*	0,04	-0,09*	1,09†	1,02	0,93	0,94	0,88	1,15*	1,04	0,97	
4	11,37	15,17	590	0,002	-0,04	-0,01	-0,07†	0,94	0,9	1,02	0,91	1,1	0,98	1,08	1,15*	
5	15,17	18,96	494	0,011	0,01	0,02	-0,01	0,98	0,94	1,06	1,07	0,96	1,03	1	1,07	
6	18,96	22,75	418	0,001	0,03	-0,02	-0,03	0,99	1,1	1,01	1,32*	1,05	0,86*	0,97	0,98	
7	22,75	26,54	356	0,015†	-0,04	-0,05	0,12*	0,95	0,97	1,01	0,85	0,93	0,95	0,81*	1	
8	26,54	30,33	264	0,012†	-0,06	-0,14*	0,11†	0,99	1,11	0,74	0,63	0,96	0,98	0,94	0,93	
9	30,33	34,12	155	0,006	0,07	-0,08	-0,15†	1,05	0,95	0,84	0,55	1,03	1,05	0,98	0,96	
10	34,12	37,91	117	0,005	0,06	-0,28*	-0,02	0,83	0,82	1,3	1,07	1,26	0,74	1,07	0,93	
11	37,91	41,71	68	-0,003	-0,15	-0,43**	-0,12	1,37†	1,33	0,78	0,81	1,88*	0,97	0,88	1,15	
12	41,71	45,50	58	-0,007*	-0,06	-0,21†	-0,07	0,86	1,72*	1,7	1,82	1,28	0,93	0,99	1,16	
13	45,50	50,29	27	-0,001	-	-	-	0,816	0,417	0,583	<0,001	0,163	0,196	0,202	0,073	
Significancia total Correlograma				0,337	0,003	0,031	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

† P < 0,1; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001

Tabla 3. Coeficientes de correlación de Pearson entre 11 rasgos de *Mimulus luteus*. N = 90 individuos.

	Flores	Distancia AE	Largo tubo	Volumen	Concentración	Área Señal	Área Corola	Polen	Remoción	Nº Semillas
Altura Planta	0,397***	0,161	0,217*	- 0,105	- 0,066	0,132	0,401***	0,303**	0,240*	0,425***
Flores por Área	-	0,124	- 0,078	0,053	0,007	0,082	0,037	0,190†	0,128	0,184
Distancia Antera Estigma	-	-	- 0,073	- 0,146	- 0,147	0,041	0,006	0,038	0,264*	- 0,068
Largo Tubo Floral	-	-	-	- 0,002	0,042	0,404***	0,425***	- 0,041	0,01	0,197†
Volumen Nectar	-	-	-	-	0,847***	0,042	- 0,133	- 0,06	- 0,166	- 0,124
Concentración Glucosa	-	-	-	-	-	- 0,026	- 0,044	- 0,029	- 0,042	- 0,027
Área Señal	-	-	-	-	-	-	0,145	- 0,06	0,005	0,075
Área Corola	-	-	-	-	-	-	-	0,273**	0,082	0,236*
Granos Polen por Antera	-	-	-	-	-	-	-	-	0,597***	0,216†
Remoción Polen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,212†

† P < 0,1; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,01

Tabla 4. Coeficientes de correlación de Pearson entre 11 rasgos de *Mimulus luteus* después de corrección Dutilleul. N = 90 individuos.

	Flores	Distancia AE	Largo tubo	Volumen	Concentración	Área Señal	Área Corola	Polen	Remoción	Nº Semillas
Altura Planta	0,397***	0,161	0,217*	- 0,105	- 0,066	0,132	0,401***	0,303*	0,240*	0,425***
Flores por Área	-	0,124	- 0,078	0,053	0,007	0,082	0,037	0,190†	0,128	0,184
Distancia Antera Estigma	-	-	- 0,073	- 0,146	- 0,147	0,041	0,006	0,038	0,264*	- 0,068
Largo Tubo Floral	-	-	-	- 0,002	0,042	0,404***	0,425***	- 0,041	0,01	0,197†
Volumen Nectar	-	-	-	-	0,847***	0,042	- 0,133	- 0,06	- 0,166	- 0,124
Concentración Glucosa	-	-	-	-	-	- 0,026	- 0,044	- 0,029	- 0,042	- 0,027
Área Señal	-	-	-	-	-	-	0,145	- 0,06	0,005	0,075
Área Corola	-	-	-	-	-	-	-	0,273*	0,082	0,236*
Granos Polen por Antera	-	-	-	-	-	-	-	-	0,597***	0,216*
Remoción Polen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,212*

† P < 0,1; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,01

Análisis de selección fenotípica

Debido a la gran cantidad de ceros en las medidas de volumen y concentración de néctar, para los análisis de selección fenotípica se utilizaron sólo 67 individuos. Tal como fuera mencionado anteriormente, se formaron tres vectores para combinar linealmente los rasgos correlacionados sobre la función femenina (número de semillas) y la función masculina (remoción de polen) (Tabla 5).

Se observan coeficientes de selección significativos para el número de granos de polen por antera sobre la función femenina ($S' = 0,157$; $P < 0,05$) y masculina ($s' = 0,388$; $P < 0,001$) y del tamaño planta sobre la función femenina ($S' = -0,175$; $P < 0,05$).

Existiría también selección correlacional negativa entre tamaño flor y recompensa para la función masculina ($Y_{ij} = -0,302$; $P < 0,05$), mientras que para la recompensa existiría selección correlacional positiva tanto con tamaño planta ($Y_{ij} = 0,249$; $P < 0,05$) como con granos de polen por antera ($S' = 0,364$; $P < 0,05$) sobre la función femenina.

Se puede observar como al considerar la variable espacial (Tabla 6), el gradiente de selección del rasgo distancia antera-estigma disminuyó a través de la función femenina hasta alcanzar un gradiente significativo ($\beta = -0,163$; $P < 0,05$), en contraste con la gradiente negativa de este rasgo sobre la función masculina ($\beta = 0,197$; $P < 0,05$).

Un gradiente de selección direccional positivo significativo también se encuentra en el total de granos de polen por antera sobre la remoción de este (función masculina) ($\beta = 0,467$; $P < 0,001$). No se encontró efecto significativo de la variable espacial sobre función femenina o masculina. Tampoco se encontró selección disruptiva ni

estabilizadora para ningún carácter. Finalmente, no se observó autocorrelación espacial en los residuales de las variables analizadas (Figura 5), por lo que los resultados obtenidos dependen exclusivamente de las variables analizadas y no de sus errores asociados.

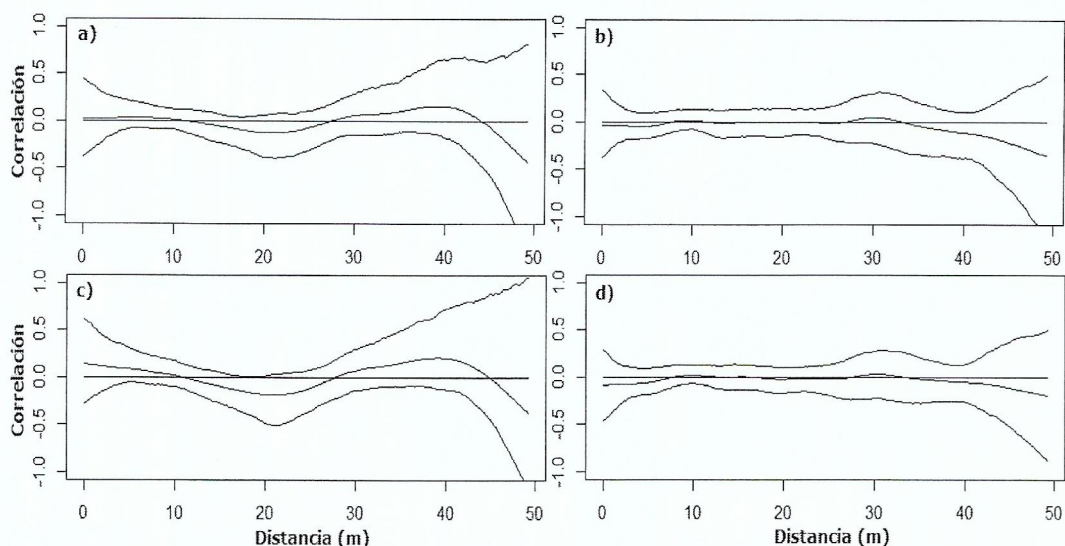


Figura 5. Correlograma de spline para los residuales de los tratamientos de regresión multivariada: a) análisis para función femenina sin estructura espacial, b) análisis para función masculina sin estructura espacial, c) análisis para función femenina con estructura espacial, d) análisis para función femenina con estructura espacial. Valores significativos cuando intervalo de confianza no cruza línea media (i.e., 0,0)

Tabla 5. Análisis de selección fenotípica de las funciones masculinas y femeninas para seis rasgos de *Mimulus luteus*. Se muestran diferenciales de selección (S_i') así como gradientes de selección direccional (β_i'), cuadrático (γ_{ij}'), y correlacional (γ_{ij}') con su respectivo error estándar (\pm EE). Todos los parámetros están estandarizados con varianza 1. Los valores resultados son coeficientes significativos luego de corrección de Bonferroni (N = 67 individuos).

Carácter i	S_i'	$\beta_i' \pm$ EE	$\gamma_{ij}' \pm$ EE	Carácter j					
				Recompensa	Tamaño Planta	Tamaño Flor	Área Señal	Granos Polen	$\gamma_{ij}' \pm$ EE
Función Masculina									
Distancia Antera-Estigma	0,104	0,197 \pm 0,093*	0,017 \pm 0,097	- 0,257 \pm 0,237	0,178 \pm 0,160	0,185 \pm 0,124	- 0,080 \pm 0,145	- 0,187 \pm 0,121	-
Recompensa	0,063	0,007 \pm 0,083	- 0,001 \pm 0,050	-	0,246 \pm 0,198	- 0,476 \pm 0,162**	0,201 \pm 0,170	0,107 \pm 0,213	-
Tamaño Planta	- 0,108	0,048 \pm 0,081	0,064 \pm 0,102	-	-	0,177 \pm 0,118	0,180 \pm 0,211	0,140 \pm 0,213	-
Tamaño Flor	0,032	- 0,024 \pm 0,079	0,117 \pm 0,086	-	-	-	- 0,248 \pm 0,142†	- 0,023 \pm 0,146	-
Área Señal	- 0,032	- 0,030 \pm 0,086	- 0,001 \pm 0,068	-	-	-	-	0,027 \pm 0,161	-
Granos Polen	0,368***	0,465 \pm 0,088***	- 0,053 \pm 0,109	-	-	-	-	-	-
Función Femenina									
Distancia Antera-Estigma	- 0,122†	- 0,146 \pm 0,076†	0,043 \pm 0,079	0,329 \pm 0,186†	- 0,095 \pm 0,156	0,114 \pm 0,119	0,061 \pm 0,127	- 0,083 \pm 0,115	-
Recompensa	0,051	0,031 \pm 0,083	0,154 \pm 0,095	-	0,393 \pm 0,177*	- 0,244 \pm 0,151	- 0,069 \pm 0,183	0,490 \pm 0,193*	-
Tamaño Planta	- 0,175*	- 0,134 \pm 0,081	- 0,070 \pm 0,098	-	-	0,087 \pm 0,132	0,123 \pm 0,185	0,015 \pm 0,102	-
Tamaño Flor	0,141†	0,084 \pm 0,079	- 0,172 \pm 0,102†	-	-	-	0,059 \pm 0,156	0,191 \pm 0,140	-
Área Señal	0,031	0,021 \pm 0,074	0,013 \pm 0,059	-	-	-	-	- 0,019 \pm 0,131	-
Granos Polen	0,157*	0,106 \pm 0,080	- 0,036 \pm 0,103	-	-	-	-	-	-

† P < 0,1; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001

Tabla 6. Análisis de selección fenotípica de las funciones masculinas y femeninas para seis rasgos de *Mimulus luteus* incluyendo variable espacial. Se muestran diferenciales de selección (S_i') así como gradientes de selección direccional (β_i'), cuadrático (γ_{ij}''), y correlacional (γ_{ij}') con su respectivo error estándar (\pm EE). Todos los parámetros están estandarizados con varianza 1. Los valores resaltados son coeficientes significativos luego de corrección de Bonferroni (N = 67 individuos).

Carácter i	S_i'	$\beta_i' \pm EE$	$\gamma_{ij}'' \pm EE$	$\gamma_{ij}' \pm EE$	Carácter j					
					Recompensa	Tamaño Planta	Tamaño Flor	Área Señal	Granos Polen	$V_{ij}' \pm EE$
Función Masculina										
Distancia Antera-Estigma	0,104	0,197 \pm 0,094*	0,030 \pm 0,103	- 0,255 \pm 0,241	0,190 \pm 0,164	0,197 \pm 0,129	- 0,089 \pm 0,149	- 0,194 \pm 0,124		
Recompensa	0,063	0,011 \pm 0,083	0,005 \pm 0,094	-	0,250 \pm 0,201	- 0,482 \pm 0,166**	0,185 \pm 0,176	0,090 \pm 0,220		
Tamaño Planta	- 0,108	0,068 \pm 0,084	0,069 \pm 0,104	-	-	0,189 \pm 0,123	0,194 \pm 0,218	0,115 \pm 0,132		
Tamaño Flor	0,032	- 0,014 \pm 0,080	0,107 \pm 0,090	-	-	-	- 0,264 \pm 0,149†	- 0,024 \pm 0,148		
Área Señal	- 0,032	0,001 \pm 0,090	0,004 \pm 0,070	-	-	-	-	0,032 \pm 0,164		
Granos Polen	0,388***	0,467 \pm 0,090***	- 0,073 \pm 0,120	-	-	-	-	-		
Variable Espacial	0,121	0,099 \pm 0,085	-	-	-	-	-	-		
Función Femenina										
Distancia Antera-Estigma	- 0,122†	- 0,163 \pm 0,079*	0,037 \pm 0,081	0,333 \pm 0,189†	- 0,085 \pm 0,157	0,126 \pm 0,123	0,054 \pm 0,129	- 0,094 \pm 0,119		
Recompensa	0,051	0,030 \pm 0,084	0,157 \pm 0,096	-	0,418 \pm 0,190*	- 0,249 \pm 0,153	- 0,068 \pm 0,183	0,514 \pm 0,204*		
Tamaño Planta	- 0,175*	- 0,146 \pm 0,081†	- 0,067 \pm 0,099	-	-	0,096 \pm 0,135	0,117 \pm 0,187	0,030 \pm 0,110		
Tamaño Flor	0,141†	0,080 \pm 0,080	- 0,171 \pm 0,103	-	-	-	0,053 \pm 0,158	0,202 \pm 0,144		
Área Señal	0,031	0,001 \pm 0,076	0,014 \pm 0,059	-	-	-	-	- 0,020 \pm 0,132		
Granos Polen	0,157*	0,114 \pm 0,081	- 0,029 \pm 0,105	-	-	-	-	-		
Variable Espacial	- 0,037	- 0,092 \pm 0,081	-	-	-	-	-	-		

† $P < 0,1$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

DISCUSIÓN

Los rasgos medidos están dentro del rango previamente descrito para esta especie (Medel y col. 2003; Botto-Mahan y col. 2004; Pohl y col. 2006; Carvallo & Medel, 2010), aunque llama la atención la alta razón señal/corola. Específicamente se observaron flores con corolas pequeñas y señales grandes en comparación a lo establecido para ésta y otras poblaciones de *Mimulus luteus* (Medel y col., 2007). Esto podría influir en la preferencia de los polinizadores de este sistema en comparación a otros donde las diferencias entre los tamaños de las señales eran mayores.

Autocorrelación espacial

Los resultados de este estudio muestran que la distribución espacial puede influir directamente sobre los rasgos fenotípicos de *Mimulus luteus*. Existe una autocorrelación positiva entre los individuos más cercanos (Figura 4), es decir los rasgos son más similares entre sí a cortas distancias que lo que cabría esperar por azar. Esto último se condice con estudios previos (Diniz-Philo y col., 2003). A pesar de esto, al centrarse en lo particular, sólo el área de la corola y la cantidad de granos de polen por antera muestran autocorrelación positiva significativa en el primer rango (entre 0 y 3,79 m), aunque sólo el correlograma de Moran del primero es significativo luego de corrección de Bonferroni. El largo del tubo floral presenta autocorrelación positiva para el segundo rango, mientras que sólo una tendencia para el primer rango sin ser ésta significativa. El resto de los rasgos analizados, ya sea presenten o no correlogramas significativos, no muestran esta tendencia. Considerando estos resultados, sobre todo el test de Mantel donde se analiza el conjunto de rasgos de cada individuo, en este estudio se propone que para asegurar independencia de los

datos es necesario un mínimo de 3,79 m entre las plantas de esta especie para asegurar la independencia de los individuos y así evitar con certeza el remuestreo de la misma planta. Además, esta distancia permitiría eliminar la influencia de la distribución espacial sobre el análisis. Para actuar de manera más conservadora, se propone 5 m como distancia mínima de muestreo entre los individuos de una población.

Cuando se analizan los rasgos correlacionados entre sí, se observan algunas relaciones positivas significativas esperables como las utilizadas para generar los vectores de recompensa (volumen de néctar y concentración de glucosa) y tamaño flor (largo tubo y área corola), lo que sugiere que el gasto de energía realizado en producir néctar se relaciona positivamente con la calidad de éste y los polinizadores no tendrían preferencia en cantidad por sobre calidad. Asimismo, se evidencia que para sostener corolas más grandes se requieren tubos florales de mayor tamaño. Por otro lado se establece una relación directa entre la cantidad de polen por antera y la remoción de polen, lo cual sugiere que un gasto energético mayor en producción de polen conlleva una mayor probabilidad de efectuar fecundación cruzada.

Para los fines de este estudio, uno de los resultados más relevantes resulta al corregir las correlaciones entre rasgos por la distribución espacial mediante el método de Dutilleul. Relaciones no significativas entre los granos de polen por antera y la función sexual masculina y femenina adquieren significancia luego de la corrección espacial, lo que indica que en ausencia de un control espacial hay una subestimación de las relaciones. Este resultado, contrario a lo esperado por la hipótesis, donde se esperaba una sobreestimación (Cressie, 1993; Sadoti y col. 2010) daría cuenta de la impredecibilidad de la influencia del espacio sobre cada sistema particular, donde una

posible sobre o subestimación de los resultados sólo podría conocerse con certeza utilizando análisis específicos que incluyan el espacio.

Análisis de selección fenotípica

A pesar que se ha sugerido que la selección sobre rasgos florales debieran actuar principalmente a través de la función masculina (Queller, 1983; Stanton y col. 1986), se encontró en esta población selección a través de ambas funciones sexuales. Los signos y magnitudes de los diferenciales y gradientes fueron relativamente similares entre los componentes sexuales (Tabla 1), a excepción de la distancia antera-estigma. Se ha descrito en orquídeas que la selección actuaría indistintamente entre ambas funciones (Nilsson, 1992b), pero en el objeto de estudio, al ser autocompatible, la selección sobre el rasgo distancia antera-estigma actúa de manera inversa sobre éstas, teniendo un gradiente positivo a través de la función masculina y negativo a través de la función femenina. Estos resultados implican la existencia de un posible compromiso entre funciones sexuales respecto a la autofecundación, el cual es revelado solamente en ausencia de efectos espaciales. Esto último debido a que una menor distancia entre antera y estigma facilitaría la autofecundación (Carvallo & Medel, 2010), muy común en *Mimulus luteus*; mientras que a mayor distancia la responsabilidad de fecundación recaería en el polinizador (i.e., mayor remoción).

Más allá de este resultado, la variable espacial influyó muy poco en la magnitud de los coeficientes de selección, por lo que a pesar de existir autocorrelación en el primer rango de distancia y una falta de esta en los residuales, no pareciera ser un gran determinante para los resultados del análisis de selección fenotípica en este sistema.

A nivel de diferenciales de selección no hay efecto de la estructura espacial pues sólo considera el rasgo y el fitness. Es interesante notar que el diferencial de selección para tamaño de planta (compuesto por altura planta y número de flores por área) sobre la función femenina es significativo y negativo, mientras que el gradiente sin alcanzar significancia estadística, al controlar por la estructura espacial muestra una tendencia negativa. Estos resultados se contradicen con la evidencia previa en la que se describe selección direccional positiva para estos rasgos (Zimmerman & Aide, 1989; Maad, 2000, Cuartas-Domínguez & Medel, 2010), esto indicaría de una preferencia hacia plantas más pequeñas en este sistema o tal vez de un compromiso energético donde se comprometería la producción de semillas por flor por un mayor tamaño y número de flores. Por otro lado, existe una selección correlacional positiva sobre producción de semillas entre tamaño planta, es decir plantas grandes con una alta recompensa sí tendrían un mayor fitness a diferencia de lo discutido anteriormente. Una fuerte selección direccional positiva se observa para el número de granos de polen por antera sobre la remoción de polen, es decir, un mayor gasto en la producción de polen aseguraría una mayor remoción por parte de los polinizadores. Se puede cuestionar que podría haber remoción por parte de otros factores bióticos (e.g., humanos, caballos) o abióticos (e.g., viento) pero, el hecho de ser el único rasgo para el cual existió un gradiente positivo significativo en ambas funciones, permite llegar a la conclusión que, aunque puedan haber pérdidas de polen por factores externos al sistema, de igual manera una mayor producción de polen sería un factor selectivo importante en esta interacción planta-polinizador.

Al medir el gradiente de selección para la covariable espacial, no se observaron resultados significativos, es decir, el espacio como variable independiente no tendría

efecto directo sobre el fitness de este sistema. No se encontraron gradientes cuadráticos significativos para ningún rasgo, por lo que no se podría hablar de selección disruptiva o estabilizadora para este sistema.

Llama la atención para este sistema la falta de relación tanto de la señal de néctar como del área de la corola sobre la recompensa, ya que a diferencia de lo descrito y lo observado en análisis previos (Medel y col. 2003; Fenster y col. 2006; Kaczorowsky y col. 2008), el tamaño de éstas no dio cuenta de la recompensa. Esto último podría ser explicado por el tamaño promedio mayor de la señal de néctar en proporción al tamaño de la corola, siendo las flores más atractivas para los polinizadores en general, independiente de la recompensa. Es más, al analizar por interacción de factores se observó selección correlacional negativa entre recompensa y el tamaño de la flor sobre la función masculina.

Es importante mencionar que un factor que puede estar dando cuenta de variaciones dentro de los resultados es la diferencia de las preferencias entre polinizadores, mientras los picaflores prefieren tamaños y formas de señal y corola específicos, las abejas prefieren otros (Medel y col. 2003, Botto-Mahan y col. 2004). Se sugiere que el siguiente paso sería evaluar el comportamiento y la influencia del espacio para cada ensamble de polinizadores por separado, para así analizar si la estructura espacial afecta de igual manera a cada uno de ellos.

La inclusión de autocorrelación espacial en los distintos métodos y modelos en ecología es una práctica cada vez más común y es una manera de aportar a la veracidad de estos. En este estudio no actuó de manera masiva sobre los coeficientes de selección. Sin embargo, es suficientemente apropiado ya que revela sutiles

covariaciones entre rasgos clave tales como la hercogamia y fitness. Este trabajo busca promover la utilización de este método para análisis de selección multivariada donde, al incluir el espacio, se logra un análisis más robusto pues se disminuye la variabilidad atribuida al azar.

CONCLUSIONES

El objetivo de este estudio fue investigar la importancia del componente espacial a pequeña escala en este sistema planta-polinizador, y su efecto en estimaciones de selección. Con respecto a las hipótesis planteadas y según los resultados obtenidos se desprenden las siguientes conclusiones:

En primer lugar, como de esperar, se encontró autocorrelación espacial para las plantas más cercanas a nivel general, mientras que a nivel particular, algunos rasgos presentaron y otros no. Esto nos lleva a proponer 5 m como distancia mínima entre individuos para asegurar independencia, sin necesidad de agregar la estructura espacial al respectivo análisis.

Por otro lado, contrario a lo esperado, más que una sobreestimación de los resultados, al agregar la estructura espacial como variable, quedó en evidencia como la distancia antera-estigma, una variable relacionada con la evitación de la autofecundación, disminuyó (con significancia estadística) a través de la función femenina, lo que terminó por implicar la existencia de un posible compromiso entre funciones sexuales respecto a la autofecundación que es revelado solamente en ausencia de efectos espaciales.

A pesar que no se observa un efecto importante de la estructura espacial sobre los estimadores de selección para este sistema, puede ocurrir en casos límite, ganancia o pérdida de significancia lo que influiría directamente en las conclusiones de un estudio particular y posteriores decisiones basadas en él. Esto muestra que, independiente de la magnitud, estimaciones de selección que no consideren la autocorrelación espacial como una variable que contribuye a la covariación fenotipo-fitness corren el riesgo de

sobre o subestimar las fuerzas selectivas actuando sobre el fenotipo floral en las poblaciones de plantas. El método propuesto en este estudio sería una herramienta muy útil y fácil de aplicar para disminuir la probabilidad que esto ocurra.



BIBLIOGRAFÍA

- Augustin N.H., Muggleston M.A. y Buckland S.T. 1996. An autologistic model for the spatial distribution of wildlife. *Journal of Applied Ecology*, 33: 339-347.
- Barrett S.C.H. 2002. Sexual interference of the floral kind. *Heredity*, 88: 154-159.
- Bjornstad O.N. y Falck W. 2001. Nonparametric spatial covariance functions: estimation and testing. *Environmental and Ecological Statistics*, 8: 53-70.
- Botto-Mahan C., Pohl N. y Medel R. 2004. Nectar guide fluctuating asymmetry does not relate to female fitness in *Mimulus luteus*. *Plant Ecology*, 174: 347-352.
- Broyles S.B. y Wyatt R. 1990. Paternity analysis in a natural population of *Asclepias exaltata*: multiple paternity, functional gender, and the "pollen donation hypothesis". *Evolution*, 44: 1454-1468.
- Carlo T.A. y Morales J.M. 2008. Inequalities in fruit removal and seed dispersal: consequences of bird behaviour, neighbourhood density and landscape aggregation. *Journal of Ecology*, 96: 609-618.
- Carvallo G.O. y Medel R. 2010. Effects of herkogamy and inbreeding on the mating system of *Mimulus luteus* in the absence of pollinators. *Evolutionary Ecology*, 24: 509-522.
- Cuartas-Domínguez M. y Medel R. 2010. Pollinator-mediated selection and experimental manipulation of the flower phenotype in *Chloraea bletioides*. *Functional Ecology*, 24: 1219-1227.
- Dale M.R.T. 1999. *Spatial Pattern Analysis in Plant Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Diniz-Filho J.A.F., Bini L.M. y Hawkins B.A. 2003. Spatial autocorrelation and red herrings in geographical ecology. *Global Ecology and Biogeography*, 12: 53-64.

- Dormann C.F., McPherson J.M., Araújo M.B, Bivand R., Bolliger J., Carl G., Davies R.G., Hirzel A., Jetz W., Daniel-Kissling W., Kühn I., Ohlemüller R., Peres-Neto P.R., Reineking B., Schröder B., Schurr F.M. y Wilson R. 2007. Methods to account for spatial autocorrelation in the analysis of species distributional data: a review. *Ecography*, 30: 609-628.
- Cressie N.A.C. 1993. *Statistics for spatial data*. Cambridge, MA, USA: Wiley.
- Dutilleul P. 1993. Modifying the t test for assessing the correlation between two spatial processes. *Response. Biometrics*, 49: 305-314.
- Elliott S.E. y Irwin R.E. 2009. Effects of flowering plant density on pollinator visitation, pollen receipt, and seed production in *Delphinium barbeyi* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, 96: 912-919.
- Escudero A., Iriondo J.M. y Torres E. 2003. Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. *Biological Conservation*, 113: 351-365.
- Esterio G., Cares-Suarez C., Gonzalez-Browne C., Salinas P., Carvallo G. y Medel R. 2013. Assessing the impact of the invasive buff-tailed bumblebee (*Bombus terrestris*) on the pollination of the native Chilean herb *Mimulus luteus*. *Arthropod-Plant Interactions*, 7: 467-474.
- Fenster C.B., Cheely G., Dudash M.R.Y. y Reynolds R.T. 2006. Nectar reward and advertisement in hummingbird-pollinated *Silene virginica* (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany*, 93: 1800-1807.
- Fontúrbel F.E., Jordano P. y Medel R. 2015. Scale-dependent responses of pollination and seed dispersal mutualisms in a habitat transformation scenario. *Journal of Ecology*, 103(5), 1334-1343.

- Fortin M.J. y Dale M.R.T. 2005. *Spatial Analysis: A Guide for Ecologists*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ghazoul J. 2005. Pollen and seed dispersal among dispersed plants. *Biological Reviews*, 80: 413-443.
- Iriondo J.M., Torres E. y Escudero A. 2003. Métodos para analizar variables continuas y categóricas: Correlogramas y estadísticos "join count". En A. Escudero, J.M. Iriondo y E. Torres (eds.), *Introducción al Análisis Espacial de Datos en Ecología y Ciencias Ambientales: Métodos y Aplicaciones*. pp 184-215. DYKINSON S.L., Madrid.
- Kaczorowski R.L., Juenger T.E. y Holtsford T.P. 2008. Heritability and correlation structure of nectar and floral morphology traits in *Nicotiana glauca*. *Evolution*, 62: 1738-1750.
- Kuhn I., Bierman S.M., Durka W. y Klotz S. 2006. Relating geographical variation in pollination types to environmental and spatial factors using novel statistical methods. *New Phytologist*, 172: 127-139.
- Kunin W.E. 1997. Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *Journal of Ecology*, 85: 225-234.
- Lande R. y Arnold S.J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37: 1210-1226.
- Legendre P. 1993. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? *Ecology*, 74: 1659-1673.

- Legendre P. y Legendre L. 1998. Numerical ecology. Second English Edition. Elsevier Publishers, Amsterdam, Holanda.
- Maad J. 2000. Phenotypic selection in hawkmoth-pollinated *Platanthera bifolia*: targets and fitness surfaces. *Evolution*, 54: 112-123.
- Maestre F.T., Escudero A. 2008. Introducción. En A. Escudero, J.M. Iriondo y E. Torres (eds.), *Introducción al Análisis Espacial de Datos en Ecología y Ciencias Ambientales: Métodos y Aplicaciones*. pp 1-35. DYKINSON S.L., Madrid.
- Medel R., Botto-Mahan C. y Kalin-Arroyo M. 2003. Pollinator-mediated selection on the nectar guide phenotype in the Andean monkeyflower, *Mimulus luteus*. *Ecology*, 84: 1721-1732.
- Medel R., Valiente A., Botto-Mahan C., Carvallo G., Pérez F., Pohl N. y Navarro L. 2007. The influence of insects and hummingbirds on the geographical variation of the flower phenotype in *Mimulus luteus*. *Ecography*, 30: 812-818
- Medel R. 2014. Adaptación y selección natural. En M.A. Méndez y J. Navarro (eds.), *Introducción a la Biología Evolutiva*. pp 83-104. ESEB-SOCEVOL, Chile.
- Nilsson L.A., Rabakonandrianina E. y Pettersson B. 1992. Exact tracking of pollen transfer and mating in plants. *Nature*, 360: 666-668.
- Nilsson L.A. 1992. Orchid pollination biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 7: 255-259.
- Pohl N., Carvallo G., Botto-Mahan C. y Medel R. 2006. Nonadditive effects of flower damage and hummingbird pollination on the fecundity of *Mimulus luteus*. *Oecologia*, 149: 648-655.
- Queller D.C. 1983. Sexual selection in a hermaphroditic plant. *Nature*, 305, 706-707.

- Sadoti G., Rodhouse T.J. y Vierling K.T. 2010. Spatial Dependence in Northern Flicker Habitat-Reproduction Relationships: An Application of Dutilleul's Modified t-Test. *The Condor*, 12: 363-368.
- Schroeder M.S. y Janos D.P. 2004. Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil*, 264: 335-348.
- Sletvold N. y Grindeland J.M. 2008. Floral herbivory increases with inflorescence size and local plant density in *Digitalis purpurea*. *Acta Oecologica*, 34: 21-25.
- Stanton M.L., Snow A.A. y Handel S.N. 1986. Floral evolution: attractiveness to pollinators increases male fitness. *Science*, 232: 1625-1627.
- Valiente-Banuet A., Aizen M., Alcantara J.M., Arroyo J., Cocucci A., Galetti M., García M.B., García D., Gómez J.M., Jordano P., Medel R., Navarro L., Obeso J.R., Oviedo R., Ramírez N., Rey P.J., Traveset A., Verdú M. y Zamora R. 2015. Beyond species loss: the extinction of ecological interactions in a changing world. *Functional Ecology*, 29: 299-307.
- Von Bohlen C. 1995. El género *Mimulus* (Schrophulariaceae) en Chile. *Gayana Botanica*, 52: 7-28.
- Weber A. y Kolb A. 2011. Evolutionary consequences of habitat fragmentation: population size and density affect selection on inflorescence size in a perennial herb. *Evolutionary Ecology*, 25: 417-428.
- Zimmerman J.K. y Aide T.M. 1989. Patterns of fruit production in a Neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *American Journal of Botany*, 76: 67-73