

UCH-FC
MAG-B
D761
C.I

**DETECCIÓN DE RASGOS QUE COMPENSARÍAN LA DISMINUCIÓN
ALTITUDINAL DEL SERVICIO DE POLINIZACIÓN COMUNITARIA EN
UNA ESPECIE HETEROSTÍLICA EN LA CORDILLERA DE LOS
ANDES DE CHILE CENTRAL**

Tesis
entregada a la
Universidad de Chile
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar al Grado de

Magíster en Ciencias Biológicas



Facultad de Ciencias

Por

DANIELA FRANCES DOMÍNGUEZ VALVERDE

Abril, 2010

Director de Tesis: Dr. Mary Kalin Arroyo

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE
INFORME DE APROBACION
TESIS DE MAGÍSTER

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

Daniela Domínguez Valverde

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas mención Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 1 de abril de 2010

Director de Tesis:
Dra. Mary Kalin Arroyo

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Rodrigo Medel

Dr. Ramiro Bustamante



The image shows three handwritten signatures in blue ink, each followed by a dotted line. The top signature is 'Mary Kalin Arroyo', the middle one is 'Rodrigo Medel', and the bottom one is 'Ramiro Bustamante'. To the right of the signatures is a purple circular stamp that reads 'FACULTAD DE CIENCIAS', 'BIBLIOTECA CENTRAL', and 'U. DE CHILE'.



*A quienes me ayudaron a vivir
esta etapa de mi vida.*



Nací en Santiago soy la tercera de seis hermanos. Durante mi niñez viví en Cerrillos, y luego en Ñuñoa, lugar que hasta hoy considero mi hogar, con sus parques y barrios tan humanos que nunca te sientes solo. Estudié en el Colegio Universitario El Salvador, el que me entregó valores que han sido fundamentales en mi vida personal y profesional. Mi vida universitaria transcurrió en el Campus Juan Gómez Millas, un espacio que me permitió consolidar el desarrollo de múltiples ámbitos de mi vida, y que terminó de construir quien soy hoy.

AGRADECIMIENTOS



Agradezco a Rodrigo, por su amor, apoyo, lealtad, por levantarme en las mañanas cuando ya parecía que no se podía. Agradezco a mi familia por el apoyo incondicional que me dio durante estos largos años de magíster. Agradezco especialmente a Ana María Humaña quien me apoyo todos estos veranos e inviernos, con su sabiduría y amistad, por enseñarme la montaña y sus secretos. Agradezco a todas las personas del laboratorio que siempre tuvieron una sonrisa para mí, a Pola por esas largas conversaciones donde arreglábamos el mundo y la Ciencia, a Leah por contenerme y apoyarme cada vez que pensaba que no había salida, a Rosita por su ternura y esa palabra de aliento tan necesaria, a Don Juan por quererme y cuidarme tan gratuitamente, a Romina por siempre tirarme para arriba, a Carola por escucharme, a José por estar siempre ahí para cuando lo necesitaba, al Diablo por su amistad e infinito cariño. A mis amigos a Abri, por la paciencia, al Negro por su sapiencia y paciencia, a Michelle por ser mi amiga de vida, a Pauli por acompañarme en esta vida Universitaria, a Michell Salaberry por quererme y apoyarme espiritualmente, a Jorge por sus agujitas mágicas que me daban energía para seguir, a la Pachita por ayudarme en todo, a Cartes por ayudarme a ver la vida desde otras perspectivas, a Lalo por su amistad y cariño, a Seba y Cristian por siempre estar ahí para mí, a la Maquita por ser mi compañera de vida, a Nacho

por esos largos días en que me acompañaba a terreno, a Thomas por las charlas que amenizaban la tarde, a Yuri, por apoyarme incondicionalmente, a David por ayudarme a creérmela, y a todos los que por ahí me ayudaron con su granito de arena.

Quiero agradecer muy especialmente a Gianina y Karen por acompañarme y atreverse a compartir veranos en terreno, fueron duros, sin ustedes no lo habría logrado. Y a mi chiquitito Nico, que estuvo ahí para medir, contar y aprender.

Agradezco a mi tutora Dra. Mary Kalin, por ayudarme en la toma de los datos de la tesis y por guiarme y enseñarme como es el mundo de la Ciencia.

Esta tesis fue financiada gracias a la Beca Instituto de Ecología y Biodiversidad ICM P05-002, y el apoyo de los Proyectos FONDECYT 1085013 y PFB-23.



INDICE DE CONTENIDOS



LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABLAS.....	IX
RESUMEN.....	X
ABSTRACT	XIV
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 SISTEMAS REPRODUCTIVOS EN PLANTAS.....	1
1.2 DISPONIBILIDAD DE SERVICIO DE POLINIZACIÓN Y LOS ECOSISTEMAS ALPINOS.....	3
1.3 MECANISMOS COMPENSATORIOS DE LAS PLANTAS EN RESPUESTA A LA BAJA DISPONIBILIDAD DE POLINIZADORES.....	5
1.3.1 Tamaño corola.....	7
1.3.2 Despliegue floral.....	8
1.3.3 Longevidad floral.....	9
1.4 HETEROSTILIA COMO MECANISMO DE FECUNDACIÓN CRUZADA.....	12
2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
3 OBJETIVO GENERAL	20
4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
5 HIPÓTESIS.....	22
6 MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
6.1 ESPECIE DE ESTUDIO.....	23
6.2 LUGAR DE ESTUDIO	25
6.3 CLIMA GENERAL DEL ÁREA DE ESTUDIO	27
6.4 DEPENDENCIA DE LOS POLINIZADORES.....	28
6.5 DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE MORFOS ESTILARES.....	29
6.5.1 Análisis de los datos.....	31
6.6 TASA DE VISITA FLORAL	31
6.6.1 Análisis de los datos.....	32

6.7	MEDICIÓN DE RASGOS COMPENSATORIOS	32
6.7.1	Tamaño pétalo.....	32
6.7.1.1	Análisis de datos.....	33
6.7.2	Tamaño despliegue floral	34
6.7.2.1	Análisis de datos.....	35
6.7.3	Longevidad floral	35
6.7.3.1	Análisis de datos.....	36
6.8	EXPERIMENTO DE EXPOSICIÓN DIFERENCIAL A POLINIZADORES	36
6.8.1	Análisis de los datos.....	38
6.9	COMPARACIÓN DE NIVELES DE POLINIZACIÓN.....	40
7	RESULTADOS	41
7.1	DEPENDENCIA DE POLINIZADORES	41
7.2	DETERMINACIÓN DE PROPORCIÓN DE MORFOS FLORALES	43
7.3	TASA DE VISITA FLORAL	44
7.4	MEDICIÓN DE RASGOS COMPENSATORIOS.	46
7.4.1	Tamaño pétalo.....	46
7.4.2	Tamaño despliegue floral.	48
7.4.3	Longevidad floral	50
7.5	EXPERIMENTO EXPOSICIÓN DIFERENCIAL A POLINIZADORES	52
7.6	COMPARACIÓN DE NIVELES DE POLINIZACIÓN.....	55
8	CONCLUSIONES	56
9	DISCUSIÓN.....	57
10	BIBLIOGRAFÍA.....	65



LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. El polimorfismo genético heterostílico, distilia y tristilia. Polinizaciones legítimas (compatibles) están indicadas por las flechas; todas las otras combinaciones polen-pistilo resultan en una baja o nula producción de semillas. L, M y S se refieren a los morfos longi-, medi- y brevi- estilo, respectivamente. (a) Distilia está controlado por un solo locus con dos alelos. El morfo L es usualmente de genotipo *ss* y el morfo S *Ss*. (b) en la tristilia, el modo más común de herencia involucra dos loci dialélicos (S y M), con S epistático sobre M. 14
- Figura 2. Individuo de *Oxalis compacta* sector La Parva Baja (LPB). 24
- Figura 3. Los puntos amarillos corresponden a las seis poblaciones utilizadas en el estudio. Los puntos rojos son lugares referenciales para identificar la zona de estudio. 26
- Figura 4. Dispositivo para exclusión de polinizadores, bolsa de muselina. 29
- Figura 5. Morfos estilares in situ. La flor rotuladas B corresponde a breviestilo; la rotulada M, a mediestilo y la rotulada L a longiestilo. 30
- Figura 6. Medición de longitud de pétalos, para evaluar el tamaño de la flor en *Oxalis compacta*. Las líneas moradas corresponden al sentido en fue realizada la medición. 33
- Figura 7. Cuadrante de cuantificación de despliegue floral y de observación de visitas florales. 34
- Figura 8. Esquema del diseño experimental del experimento de exposición diferencial a polinizadores. 37

- Figura 9. Marcaje de yemas para el experimento de exposición diferencial a polinizadores. La figura muestra los hilos de algodón que se utilizaron para la distinción de las yemas que participaron del experimento. Cada tratamiento fue distinguido con un color distinto de hilo, lo que indicaba el número de días expuestas. 38
- Figura 10. Fruto de *O. compacta*; izquierda: una flor que no formó fruto; derecha: fruto maduro. 39
- Figura 11. Diagrama de caja de Tasa de visita floral. Se muestra el promedio del número de visitas correspondientes a una flor durante 10 minutos de observación. La barra negra sólida corresponde a la media de los datos, los extremos de las cajas son los valores de Q1 y Q3. Las líneas que se extienden desde las cajas son el límite superior e inferior que identifican a los valores atípicos. Los valores atípicos están representados por ° y los valores extremadamente atípicos por *. Las letras representan el resultado de la Prueba U-Mann-Whitney. Letras diferentes significa que los promedios son significativamente distintos. 45
- Figura 12. Tamaño pétalo en las seis poblaciones muestreadas. Se graficó el promedio poblacional del tamaño del pétalo +/- 2 errores estándar. Las letras muestran los resultados de la Prueba a posteriori de Tukey. Letras diferentes significan que hay una diferencia significativa..... 47
- Figura 13. Tamaño despliegue floral en las seis poblaciones muestreadas. Se graficó el promedio poblacional del despliegue floral. Las letras muestran los resultados de la Prueba a posteriori de Tukey. Letras diferentes significan que hay una diferencia significativa. 49
- Figura 14. Longevidad floral en las seis poblaciones. Se graficó el promedio poblacional del tamaño del pétalo +/- errores estándar. Las letras muestran los resultados de la Prueba a posteriori de Tukey. Letras diferentes significan que hay una diferencia significativa..... 51
- Figura 15. Distribución de frecuencias de la proporción de fructificación respecto al tratamiento. Las letras corresponden a los resultados de la Prueba Chi-Cuadrado aplicada a los pares de tratamientos. Letras distintas significa medias significativamente diferentes, mientras que letras iguales significan medias iguales. 54

Figura 16. Número de visitas potenciales totales máximo para una flor a lo largo de su vida. 55

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Coordenadas de las poblaciones en estudio.....	26
Tabla 2. Proporción de fructificación en individuos a los que se les excluyeron los polinizadores. Los datos corresponden a los resultados por morfo y al total poblacional.....	42
Tabla 3. Proporción de morfos florales en las seis poblaciones. Los números entre paréntesis corresponden a los N muestrales. Las últimas columnas son el resultado de la Prueba de G y su significancia. * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$	43
Tabla 4. Lista de visitantes y sus tasas de visita floral según población (número de visitas/flor/10 min.)	46
Tabla 5. ANOVA para determinar el efecto de la altitud en la longitud del pétalo. ^a R cuadrado = 0,978.	48
Tabla 6. ANOVA para determinar el efecto de la altitud en el despliegue floral de <i>Oxalis compacta</i> . ^a R cuadrado = 0,529.....	49
Tabla 7. ANOVA para determinar el efecto de la altitud en la longevidad floral de <i>Oxalis compacta</i> . ^a R cuadrado = 0,934.....	51
Tabla 8. Resultados de la Regresión logística Ordinal.....	53
Tabla 9. Comparación entre lo esperado según la hipótesis APP y los resultados encontrados en el estudio en las distintas localidades.	59

RESUMEN

La gran variedad de sistemas reproductivos y apareamiento ha sido un tema crucial en la biología de la reproducción en plantas. ¿Cómo plantas pertenecientes a un mismo taxón difieren enormemente, mientras que plantas de diferentes taxa que conviven en una misma comunidad comparten rasgos similares en sus sistemas de reproducción? Es en este marco que se ha planteado que uno de los forzantes más importantes para los sistemas reproductivos es el clima, el cual se ha visto está estrechamente ligado a la disponibilidad de agentes bióticos que interactúan con las plantas y permiten el flujo de polen entre individuos de una población.

Así se han postulado diferentes hipótesis que podrían permitir dar una explicación a los patrones observados en las distintas comunidades. Por una parte se ha planteado la hipótesis de aseguramiento reproductivo, la cual hace referencia a que a medida que las condiciones bióticas y abióticas se tornan más restrictivas, las plantas pertenecientes a estas comunidades tenderían a una mayor probabilidad de autogamia. Por otra parte está la hipótesis de

aumento de la probabilidad de polinización (APP), la cual dice que mientras más restrictivas sean las condiciones bióticas y abióticas, las plantas desarrollarían mecanismos que les permitieran compensar estas restricciones y mantener la fecundación cruzada. Esta última hipótesis se ha planteado en especial para comunidades de alta montaña, las que a pesar de las restricciones del entorno, presentan una gran proporción de plantas alógamas. Una de estas especies corresponde a *Oxalis compacta*, la cual es el modelo de estudio de esta tesis. Como bien se ha documentado las restricciones en las condiciones ambientales en la cordillera se hacen cada vez más pronunciadas a medida que se aumenta en la altitud.

Oxalis compacta es una especie tristílica fuertemente autoincompatible y que se distribuye en el piso vegetacional andino superior (3.100-3.700 m.s.n.m.), el cual corresponde al límite superior de la vegetación de la Cordillera de los Andes de Chile central. Esta especie cumple con los supuestos de la hipótesis APP. Uno de los supuestos es la fuerte dependencia de (de) polinizadores para su reproducción, el que fue ampliamente comprobado por este estudio. Otro de los supuestos de la hipótesis es la distribución a lo largo de un gradiente altitudinal.

En esta tesis se evaluó como varían varios rasgos que compensarían las restricciones de este tipo de ambientes. Los rasgos evaluados corresponden al

tamaño floral, al tamaño del despliegue floral y a la longevidad floral, para lo cual se utilizaron seis poblaciones en la cordillera de los Andes de Chile central, tres de las cuales están ubicadas en altitudes cercanas a los 3.100 m.s.n.m. mientras que las otras tres estarían en altitudes cercanas a los 3.450 m.s.n.m. distribuidas en tres localidades, La Parva (LP), Valle Nevado (VN) y Piedra Numerada (PN).

Según la hipótesis APP a medida que aumenta la altitud, estos rasgos debieran aumentar cuantitativamente. Sin embargo, los resultados presentados en esta tesis muestran que estos no son consistentes con la hipótesis APP, a pesar de la gran diferencia altitudinal en la disponibilidad de servicio de polinización que presenta el sitio de estudio para la especie. La localidad de La Parva es la que se ajusta a la hipótesis APP ya que tanto el tamaño del despliegue floral y de la longevidad floral aumentan con la altitud. Sin embargo, la localidad de Valle Nevado no muestra diferencias significativas en los rasgos entre altitudes. Finalmente, en el caso de la localidad de Piedra Numerada, las diferencias en el tamaño floral irían en contra de la hipótesis APP, mientras que los demás rasgos no mostrarían variaciones significativas.

Por otra parte, se realizó un experimento en una de las poblaciones estudiadas, cuyo objetivo era profundizar en el papel que cumple la longevidad floral para esta especie. Los resultados obtenidos muestran que en esta población de *O.*

compacta se llega a un plató de fructificación luego de dos días de exposición a polinizadores y que este alcanzaría el 70% de fructificación.

Los datos son concluyentes de que los rasgos propuestos no estarían compensando las restricciones en el servicio de polinización que presenta la cordillera de los Andes de Chile central para esta especie. Es por esto que se propone en esta tesis la necesidad de indagar en otros atributos de vida de la especie que pueden estar jugando un papel preponderante en el éxito reproductivo de las poblaciones de la alta montaña. Dentro de los atributos que pueden estar influyendo en el éxito reproductivo de *O. compacta* está la extensión del período de floración, el carácter perenne de la especie y la formación de banco de semillas. Todos estos atributos pueden trabajar en conjunto para mantener las poblaciones de mayores altitudes.

ABSTRACT

The wide variety of reproductive and mating systems has been a crucial issue in plant reproductive biology. The fact that there are plants belonging to the same taxon that differ greatly, while plants from different taxa that coexist in the same community can share similar features in their reproductive systems, is still difficult to explain. It is within this framework that weather has emerged as one of the most important stressors for reproductive systems, which has been closely linked to the availability of biotic agents that interact with plants and enable the flow of pollen among individuals of a population.

Different hypotheses have been postulated to explain the patterns observed in various communities. On one hand there is a reproductive assurance hypothesis, which suggests that as biotic and abiotic conditions become more restrictive, plants belonging to these communities tend greater autogamy. On the other hand, the increased pollination probability (APP) hypothesis postulates that the more restrictive the biotic and abiotic conditions, the more mechanisms

are developed by plants to compensate for these restrictions and maintain cross-fertilization. This last hypothesis has been raised especially for mountain communities, which despite environmental restrictions, have a large proportion of cross-pollinated plants. One of these species is *Oxalis compacta*, which is model system for this study. As has been well documented, restrictions in environmental conditions in mountain environments become more important with increased altitude.

Oxalis compacta is a tristilic strongly self-incompatible species, distributed in the Andean upper floor (3.100-3700 m), which corresponds to the upper vegetation limit of the Andes of central Chile. This species meets the assumptions of the APP hypothesis. One of the assumptions is the strong dependence on pollinators for reproduction, which was amply proven by this study. Another of the assumptions of the hypothesis is the distribution along an altitudinal gradient.

In this thesis we evaluated how several features that compensates for the restrictions in these type of environments. The features evaluated were flower size, size of floral display and floral longevity, which were used for six populations in the Andes of central Chile, three of which are located at altitudes near 3,100 m while the other three inhabit at 3450 m, the later being distributed

in three locations, La Parva (LP), Valle Nevado (VN) and Piedra Numerada (PN).

According to the APP hypothesis as altitude increases, these traits should also increase quantitatively. However, the results for trait evaluations presented in this thesis are not always consistent with the APP hypothesis, despite the altitudinal difference shown for the availability of pollination service. The locality of La Parva showed greater affinity with the APP hypothesis, due to an increase in the size of floral display and floral longevity with altitude. However, the locality of Valle Nevado does not show significant differences in features between altitudes. Finally, for Piedra Numerada, differences in flower size contradict the APP hypothesis, while other features did not show significant variations.

Further more, an experiment was performed in one of the populations studied, aimed at deepening the understanding of the role of floral longevity. The results show that in this population, the species reaches a plateau of fruiting after two days of exposure to pollinators, reaching 70% of fruiting.

The data are conclusive in that the proposed features do not offset the restrictions of pollination service present in the Andes of central Chile for this species. That is why this study proposes the need to inquire into other life attributes of the species that may be playing a role in the reproductive success

of the populations in the high mountains. Among the attributes that may be influencing the reproductive success of *O. compacta* is the extension of the flowering period, the perennial nature of the species and seed bank formation. All these attributes can work together to keep higher altitudes populations.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Sistemas reproductivos en plantas

En las comunidades de plantas que han sido estudiadas en detalle se puede observar la coexistencia de una gran variedad de sistema sexuales entre las especies componentes. A modo de ejemplo, en un bosque deciduo tropical de México se encontraron nueve tipos de sexualidad floral, hermafroditas monostílicas y heterostílicas, ginomonoicas, andromonoicas, poligamomonoicas, monoicas, ginodioicas, androdioicas y dioicas (Bullock, 1985). Por otra parte, donde se ha determinado el sistema de reproducción experimentalmente, se puede encontrar un rango de situaciones entre las especies, variando desde la incompatibilidad genética hasta la autogamia. Por ejemplo, en la zona alpina de la Patagonia chilena, cerca del 30% de las especies estudiadas son autoincompatibles, en tanto que los restantes 70% son parcialmente autocompatibles, autógamas o agamospérmicas (Arroyo & Squeo, 1990).

Sumado a esta variación a nivel comunitario, se ha observado que plantas pertenecientes al mismo taxón pueden diferir en el sistema de reproducción; así, por ejemplo, el género *Schizanthus* (Solanaceae) presenta especies adaptadas a la fecundación cruzada que dependen de distintos vectores de polinización, pájaros, abejas, polillas, como especies que son capaces de autofecundarse (Perez et al., 2007); del mismo modo, el género *Solanum* de la misma familia presenta tanto especies autoincompatibles como autocompatibles, las que a su vez pueden o no presentar algún tipo de reproducción vegetativa (Vallejo-Marín & O'Brien, 2007). Incluso dentro de una misma especie se han descrito diferencias en el sistema de reproducción entre diferentes poblaciones (Eckert, 2002). Todo lo anterior indicaría que el sistema de reproducción de las plantas es un rasgo extraordinariamente lábil en un contexto evolutivo.

¿Cómo se explica esta gran diversidad de sistemas de apareamiento en las Angiospermas? Barrett (1998) explica que debido a la naturaleza sésil de las plantas, estas requieren vectores para transferir el polen, lo que origina una diversidad de adaptaciones asociadas con los agentes particulares involucrados, y estos a su vez se relacionan con diversos rasgos de historia de vida de las plantas con flores. Por otra parte, se propone que los sistemas reproductivos y los rasgos de historia de vida de las plantas están íntimamente relacionados con el ambiente en el que las especies se encuentran (Hagerup,

1951; Mosquin, 1966) considerando factores abióticos a gran escala, como el clima regional y factores bióticos que operan a una escala más local como la competencia interespecífica por polinizadores. Esta relación causa efecto entre el sistema de reproducción y el ambiente generalmente se ha explicado como selección mediada por polinizadores o limitación por polen (Kalisz & Vogler, 2003; Kalisz et al., 2004; García-Camacho.& Totland,2009).

1.2 Disponibilidad de servicio de polinización y los ecosistemas alpinos

La respuesta de las plantas a la disponibilidad de polinizadores ha sido un tema central para la ecología reproductiva de plantas, ya que estaría relacionada tanto con cambios en el sistema reproductivo como con la gran diversidad de flores en las Angiospermas (Barrett, 1998). Al respecto, la noción del aseguramiento reproductivo ha sido un paradigma dominante en la biología reproductiva desde la época de Charles Darwin. La hipótesis de aseguramiento reproductivo sugiere una tendencia hacia modos reproductivos independientes de polinizadores bióticos, autopolinización y reproducción asexual, cuando las condiciones abióticas son desfavorables o impredecibles para los polinizadores (Darwin, 1876; Hagerup, 1951; Mosquin, 1966; Richards, 1986; Zhang & Li, 2008). Esto dado que un insuficiente servicio de polinización generalmente estaría relacionado con una limitación en la producción de semillas de los

individuos de poblaciones que se reproducen de manera cruzada (Ashman et al., 2004), y la capacidad de autofecundación reduce la limitación por polen (Larson & Barrett, 2000). Cuando hay una escasez general de polinizadores en el ecosistema, se predice la evolución de la autogamia tipo temprana junto con la evolución de flores pequeñas, pérdida de herkogamia, y longevidad floral reducida. Cuando el recurso de polinizadores sufre grandes fluctuaciones interanuales y espaciales, puede evolucionar la autogamia tipo tardía, pero con la mantención de flores grandes y vistosas (Kalisz & Vogler 2003; Kalisz et al. 2004; Pérez et al. 2007).

Se ha descrito a los ambientes de alta montaña, como ambientes con bajas temperaturas del aire y del suelo (Körner, 2003), además de poseer una estación de crecimiento acotada (Bliss, 1971). Esto se traduce en una progresiva disminución en la abundancia, diversidad y actividad de los polinizadores sobre el límite arbóreo (Arroyo et al., 1982; Arroyo et al., 1985; Arroyo & Squeo, 1990; Totland, 1994; Totland, 1997). Sumado a esto se ha mostrado que en la zona andina, la tasa de visita floral decae conforme aumenta la altitud en la Cordillera de los Andes de Chile en tres diferentes latitudes, Chile central (Arroyo et al., 1985), la Patagonia y el Altiplano (Arroyo & Squeo, 1990).

Considerando los antecedentes antes mencionados y de acuerdo con la hipótesis de aseguramiento reproductivo (Darwin, 1876; Hagerup, 1951; Mosquin, 1966; Richards; 1986, Zhang & Li, 2008) se ha planteado que la autogamia sería favorecida entre las especies de alta montaña (Barry, 1981) y que éstas debieran presentar rasgos como una disminución progresiva del tamaño floral y de la longevidad floral a medida que se aumenta la altitud

1.3 Mecanismos compensatorios de las plantas en respuesta a la baja disponibilidad de polinizadores.

A pesar de todo lo antes mencionado, en hábitat de alta montaña, con bajas temperaturas del suelo y el aire, baja disponibilidad de polinizadores y corta estación de crecimiento, podemos encontrar especies cuyo sistema de reproducción es la autoincompatibilidad genética o la dioecia junto con especies autocompatibles que tienen una alta dependencia de polinizadores para su reproducción (Arroyo & Squeo, 1990; Bingham & Orthner, 1998; Gugerli, 1998; Körner, 1999; Arroyo et al., 2007; Torres-Díaz et al., 2007). Contraintuitivamente se ha observado que muchas especies de alta montaña muestran flores grandes y llamativas; incluso muchas de éstas asignarían proporcionalmente más recursos a estructuras reproductivas que a estructuras vegetativas (Fabbro & Korner, 2004). Lo anterior sugiere que las especies de alta montaña, en vez

de evolucionar en la dirección de la autogamia, adquirirían un conjunto de rasgos que les permitirían mantener la fecundación cruzada. De hecho existen estudios aislados que confirman que no hay diferencias en la producción de semillas a distintas altitudes en especies exógamas (Bingham & Orthner, 1998; Gugerli, 1998). Recientemente, se publicó un metanálisis sobre limitación por polen, en donde se comparan especies alpinas con especies de menores altitudes, encontrándose que no hubo una diferencia significativa entre ellas (García-Camacho & Totland, 2009). Dado estos elementos y sabiendo que el éxito reproductivo de las plantas polinizadas por animales depende de su capacidad de atraer polinizadores a las flores (Glaetli & Barrett, 2008) Arroyo et al. (1985, 2007) desarrollaron la hipótesis de "aumento en la probabilidad de polinización" (APP).

La hipótesis APP hace referencia a la adquisición de mecanismos compensatorios que aumentarían la atracción de polinizadores y/o la probabilidad de polinización, así asegurando la fecundación cruzada, en ambientes restrictivos para los polinizadores. Esto proporcionaría beneficios a nivel de la adecuación biológica de las plantas debido a la mayor cantidad o la mayor calidad de polen recibido o ambas.

Dentro de estos mecanismos compensatorios están el mayor tamaño floral, mayor número de flores por planta y un aumento de la longevidad floral conforme se incrementa la altitud.

1.3.1 Tamaño corola

A lo largo de gradientes altitudinales uno de los cambios estructurales de las plantas más conspicuos es la reducción del tamaño de éstas (Körner et al., 1989). Sin embargo, a pesar de la reducción en su tamaño, las especies de plantas de alta montaña tienden a invertir proporcionalmente más recursos en estructuras reproductivas (Fabbro & Körner, 2004).

El tamaño de la corola es un atributo importante en la biología reproductiva de las angiospermas. Así, diferencias geográficas en el tamaño de la corola entre poblaciones de una misma población se explica generalmente como selección mediada por polinizadores (Herrera, 2005). Es por esto que se cree que las plantas con flores grandes serían más exitosas reproductivamente, dado que la colecta y deposición de polen sería más rápida o más fiable. Existen estudios que muestran la preferencia de los polinizadores por flores de mayor tamaño (Bell, 1985; Elle & Carney, 2003; Arroyo et al., 2006; Molina-Montenegro & Cavieres 2006).

Se han reportado casos en que el tamaño de las flores es mayor en poblaciones de mayor altitud que en las de altitudes más bajas (Galen, 1989; Kudo & Molau, 1999; Blionis & Vokou, 2001).

Dado estos antecedentes se sugiere que uno de los rasgos que podría compensar la baja disponibilidad de polinizadores en la alta montaña es que el tamaño de las flores se tornen mayor a medida que se aumenta la altitud, lo que puede interpretarse como una manera de asegurar la atracción de los polinizadores (Fabbro & Korner 2004).

1.3.2 Despliegue floral

El despliegue floral ha sido definido como el número de flores abiertas al mismo tiempo en un individuo. Mientras más grande sea el despliegue floral, mayor será el número de señales visuales y olfatorias para atraer a los polinizadores (Arroyo et al. 2007). Además, un gran despliegue floral significaría una concentración local de recursos, ya sea néctar o polen, cosechable en un tiempo acotado y con un menor gasto energético (Ohashi & Yahara, 2001).

Existen antecedentes que revelan que los polinizadores preferirían despliegues florales mayores (Elle & Carney, 2003; Mitchell et al., 2004; Arroyo et al., 2007).

Por otro lado, existen otros trabajos que muestran que el despliegue floral sería un rasgo que presenta plasticidad adaptativa, dado que el número de flores estaría relacionado con la frecuencia de visita por parte de polinizadores. Según Harder & Johnson (2005) existe una relación inversa entre el número de flores por planta y la abundancia de polinizadores en el ambiente. Esta relación podría explicarse debido a que un mayor número de flores producidas estaría relacionado con un aumento en la atracción de sus visitantes. Por otro lado, cuando hay una alta abundancia de polinizadores, un número menor de flores por planta permitiría evitar la geitonogamia.

Dado lo anterior se puede esperar que a medida que se aumenta en altitud, con su concomitante disminución en la disponibilidad de polinizadores; aumentaría el tamaño de despliegue floral como un modo de compensación de este efecto de la altitud.

1.3.3 Longevidad floral

La longevidad floral corresponde al intervalo de tiempo que una flor permanece abierta en el campo con una apariencia fresca del perianto, estigma y estambres (Primack 1985; Giblin 2005). La longevidad floral es muy variable entre especies, encontrándose desde especies cuyas flores duran solo un día o

menos (por ejemplo *Oenothera acaulis* (Onagraceae)), pasando por longevidades intermedias (entre dos y siete días) como en algunas especies de Asclepiadaceae, hasta llegar a flores de larga vida (entre cuatro y 19 días) como en especies de Ericaceae, Saxifragaceae, Myrtaceae y Orchidaceae (Primack 1985). A diferencia de otros caracteres florales como el tamaño y forma de la corola, hasta el momento, hay relativamente pocos trabajos que han indagado sobre la significancia ecológica de la variación en la longevidad floral.

La longevidad de la flor determina la probabilidad y el número de veces que la flor será visitada bajo un cierto nivel de actividad de los polinizadores (Primack 1985; Schoen and Ashman 1995; Bingham and Orthner 1998). Mientras más tiempo se mantenga abierta una flor, más probabilidades de ser polinizada tiene (Primack 1985; Harder and Johnson 2005). Por otro lado, existe una relación entre longevidad floral y la tasa de visita a la que estén expuestas las flores. Esto último tiende a complicar la interpretación de muchos datos de longevidad floral en la literatura, ya que fueron tomados en flores expuestas a la polinización. Al respecto, Lundemo & Totland (2007) mostraron que en *Dryas octopetala* (Rosaceae) existe una relación inversa entre longevidad floral y tasa de visita floral, es decir que a mayor actividad de polinizadores, la longevidad floral disminuye y viceversa. Esto tiene sentido, ya que en experimentos de invernadero hay flores que senecen sólo después de la polinización manual (Primack, 1985). Por tanto, el tiempo que las flores permanecen abiertas está

en directa relación con la adecuación biológica de ésta, ya que durante este tiempo es que la flor puede polinizar sus óvulos y diseminar el polen (Ashman & Schoen, 1994).

Varios estudios muestran que la longevidad floral individual es un rasgo que aumenta con la altitud (Primack, 1985; Bingham & Orthner, 1998; Fabbro & Körner, 2004). Y en algunos trabajos existe evidencia de que puede compensar tasas de polinización menores (Bingham & Orthner, 1998). Bingham & Orthner (1998) han demostrado que pese a la menor diversidad y actividad de polinizadores en altitudes altas, la cantidad de fecundación se hace comparable a la de bajas altitudes debido a la compensación que significa un aumento en el tiempo de receptividad del estigma. Incluso algunos autores han sugerido que si se combina el incremento de la longevidad floral y/o el aumento del número de flores por planta, las plantas de mayores altitudes, podrían tener igual o mayor probabilidad de ser polinizadas que las de menores altitudes (Arroyo et al. 1985; Bingham & Orthner, 1998; Körner, 1999; Kudo & Molau, 1999; Utelli & Roy, 2000; Fabbro & Körner, 2004).

Considerando estos antecedentes es posible plantear que las especies de alta montaña compensan la disminución del servicio de polinización a nivel comunitario mediante un aumento altitudinal en la longevidad floral potencial.

1.4 Heterostilia como mecanismo de fecundación cruzada

Se espera que los rasgos compensatorios para contrarrestar la reducción altitudinal en la tasa de visita floral a altitudes mayores serían más desarrollados en especies que poseen un sistema de autoincompatibilidad genética homomórfica, un sistema de autoincompatibilidad heteromórfica o la dioecia. Los sistemas de autoincompatibilidad heteromórfica se refieren a los sistemas de incompatibilidad genética que se encuentran acoplados a la herkogamia recíproca o la llamada heterostilia, mientras que los sistemas homomórficos se asocian a flores monomórficas. En esta tesis se considera una especie heterostilica, y más específicamente, una especie tristilica.

Barrett (1990) define la heterostilia como un polimorfismo genético que da como resultado la herkogamia recíproca, es decir, las poblaciones de plantas heterostilicas están compuestas por dos (distilia) o tres (tristilia) morfos que difieren recíprocamente en la altura en la que se ubican los estigmas y las anteras en las flores como se presenta en la Figura 1. Darwin (1877) propuso que la herkogamia recíproca sería un mecanismo facilitador de la transferencia de polen cruzado entre anteras y estigmas del mismo nivel (Lloyd et al., 1990). La herkogamia recíproca se asocia con una serie de rasgos ancilares, tales como un polimorfismo de la papila estigmática, tamaño del polen y número de

granos producidos (Ganders, 1979; Barrett, 1990; Lloyd et al., 1990). La heterostilia ha sido reportada para unas 28 familias de angiospermas (Barrett & Shore, 2008).

La herkogamia reciproca suele estar ligada a un sistema de autoincompatibilidad dialéctico de control esporofítico que evita la autofecundación y la fecundación intramorfo. En muchas especies distílicas y tristílicas, la polinización es exitosa sólo cuando el polen es "legítimamente" transferido al estigma del mismo nivel que las anteras del cual procede (Lloyd et al., 1990). A diferencia de las especies con incompatibilidad homomórfica, en donde el apareamiento se puede concretar con cerca del 100% de los individuos en la población, en las especies heterostílicas las oportunidades de apareamiento son mucho más restrictivas. Lo anterior implica que restricciones en el servicio de polinización tendrían un impacto mayor en especies heterostílicas, comparadas con especies con autoincompatibilidad homomórfica. Por lo tanto, un especie heterostílica proporcionaría un buen modelo para poner a prueba la hipótesis APP, la problemática de esta tesis.

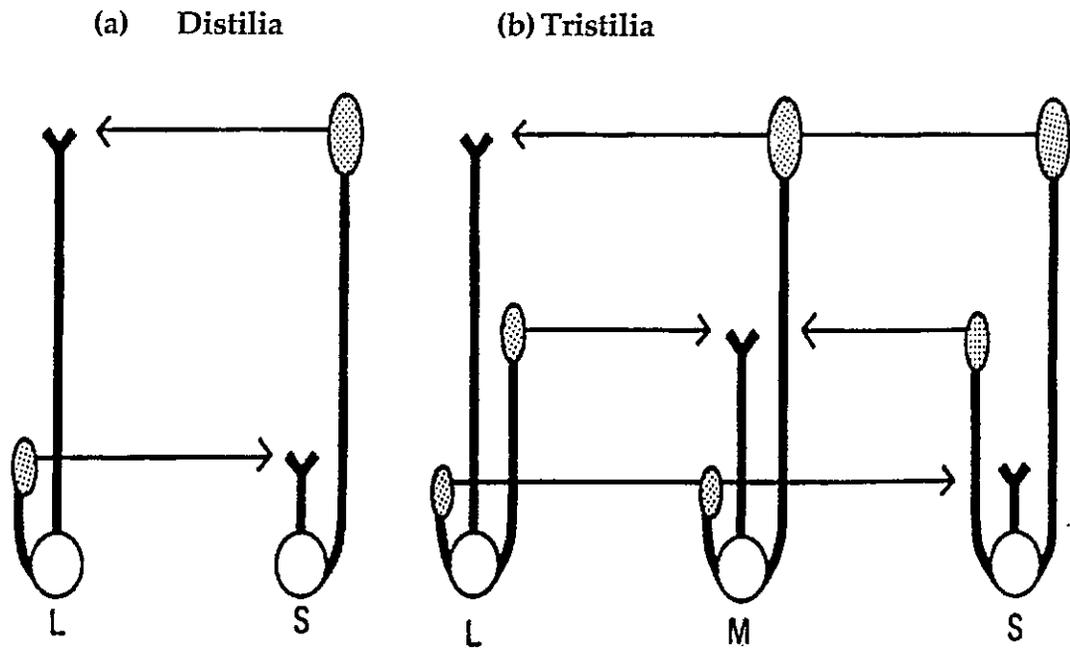


Figura 1. El polimorfismo genético heterostílico, distilia y tristilia. Polinizaciones legítimas (compatibles) están indicadas por las flechas; todas las otras combinaciones polen-pistilo resultan en una baja o nula producción de semillas. L, M y S se refieren a los morfos longi-, medi- y brevi- estilo, respectivamente. (a) Distilia está controlado por un solo locus con dos alelos. El morfo L es usualmente de genotipo ss y el morfo S Ss . (b) en la tristilia, el modo más común de herencia involucra dos loci dialélicos (S y M), con S epistático sobre M.

El hecho de poseer incompatibilidad heteromórfica asegurará un apareamiento simétrico lo que trae como consecuencia una proporción de morfos iguales en la población (isopleía) (Charlesworth, 1979; Fisher, 1941; Hodgins & Barrett, 2006a; Hodgins & Barrett, 2006b). Sin embargo, algunas especies heterostílicas pueden perder la incompatibilidad heteromórfica (Hodgins & Barrett, 2008), lo que puede incidir en la proporción de morfos presentes en la población.

Análisis teóricos proponen que la causa más probable de pérdida de algún morfo floral es que haya diferencias en la adecuación biológica de los distintos morfos florales (Weller et al., 2007). Esto puede ocurrir cuando los polinizadores discriminan entre morfos florales, cuando un morfo sufre más autofecundación lo que produciría depresión por endogamia de la progenie (Charlesworth, 1979) o cuando el transporte de polen no es simétrico lo que llevaría a limitación por polen en uno o dos morfos (Hodgins & Barrett, 2006a). Por otro lado, modificaciones en la incompatibilidad heteromórfica permitiría la producción de semillas viables de cruza ilegítimas lo que llevaría a la pérdida de un morfo floral, asumiendo por tanto flujo de polen ilegítimo y limitación por polen (Charlesworth, 1979). Todas estas alternativas pueden ser posibles bajo un escenario de limitación en el servicio de polinización, como ocurre en la alta montaña. Al cambiar la cantidad, actividad y diversidad de polinizadores a nivel comunitario, estos pueden comportarse de manera diferente frente a su

interacción con una especie heterostilica lo que traería como consecuencia que se produjera algunas de las posibilidades antes mencionadas.

2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Oxalis compacta Gillies ex Hook. & Arn. (Oxalidaceae) var. *compacta* es una hierba arrosetada que se encuentra en la zona andina superior de los Andes de Chile central entre 3.000-3.650 m.s.n.m. Ha sido descrita como anual-bianual (Lourteig, 2000), pero hemos observado individuos que presentan evidencia morfológica de mayor longevidad. Trabajos preliminares en una población muestran que *O. compacta* es una especie tristílica fuertemente autoincompatible (Arroyo, datos no publicados). Es polinizada principalmente por mariposas altoandinas y en menor cantidad por abejas (Arroyo et al., 1982). Sin embargo, a pesar de su autoincompatibilidad, y que tanto las condiciones bióticas como las abióticas son cada vez más restrictivas con la altitud (Körner, 2003), se encuentran bastas poblaciones de esta especie en la zona andina superior, con algunas poblaciones instalándose cerca del límite superior de la vegetación.

Considerando tanto la distribución altitudinal de la especie, como su sistema reproductivo, surge la interrogante si la existencia de esta especie a mayores altitudes está ligada a la adquisición de rasgos que compensen la disminución altitudinal del servicio de polinización a nivel comunitario descrito por Arroyo et al. (1985), tal como plantea en la hipótesis APP.

En esta tesis se estudian algunos de los rasgos florales de *O. compacta* que podrían tener un rol en la compensación de la disminución en el servicio de polinización en un rango altitudinal.

Para esto primero se determinó cuan generalizada es la dependencia de polinizadores por parte de esta especie, y si los tres morfos florales se mantienen en todas las poblaciones. Segundo, se cuantificaron las tasas de visita para determinar si estas reflejan las tendencias descritas anteriormente a nivel comunitario. Luego, se midieron los rasgos que cumplirían un papel en la compensación de la disminución en el servicio de polinización. Los rasgos estudiados son el tamaño floral, tamaño del despliegue floral y longevidad floral, y cómo estos podrían compensar la menor tasa de visita floral, para lo cual se estimó el número de visitas potenciales de una flor a lo largo de su vida.

Por último, con objetivo de profundizar en el papel que cumple la longevidad floral en esta especie y cómo esta se vincula con su éxito reproductivo, se

realizó un experimento que evalúa el éxito reproductivo de individuos expuestos a polinizadores de manera diferencial.

3 OBJETIVO GENERAL

Investigar si existen mecanismos compensatorios en los rasgos florales para contrarrestar la disminución altitudinal comunitaria de la tasa de polinización en *O. compacta* en los Andes de Chile central. A su vez, determinar si la proporción de las tres formas estilares y el grado de dependencia de polinizadores se mantienen constantes en dos altitudes en el piso andino superior de los Andes de Chile central.

4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para poblaciones ubicadas en el límite inferior del piso andino superior (3100 m.s.n.m.), y en el límite superior (3450 m.s.n.m.) en tres localidades en la Cordillera de los Andes de Chile central:

- a. Determinar el grado de dependencia de polinizadores.
- b. Determinar la frecuencia de plantas brevi-, medi- y longiestilo.
- c. Determinar la tasa de visita floral.
- d. Determinar el tamaño floral, el tamaño de despliegue floral y la longevidad floral.
- e. Realizar un experimento de campo para determinar si una mayor longevidad floral influye positivamente en la producción de frutos en *O. compacta*.

5 HIPÓTESIS

1. Dado que *O. compacta* presenta una fuerte autoincompatibilidad genética, a mayores altitudes se espera encontrar rasgos que permitan compensar la disminución en el servicio de polinización, tales como mayor longevidad floral, flores más grandes y aumento en el tamaño del despliegue floral.
2. Si la longevidad floral actúa como un mecanismo para compensar la reducción altitudinal en la tasa de visita floral de polinizadores, flores de *O. compacta* de plantas de la misma altitud, expuestas a distintos tiempos de polinización abierta, deberían mostrar diferencias en la producción de frutos.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Especie de estudio

Oxalis (Oxalidaceae) es un género cosmopolita con cerca de 500 especies, las que se distribuyen principalmente en África y Sudamérica (Lourteig, 2000). Las especies son en su mayoría tristílicas y distílicas.

La especie empleada como modelo de estudio en esta tesis es *Oxalis compacta*, descrita como hierba anual-bianual, arrosetada con tallos que sobrepasan el follaje. Sin embargo, nuestras observaciones sugieren que *O. compacta* puede vivir más de dos años. Presenta flores amarillas tristílicas pentámeras con los pétalos unidos. Se distribuye en Chile entre la Región de Coquimbo y la del Maule (Lourteig, 2000), siendo más abundante sobre los 2.000 m.s.n.m. Es polinizada principalmente por mariposas altoandinas y por abejas (Arroyo et al., 1982). Florece desde finales de Diciembre hasta comienzos de Marzo, dependiendo de la altitud (Arroyo et al., 1981), con los frutos madurando 3 a 4 semanas después de la antesis floral.

O. compacta se encuentra distribuida altitudinalmente en esta zona desde los 2.000 hasta los 3.650 m.s.n.m. En altitudes bajas (2.000-2.600 m.s.n.m.) predomina la variedad *berteroana*, mientras que en altitudes altas (3.000-3.650 m.s.n.m.) sólo se encuentra la variedad *compacta*. Este estudio se focalizó en *O. compacta* var. *compacta*, que, como se puede apreciar, alcanza mayores altitudes que la variedad *berteroana*. Estudios preliminares en una población muestran que *O. compacta* var. *compacta* es fuertemente autoincompatible en la zona de estudio.



Figura 2. Individuo de *Oxalis compacta* sector La Parva Baja (LPB).

6.2 Lugar de estudio

La adquisición de los datos, así como los experimentos de terreno se realizaron en la zona de la Cordillera de los Andes de Chile central, a los 33° S, a 50 km. al este de Santiago en tres localidades, cada una abarcando un gradiente entre los 3.100 y 3.500 m.s.n.m. Los estudios se realizaron en los meses de verano (Diciembre -Febrero).

Se escogieron seis poblaciones ubicadas en dos altitudes (entre los 3.100 – 3.140 y 3.400-3.470 m.s.n.m.), es decir, 2 altitudes x 3 localidades. Las localidades, corresponden a lo que denominamos sector La Parva, sector Valle Nevado y sector Piedra Numerada (Figura 3. y Tabla 1.).

Las poblaciones en estudio son:

- La Parva Alta (LPA)
- La Parva Baja (LPB)
- Valle Nevado Alto (VNA)
- Valle Nevado Bajo (VNB)
- Piedra Numerada Alta (PNA)
- Piedra Numerada Baja (PNB)

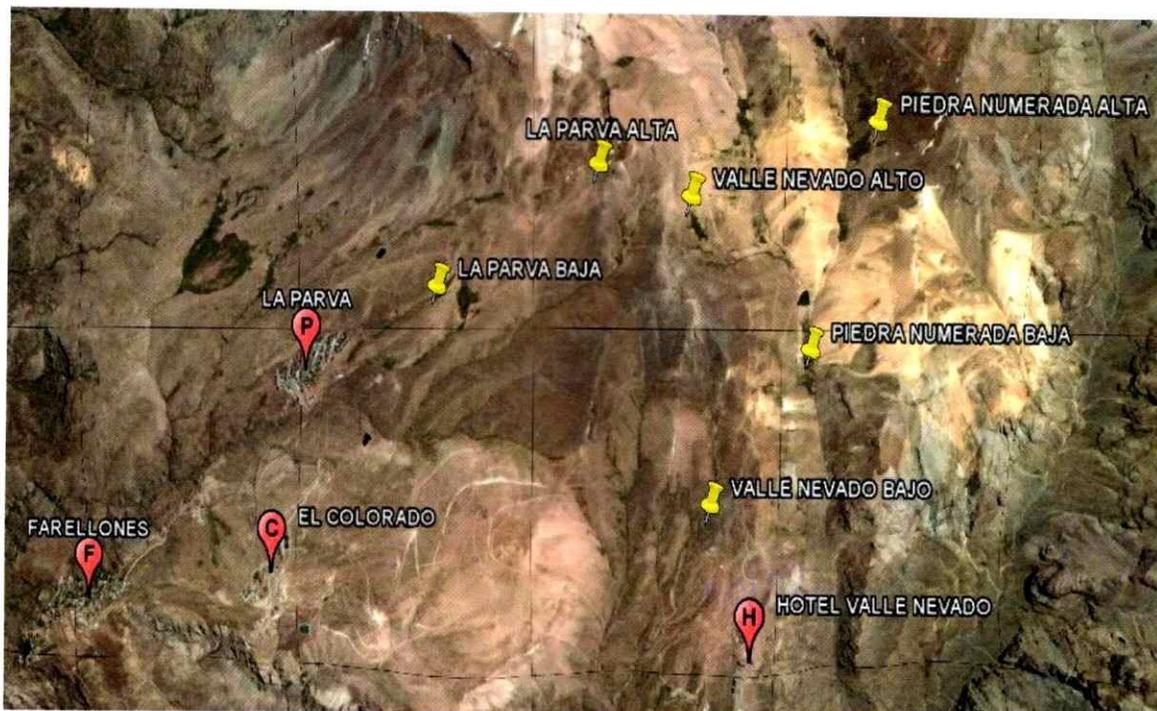


Figura 3. Los puntos amarillos corresponden a las seis poblaciones utilizadas en el estudio. Los puntos rojos son lugares referenciales para identificar la zona de estudio.

Tabla 1. Coordenadas de las poblaciones en estudio.

Localidades	Poblaciones	Latitud Sur	Longitud Oeste	Altitud (m.s.n.m.)
La Parva	LPB	33° 19' 50,84"	70° 16' 17,66"	3.100
	LPA	33° 19' 24,57"	70° 15' 47,4"	3.450
Valle Nevado	VNB	33° 20' 40,23"	70° 15' 10,67"	3.140
	VNA	33° 19' 31,4"	70° 15' 18,3"	3.450
Piedra Numerada	PNB	33° 20' 4,48"	70° 14' 38,94"	3.110
	PNA	33° 19' 14,87"	70° 14' 20,28"	3.470

6.3 Clima general del área de estudio

En general el clima de Chile central puede describirse como mediterráneo (di Castri & Hajek, 1976), dado que es un clima de la zona extra tropical, fuertemente estacional, con concentración de las precipitaciones en los meses de invierno (Aceituno, 1992) y con sequía en los meses de verano. Por otra parte, el régimen pluviométrico se caracteriza por una alta variabilidad interanual, la que se explica por la Oscilación del Sur (Aceituno, 1990; Aceituno, 1992). Acotando la caracterización al clima de la cordillera de Chile central, este se ha descrito como clima alpino con influencia mediterránea, teniendo una precipitación de 431 mm. a los 2.400 m.s.n.m., predominando la nieve en los meses de invierno (Muñoz et al., 2005). De manera más específica, el clima de la alta montaña de la Región Metropolitana ha sido clasificado como templado mediterráneo microtermal subhúmedo (Santibáñez & Uribe, 1990). La principal característica del clima de alta montaña es el progresivo enfriamiento de la temperatura del aire con el aumento en la altitud, fenómeno denominado tasa de enfriamiento adiabático del aire (Barry, 1981). La tasa de enfriamiento adiabático en la cordillera de Chile central reporta un valor promedio de 6,1°C/km, con variaciones estacionales, con valores máximos en los meses de verano (7°C/km) y mínimos en los meses de invierno (4°C/km) (Cavieres & Arroyo, 1999). Estos valores de enfriamiento adiabático están dentro de lo

esperado para zonas montañosas de latitudes templadas, en las que se ha determinado un valor promedio de 6°C/km (Barry, 1981).

6.4 Dependencia de los polinizadores

Para determinar el nivel de dependencia de los polinizadores, se montó un experimento de exclusión de polinizadores en las seis poblaciones. Se tomaron 18 individuos por población (seis del morfo longiestilo, mediestilo y breviestilo, respectivamente), a los que se marcaron cinco yemas florales en la tarde del día antes de la antesis, pudiendo reconocer la edad de las yemas por algunas particularidades morfológicas. Una vez marcadas la yemas con hilos de algodón de diferentes colores, se puso el dispositivo de exclusión de polinizadores al los individuos. El dispositivo permite el paso de la luz y del aire (Figura 4.). Aproximadamente dos-tres semanas más tarde, se colectaron los frutos y se determinó el porcentaje de frutos formados para las flores marcadas que no habían sufrido un daño externo. Para minimizar el efecto de variación climática estacional en el desarrollo de los frutos, se marcaron las yemas de la población baja y alta en cada una de las tres localidades el mismo día o en dos días consecutivos. Este mismo diseño experimental fue usado simultáneamente para determinar la longevidad potencial de las flores (ver más adelante).



Figura 4. Dispositivo para exclusión de polinizadores, bolsa de muselina.

6.5 Determinación de la frecuencia de morfos estilares

Para la determinación de la frecuencia de morfos estilares (Figura 5.) se realizaron censos de los individuos de *O. compacta* en las seis poblaciones. Estos censos se llevaron a cabo en dos modalidades, dependiendo de la población. En algunos casos se hicieron observaciones directas en el campo (en las localidades de LP y VN), mientras que en la localidad de PN se tomaron muestras de flores maduras (una por individuo) las que se conservaron en alcohol al 70%. Posteriormente las muestras de flores conservadas en alcohol fueron observadas a la lupa para determinar el morfo de cada una. El muestreo mínimo fue de 350 plantas por población. Como es de esperar en una especie

heterostílica, no se observó ningún caso en donde un individuo poseyera más de un morfo floral, validando la selección de una flor por planta.



Figura 5. Morfos estilares in situ. La flor rotuladas B corresponde a breviestilo; la rotulada M, a mediestilo y la rotulada L a longiestilo.

6.5.1 Análisis de los datos

Para determinar si existe desviaciones de la isoplefía (igual proporción de cada morfos en la población) en la representación de los morfos estilares en las poblaciones se aplicó una prueba de G a los datos obtenidos (Weller et al., 2007).

6.6 Tasa de visita floral

Para determinar las tasas de visita floral, se establecieron dos cuadrantes de 50 cm x 50 cm en el medio de la población con una densidad de aproximadamente 10 individuos por cuadrante (Figura 7.). Se utilizaron ventanas temporales de 10 minutos alternando con cinco minutos de descanso entre ventanas para cuantificar la actividad de los visitantes. Al principio de cada ventana temporal se contó el número de flores abiertas en todos los individuos en flor. Dos observadores registraron los visitantes que llegaron a las flores abiertas, registrando la identidad y el comportamiento del insecto visitante durante su visita. Las observaciones abarcaron dos-tres días despejados en cada una de las poblaciones estudiadas (es decir, un total de 14 días de observación).

6.6.1 Análisis de los datos

Dado que los datos se desviaron fuertemente de la normalidad, se les aplicó la prueba no paramétrica U-Mann-Whitney entre pares en poblaciones de la misma localidad. Los análisis se realizaron en el software SPSS 17.0.

6.7 Medición de rasgos compensatorios

6.7.1 Tamaño pétalo

Para la medición del tamaño de corola se midió la longitud del pétalo, dado que el diámetro de la corola abierta en el campo depende fuertemente de la radiación y la temperatura, y exige la toma de muestras en una hora estandarizada. Por lo que se tomó una flor de cada una de 20 plantas por morfo en cada población, las que fueron seleccionadas al azar y fueron conservadas en alcohol al 70%. Luego estas fueron medidas bajo microscopio estereoscópico provisto de una regleta graduada. Se tomó la longitud de tres pétalos por muestra (Figura 6.), restringiéndose a este número. Dada la probabilidad que se rompan algunos pétalos en el momento de disectar la corola.

6.7.1.1 Análisis de datos

Se realizó un ANOVA para diseño en bloques de una vía, donde la variable respuesta es la longitud del pétalo (promedio de los tres pétalos medidos por flor), el factor o vía es la altitud y el bloque sería la localidad de pertenencia de la población. Los análisis se realizaron en el software SPSS 17.0. Luego se realizó una prueba de Tukey para determinar dónde se encontraron las diferencias. Análisis preliminares de las poblaciones individuales mostraron que no hay efecto del morfo en el tamaño de la flor, por lo que este rasgo no fue evaluado a nivel general.

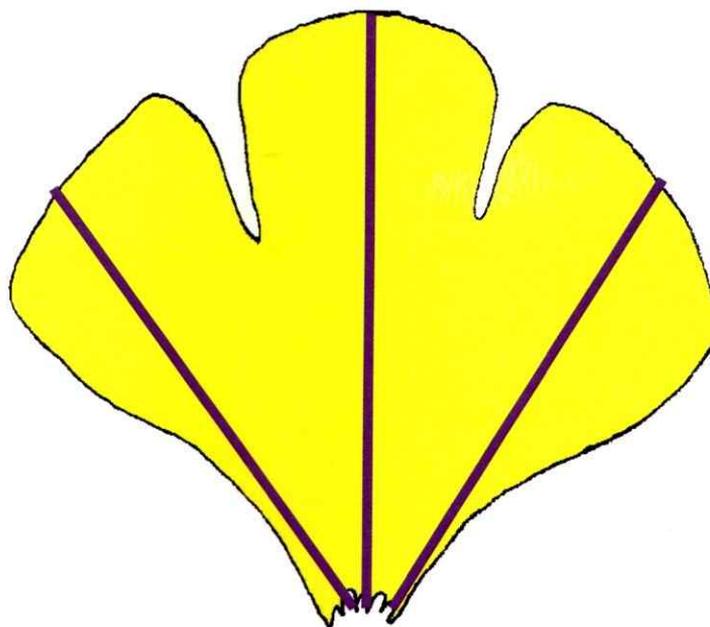


Figura 6. Medición de longitud de pétalos, para evaluar el tamaño de la flor en *Oxalis compacta*. Las líneas moradas corresponden al sentido en que se realizó la medición.

6.7.2 Tamaño despliegue floral

En cada una de las seis poblaciones estudiadas se establecieron diez cuadrantes de 50 cm x 50 cm los que se ubicaron en el centro de cada población (Figura 7) para evitar efectos de borde. En cada cuadrante se cuantificó el número de plantas y flores abiertas de cada individuo en flor. Las mediciones se registraron en la época de máxima floración (Enero-Febrero, observación personal) en cada población.



Figura 7. Cuadrante de cuantificación de despliegue floral y de observación de visitas florales.

6.7.2.1 Análisis de datos

Se realizó un ANOVA para diseño en bloques de una vía, donde la variable respuesta es el tamaño del despliegue floral, expresado como el número de flores por planta, el factor o vía es la altitud y el bloque sería la localidad de pertenencia de la población. Los análisis se realizaron en el software SPSS 17.0.

6.7.3 Longevidad floral

Dado que diferencias en el nivel de actividad de los polinizadores pueden afectar la longevidad de las flores, para detectar un posible aumento en la longevidad floral con la altura, a diferencia de la mayoría de estudios previos, se determinó la longevidad *potencial* de las flores. En cada población estudiada se escogieron 18 plantas (seis de cada morfo estilar), a las que se le excluyeron polinizadores con el dispositivo de exclusión antes descrito. En cada planta se marcaron 5 yemas florales con hilos de colores diferentes las cuales se siguieron individualmente cada día durante todo el periodo de apertura floral, es decir, desde que abre la flor hasta que esta senece. Para minimizar el efecto de variación estacional en la temperatura sobre la longevidad floral, se marcaron las yemas de la población baja y alta en cada una de las tres localidades el mismo día o en dos días consecutivos. Los experimentos en las tres localidades abarcaron un periodo de seis semanas.

6.7.3.1 Análisis de datos

Se realizó un ANOVA para diseño en bloques de una vía, donde la variable respuesta es la longevidad floral, días que permanece la corola abierta (se tomó el promedio de las cinco flores o del número que sobrevivió sin daño por planta), el factor o vía es la altitud y el bloque sería la localidad de pertenencia de la población. Los análisis se realizaron en el software SPSS 17.0. Análisis preliminares de cada población en estudio mostraron que el N muestral de cada morfo no permitía realizar análisis para determinar la incidencia del morfo en la longevidad floral, por lo que se decidió no tomar este rasgo de los individuos en el análisis general de los datos.

6.8 Experimento de exposición diferencial a polinizadores

Durante la temporada estival 2007-2008, se realizó el experimento en la población LPB. Se tomaron al azar 30 individuos de cada morfo (brevis-, medi- y longiestilo) dando un total de 90 plantas. En cada individuo se establecieron cuatro tratamientos, con el fin de evaluar el efecto de la longevidad floral en la formación de frutos (Figura 8.). Los tratamientos corresponden a exposición a polinización abierta durante cero, uno, dos y tres días. Se instaló el experimento a lo largo de un período de cinco días: a medio día del primer día, se quitaron las flores abiertas de cada individuo, dejando sólo yemas florales. A medio día del segundo día, se identificaron las flores que habían abierto ese día, de las

cuales se marcaron tres (Figura 9.) y el resto se quitaron. Así de la misma manera en los días sucesivos. Al quinto día se marcaron tres yemas florales y se cubrió el individuo con el dispositivo de exclusión de polinizadores. Luego de dos a tres semanas se colectaron los frutos casi maduros. Lamentablemente hubieron casos de pérdida de flores marcadas (aprox. 30%). Se cuantificaron cuantos frutos se produjeron en cada individuo por tratamiento. Cuando quedaron dos flores de las tres marcadas, se cuantificó el porcentaje de frutos en bases a N = 2. En los casos de pérdida de dos o más flores marcadas, se eliminó la muestra.

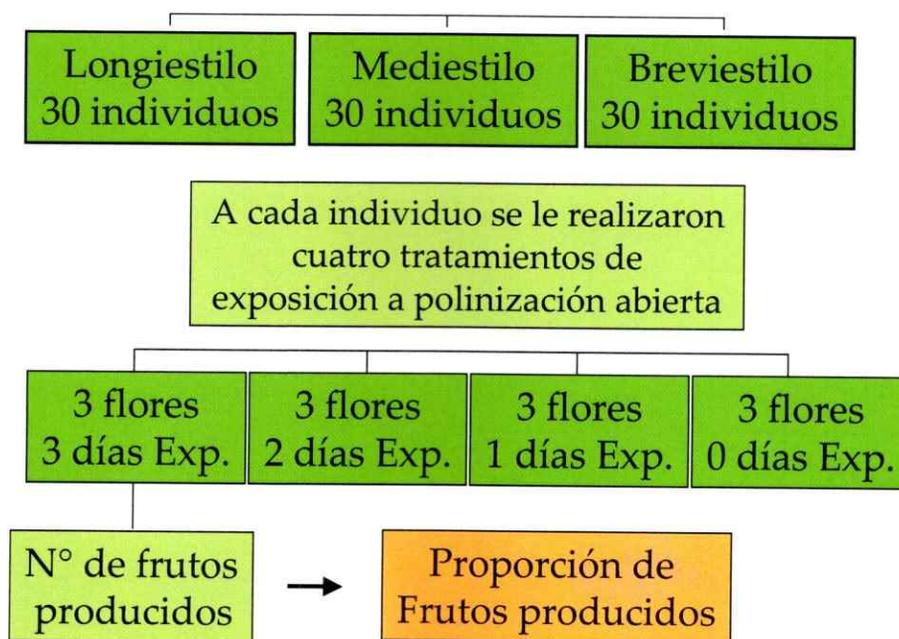


Figura 8. Esquema del diseño experimental del experimento de exposición diferencial a polinizadores.

6.8.1 Análisis de los datos

Usando la proporción de frutos formados (por tratamiento por planta), se realizó un Análisis de Regresión Logística Ordinal (Programa JMP, 6.0). Luego, se aplicó una Prueba Chi-Cuadrado entre pares de tratamientos.



Figura 9. Marcaje de yemas para el experimento de exposición diferencial a polinizadores. La figura muestra los hilos de algodón que se utilizaron para la distinción de las yemas que participaron del experimento. Cada tratamiento fue distinguido con un color distinto de hilo, lo que indicaba el número de días expuestas.



Figura 10. Fruto de *O. compacta*; izquierda: una flor que no formó fruto; derecha: fruto maduro.

6.9 Comparación de niveles de polinización

Con los datos de longevidad potencial de las flores y las tasas de visitas, se procedió a determinar el número de visitas por flor absoluto esperado para cada población. Ello para determinar si la longevidad compensa las diferencias en las tasas de visita floral. El número de visitas por flor fue calculado en base a:

$$\text{Visitas por flor durante su vida} = \text{Tasa de visita} \times \text{Tiempo de apertura} \\ \text{floral diaria} \times \text{Longevidad floral.}$$

La tasa de visita utilizada fue el promedio del número de visitas/10 min/flor, mientras que el tiempo de apertura floral diario utilizado fue el número promedio de observaciones de 10 minutos por día, ya que el tiempo de apertura floral durante el día varía según población. Por otra parte, el número de observaciones de 10 minutos reflejan el tiempo en que las flores permanecieron abiertas durante un día.

7 RESULTADOS

7.1 Dependencia de polinizadores

En este experimento, las flores marcadas en individuos a los cuales se excluyeron polinizadores no presentaron producción de frutos o la producción de frutos fue casi nula (Tabla 2.), restringiéndose a dos poblaciones y a los morfos medi- y breviestilo. Las poblaciones que formaron frutos corresponden al nivel altitudinal bajo (LPB = 3,23%; VNB = 3,2%). Los resultados confirmarían la alta dependencia de polinizadores de *O. compacta* para su éxito reproductivo tanto en el límite inferior, como superior de la zona andina superior, y ninguna tendencia hacia autogamia en las poblaciones de mayor altitud.

Tabla 2. Proporción de fructificación en individuos a los que se les excluyeron los polinizadores. Los datos corresponden a los resultados por morfo y al total poblacional.

Localidad	Población	Morfos	Plantas	Flores	Frutos	% fructificación
La Parva	LPB	Brevi-	6	24	1	4,2
		Medi-	5	14	1	7,1
		Longi-	6	23	0	0,0
		Total	17	61	2	3,23
	LPA	Brevi-	6	23	0	0
		Medi-	6	23	0	0
		Longi-	6	19	0	0
		Total	18	65	0	0
Valle Nevado	VNB	Brevi-	6	23	0	0
		Medi-	6	20	2	10,0
		Longi-	6	20	0	0
		Total	18	71	2	3,2
	VNA	Brevi-	6	17	0	0
		Medi-	5	12	0	0
		Longi-	4	13	0	0
		Total	15	42	0	0
Piedra Numerada	PNB	Brevi-	6	24	0	0
		Medi-	6	21	0	0
		Longi-	6	20	0	0
		Total	18	65	0	0
	PNA	Brevi-	6	22	0	0
		Medi-	6	19	0	0
		Longi-	6	22	0	0
		Total	18	63	0	0

7.2 Determinación de proporción de morfos florales

Todas las poblaciones censadas presentaron los tres morfos típicos de una especie tristílica. Las poblaciones son en su mayoría isopléticas (Tabla 3). Las únicas que presentaron desviaciones de la isopleía fueron VNA y PNB. La primera, VNA, muestra una pequeña disminución en la proporción de individuos mediestilo; mientras que PNB, muestra un pequeño aumento en la proporción de individuo longiestilo. Sin embargo, no hubo ninguna tendencia altitudinal en los resultados, indicando que la tristilia se manifiesta en todo el rango de distribución de la especie.

Tabla 3. Proporción de morfos florales en las seis poblaciones. Los números entre paréntesis corresponden a los N muestrales. Las últimas columnas son el resultado de la Prueba de G y su significancia. * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$.

Localidad	Población	N muestral	Morfos			G	p
			Breviestilo	Mediestilo	Longiestilo		
La Parva	LPB	838	0,32	0,34	0,35	0,98	0,61
	LPA	1883	0,35	0,31	0,34	4,87	0,09
Valle Nevado	VNB	664	0,35	0,32	0,33	0,92	0,63
	VNA	921	0,34	0,28	0,37	11,67	0,0029**
Piedra Numerada	PNB	766	0,31	0,31	0,38	7,74	0,0208*
	PNA	366	0,30	0,35	0,35	2,13	0,63

7.3 Tasa de visita floral

La cuantificación de la tasa de visita floral se realizó en la temporada estival 2008-2009, la cual correspondió a un año excepcional climáticamente hablando. Se realizaron 92, 111, 70, 76, 65 y 86 bloques de diez minutos de observación en LPA, LPB, VNA, VNB, PNA y PNB, respectivamente. Las diferencias en los tamaños muestrales obedecen a diferencias en el tiempo que permanecen abiertas las flores durante el día en las distintas poblaciones. La tasa de visita promedio de las seis poblaciones es de 0,031 visitas/flor/10 min. La localidad que presenta la mayor tasa es VNB, cuya tasa es de 0,11 visitas/flor/10 min., mientras que las localidades de VNA y PNA presentan tasas cercanas a cero. Como se observa, en todas las localidades la tendencia es que a mayor altitud, menor es la tasa de visita, desde luego, con grandes diferencias entre las tres localidades. Estos resultados concuerdan con las tendencias reportadas a nivel comunitario (Arroyo et al., 1985; Arroyo & Squeo, 1990) para tres diferentes gradientes en los Andes.

Los visitantes observados se listan en la Tabla 4.

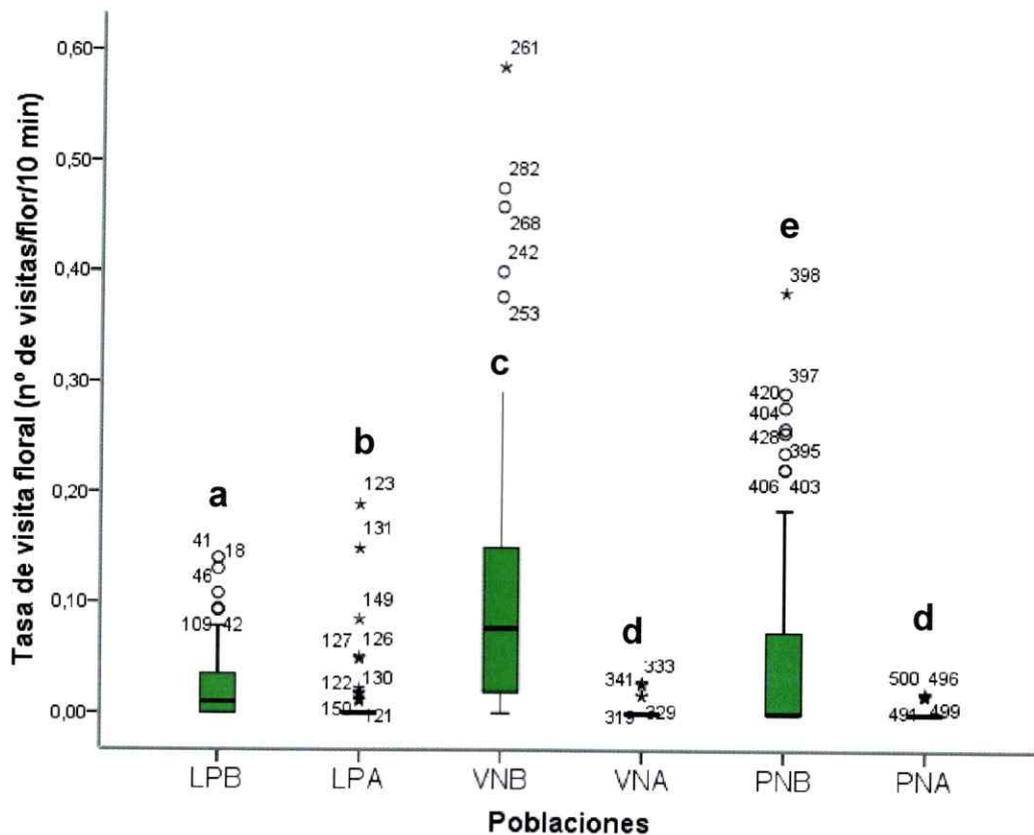


Figura 11. Diagrama de caja de Tasa de visita floral. Se muestra el promedio del número de visitas correspondientes a una flor durante 10 minutos de observación. La barra negra sólida corresponde a la media de los datos, los extremos de las cajas son los valores de Q1 y Q3. Las líneas que se extienden desde las cajas son el límite superior e inferior que identifican a los valores atípicos. Los valores atípicos están representados por ° y los valores extremadamente atípicos por *. Las letras representan el resultado de la Prueba U-Mann-Whitney. Letras diferentes significa que los promedios son significativamente distintos.

Tabla 4. Lista de visitantes y sus tasas de visita floral según población (número de visitas/flor/10 min.)

Orden	Familia	Especie	LPB	LPA	VNB	VNA	PNB	PNA
Diptera	-	No identificado	0,00659	0,00056	0,02108	-	0,0006	-
	Melyridae	<i>Arthrobranchus sp.</i>	-	0,00086	-	-	-	-
Coleóptera	-	No identificado	0,00957	-	0,0546	-	-	-
Himenóptera	Andrenidae	<i>Liphanthus sp.</i>	0,01049	0,00363	0,0252	-	0,0674	-
Lepidóptera	Pieridae	<i>Phulia nymphula</i>	-	0,000009	-	-	-	-
		Otro	-	-	-	0,00132	-	0,00076

7.4 Medición de rasgos compensatorios.

7.4.1 Tamaño pétalo.

El promedio de tamaño de pétalo de las seis poblaciones es de 8,88 mm de longitud, con un valor máximo de 9,99 mm en la población de LPB y un valor mínimo de 4,93 mm en la población de PNA (Figura 11.). Al contrario de lo esperado bajo la hipótesis APP, la tendencia es que las flores pertenecientes a poblaciones de altitudes mayores presenten una longitud de pétalo menor. El análisis de varianza muestra que tanto el efecto del bloque (localidad de pertenencia), como el de la altitud son significativos (Tabla 4.). Sin embargo, al realizar la Prueba a posteriori de Tukey, esta revela que la diferencia entre poblaciones está focalizada. El único bloque que muestra una diferencia significativa entre las dos altitudes es la localidad de PN; a mayor altitud, menor

longitud del pétalo. En los demás bloques no hay diferencias significativas entre las altitudes. Resumiendo, no existe evidencia alguna para un aumento altitudinal en el tamaño floral en *O. compacta*.

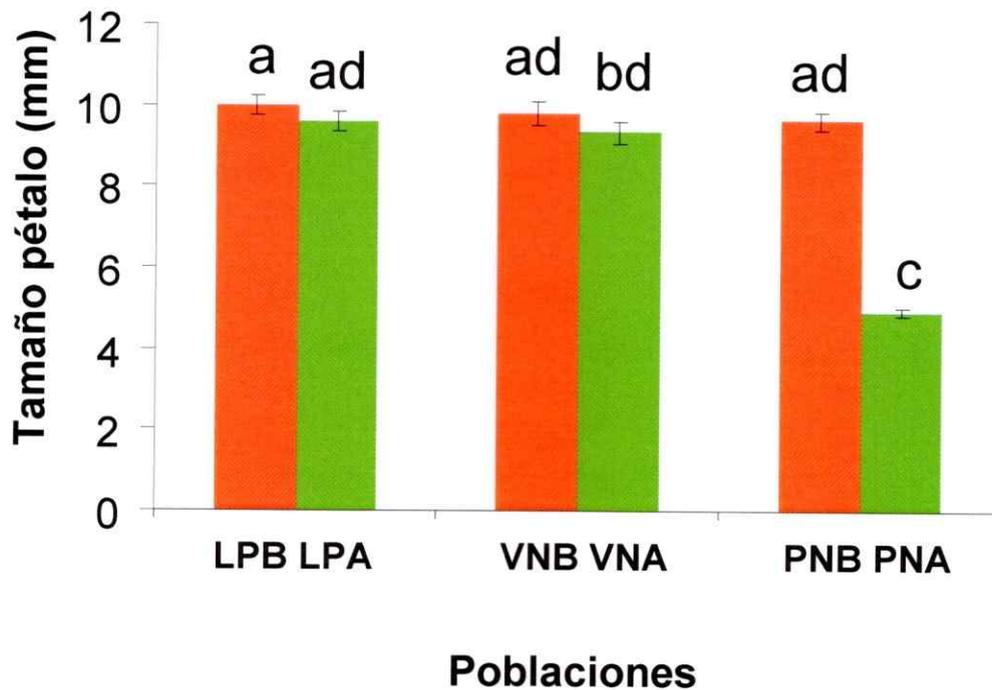


Figura 12. Tamaño pétalo en las seis poblaciones muestreadas. Se graficó el promedio poblacional del tamaño del pétalo \pm 2 errores estándar. Las letras muestran los resultados de la Prueba a posteriori de Tukey. Letras diferentes significan que hay una diferencia significativa.

Tabla 5. ANOVA para determinar el efecto de la altitud en la longitud del pétalo.
^a R cuadrado = 0,978.

Fuente de variación	Suma de los cuadrados tipo III	gl	Cuadrados medios	F	p
<i>Modelo</i>	29151 ^a	4	7287,98	4028,1	<0,001
<i>Gradiente</i>	456,29	2	228,14	126,10	<0,001
<i>Altitud</i>	310,02	1	310,02	171,35	<0,001
<i>Error</i>	644,11	356	1,81		
<i>Total</i>	29796,04	360			

7.4.2 Tamaño despliegue floral.

Debido a la tendencia de *O. compacta* de florecer al primer año, existe una gran variación en el número de flores abiertas por planta, fluctuando entre una y 12. El promedio del tamaño del despliegue floral de las seis poblaciones es de 2,92 flores por planta, con un valor promedio máximo de 5,15 flores por planta en la población de LPA y un valor mínimo de 1,47 flores en la población de LPB (Figura 12.). El ANOVA de una vía para diseño en bloques (Tabla 5.) muestra que la varianza de los datos obtenidos de despliegue floral no se explicaría ni por los bloques (localidades), ni por la altitud, es decir, los datos no muestran un patrón respecto a estas variables. Sin embargo, tanto el valor del promedio mínimo y el máximo se encuentran en LPB y LPA respectivamente (Figura 12.).

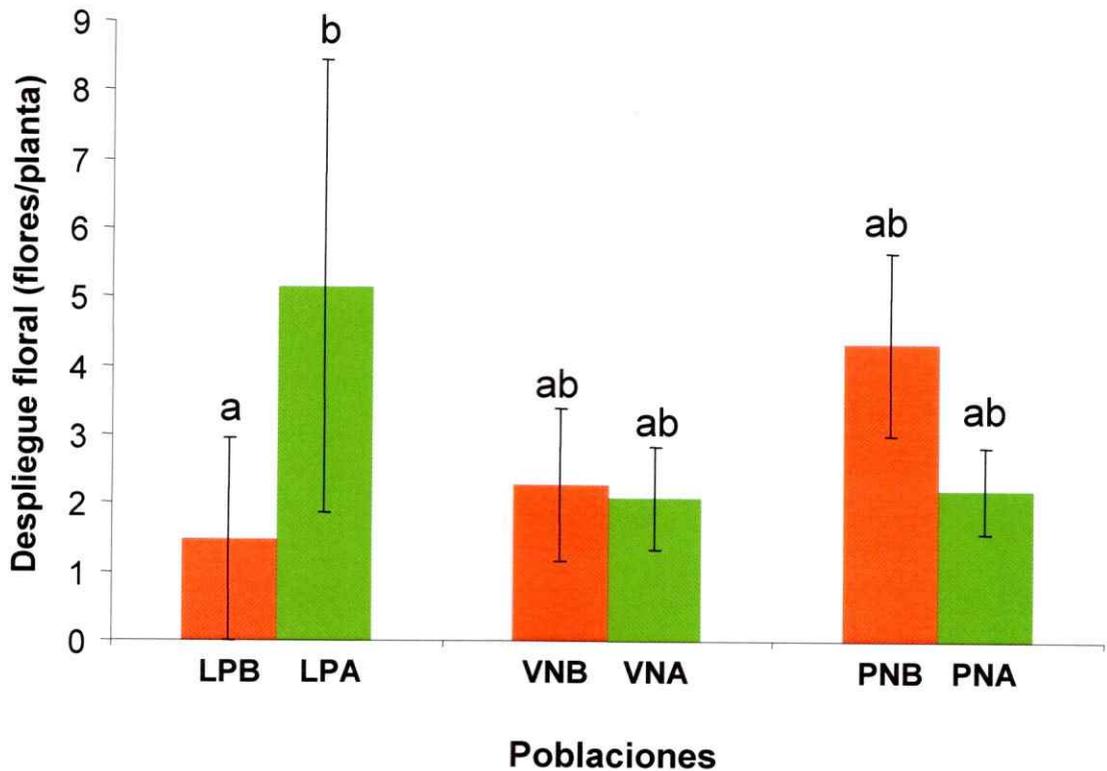


Figura 13. Tamaño despliegue floral en las seis poblaciones muestreadas. Se graficó el promedio poblacional del despliegue floral. Las letras muestran los resultados de la Prueba a posteriori de Tukey. Letras diferentes significan que hay una diferencia significativa.

Tabla 6. ANOVA para determinar el efecto de la altitud en el despliegue floral de *Oxalis compacta*. ^a R cuadrado = 0,495

Fuente de variación	Suma de los cuadrados tipo III	gl	Cuadrados medios	F	p
<i>Modelo</i>	520,53 ^a	4	130,13	15,133	<0,001
<i>Gradiente</i>	20,13	2	10,06	10,215	0,304
<i>Altitud</i>	2,15	1	2,15	0,259	0,613
<i>Error</i>	463,83	56	8,28		
<i>Total</i>	984,36	60			

7.4.3 Longevidad floral

Como se explicó en la metodología, la longevidad de las flores se tomó a individuos a los que se excluyó los polinizadores con el fin de determinar cual era la longevidad potencial de las flores. El valor promedio de longevidad floral potencial de las seis poblaciones es de 3,18 días de apertura. LPA presenta el valor máximo de longevidad, cuyo valor corresponde a los 4,04 días de apertura, mientras que el mínimo lo presenta VNA, con un valor de 2,26 días. No hay un patrón altitudinal claro dentro de las tres localidades (Figura 13.), a pesar que se montó los experimentos en las dos poblaciones en cada localidad el mismo día (o dos días consecutivos). El ANOVA de una vía para diseño en bloques (Tabla 6.) muestra que la varianza de los datos obtenidos de longevidad floral, estaría explicado por los bloques (localidades). Sin embargo la Prueba a posteriori de Tukey indica una diferencia altitudinal significativa en la localidad LP, que iría en correspondencia con la hipótesis APP, mientras las otras dos localidades, no presentan diferencias altitudinales significativas.

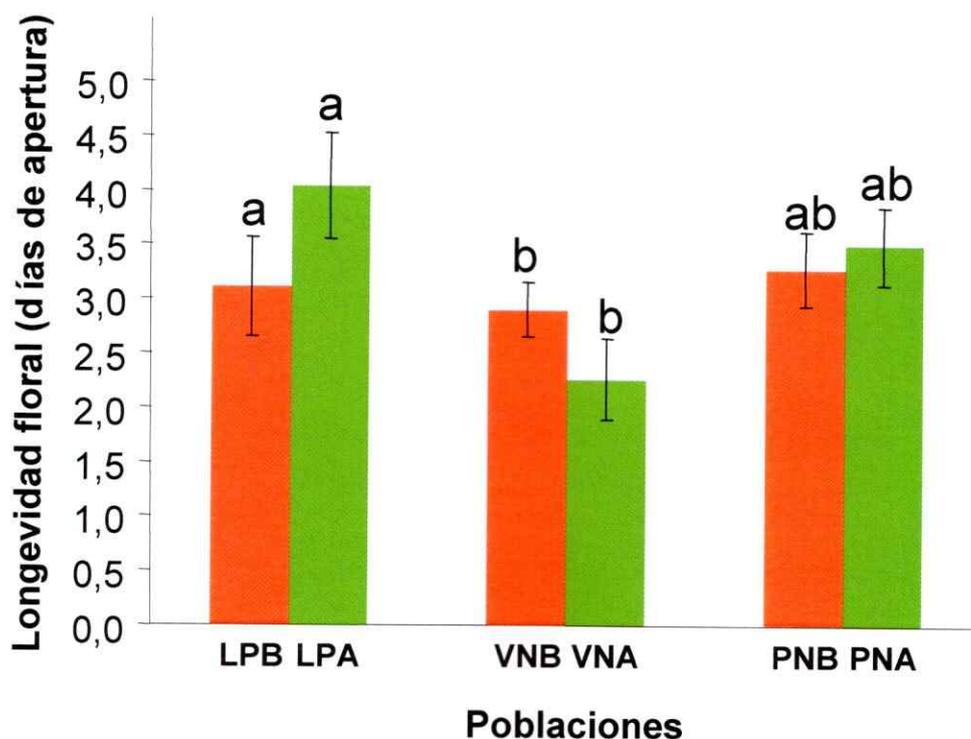


Figura 14. Longevidad floral en las seis poblaciones. Se graficó el promedio poblacional del tamaño del pétalo +/- errores estándar. Las letras muestran los resultados de la Prueba a posteriori de Tukey. Letras diferentes significan que hay una diferencia significativa.

Tabla 7. ANOVA para determinar el efecto de la altitud en la longevidad floral de *Oxalis compacta*. ^a R cuadrado = 0,853

Fuente de variación	Suma de los cuadrados tipo III	gl	Cuadrados medios	F	p
<i>Modelo</i>	428,908 ^a	4	107,227	153,010	<0,001
<i>Gradiente</i>	20,434	2	10,217	14,580	<0,001
<i>Altitud</i>	,030	1	0,030	0,42	0,837
<i>Error</i>	70,779	101	0,701		
<i>Total</i>	499,687	105			

7.5 Experimento exposición diferencial a polinizadores

Finalmente se muestreó un total de 192 individuos, los que corresponden a los individuos a los que se pudo rescatar los frutos. Se obtuvo la proporción de frutos desarrollados de las flores marcadas en cada uno de los individuos y tratamientos. En la Figura 15. se observan la distribución de frecuencia para cada uno de los tratamientos.

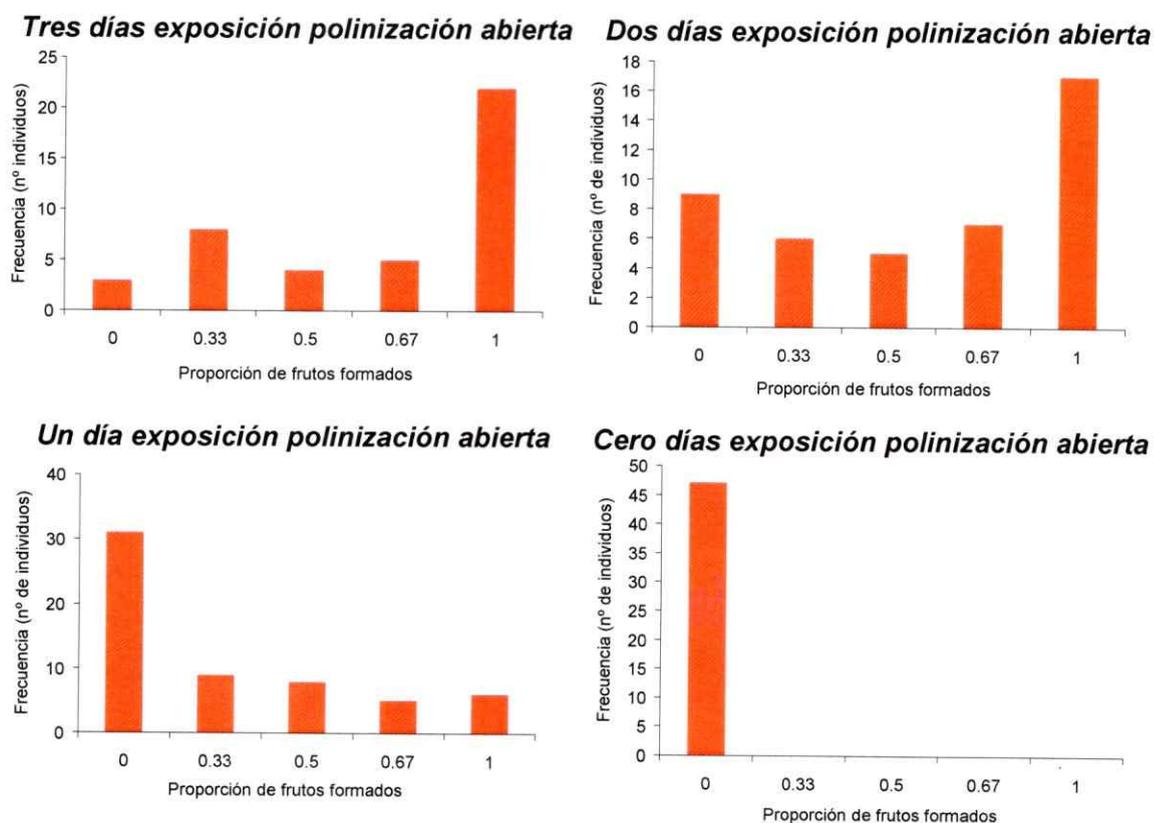


Figura 15. Distribución de frecuencias de proporción de formación de frutos en los distintos tratamientos.

Tabla 8. Resultados de la Regresión logística Ordinal.

<i>Regresión Logística Ordinal</i>				
Prueba de Proporciones del Efecto del Likelihood				
Fuente	Nparm	GL	L-R ChiCuadrado	Prob>ChiCuadrado
morfo	2,00	2,00	4,65621E-06	1,0000
tratamiento	3,00	3,00	125,1296627	<0,0001
Morfo*tratamiento	6,00	6,00	4,2955296	0,6368

La Regresión logística Ordinal indica que los datos (Tabla 7.) estarían explicados solo por el tratamiento; ni el morfo por si solo, o la interacción morfo*tratamiento puede explicar tales diferencias. Para visualizar mejor los resultados se graficaron los datos de los tres morfos en conjunto (Figura 14.).

Se observa que las flores experimentaron significativamente menos polinización con un día de exposición a los polinizadores, comparado con dos días de exposición. Sin embargo no hubo un aumento significativo en la formación de frutos entre dos y tres días de exposición. El umbral de fructificación alcanzado después de dos y tres días de exposición fue bastante alto, alcanzando cerca del 70%. Los resultados confirman que diferencias en la longevidad floral afecta al nivel de fructificación en *O. compacta*.

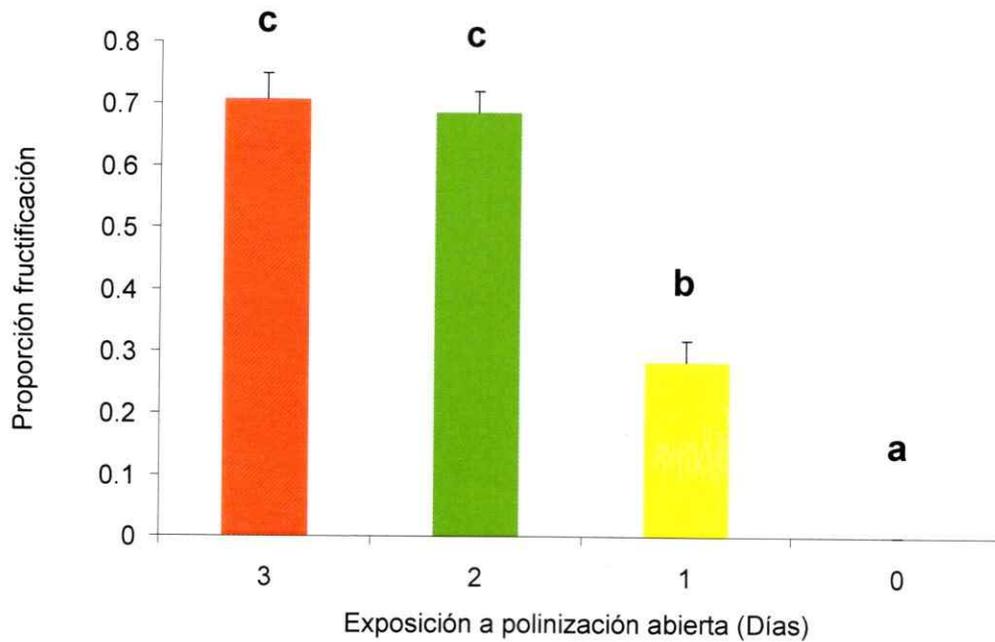


Figura 15. Distribución de frecuencias de la proporción de fructificación respecto al tratamiento. Las letras corresponden a los resultados de la Prueba Chi-Cuadrado aplicada a los pares de tratamientos. Letras distintas significa medias significativamente diferentes, mientras que letras iguales significan medias iguales.

7.6 Comparación de niveles de polinización

En la Figura 15. se muestra estimaciones del máximo número de visitas total esperado durante la vida de una flor en las diferentes poblaciones y localidades. Las tres poblaciones de menor altitud potencialmente reciben más visitas por flor en las tres localidades. En VNB el número de visitas por flor (11,7 visitas/flor) es dos órdenes de magnitud mayor que en VNA (0,08 visitas/flor). Estos resultados indican que la longevidad floral no compensa la disminución de las tasas de visita en *O. compacta*.

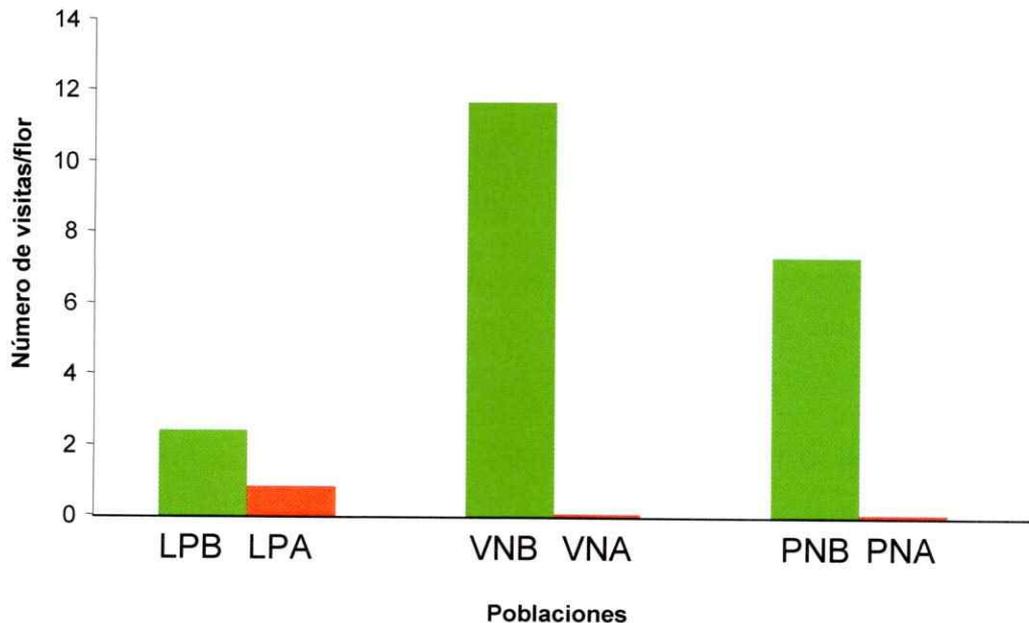


Figura 16. Número de visitas potenciales totales máximo para una flor a lo largo de su vida.

8 CONCLUSIONES

1. *O. compacta* presenta una alta dependencia de polinizadores en todas las poblaciones estudiadas.
2. Todas las poblaciones muestran todos los morfos estilares propios de una especie tristílica. Además de mostrar una prevalencia de la isopletería.
3. No hay evidencia de un aumento altitudinal del tamaño floral.
4. El tamaño del despliegue floral no depende de la altitud.
5. La longevidad floral no muestra relación con la altitud de la población donde se realiza la medición.
6. Las tasas de visita floral son sustantivamente menores en poblaciones de mayores altitudes que en las de menores altitudes.
7. En la población LPB se requieren al menos dos días de exposición a polinizadores para lograr al menos un 70% de fructificación.
8. La longevidad floral no compensa la menor disponibilidad de polinizadores en las poblaciones de mayores altitudes de *O. compacta*.

9 DISCUSIÓN

En el contexto de la hipótesis APP (Arroyo et al. 1985, 2007), en esta tesis se estudió un conjunto de rasgos que se propusieron como compensadores de la disminución altitudinal en el servicio de polinización en la zona andina de los Andes de Chile central en *O. compacta*, especie que presenta un sistema de incompatibilidad heteromórfica. Emplear *O. compacta* como modelo para investigar esta hipótesis, tiene como supuesto que la especie mantiene un sistema de reproducción altamente dependiente de polinizadores a lo largo de su distribución altitudinal. El experimento para determinar la dependencia de polinizadores confirmó que *O. compacta* efectivamente depende fuertemente de polinizadores bióticos para su reproducción, el cual se confirma en el experimento de exposición diferencial a polinizadores, ya que este último muestra que se requieren al menos un día de exposición a polinizadores para que haya fructificación y que con dos o más días se alcanza un 70 por ciento de fructificación. El hecho que todas las poblaciones mantengan los tres morfos estilares típicos de la tristilia, con isopletería en la mayoría de las poblaciones, indicaría que la expresión morfológica de la tristilia se mantienen a lo largo de la distribución altitudinal de *O. compacta*, lo que contrasta con estudios realizados

en el oeste de América del norte que muestran la pérdida de uno o dos morfos en poblaciones de *Oxalis alpina* (Weller et al, 2007). Estudios paralelos efectuados en el verano de 2008-2009 en una de las poblaciones de mayor altitud (VNA) muestran que no hay producción de semillas bajo autopolinización manual en los tres morfos en *O. compacta*. No obstante, el sistema de incompatibilidad de *O. compacta* no es estricto, ya que algunos cruces ilegítimos producen frutos (Arroyo & Humaña, datos no publicados). Independientemente de lo anterior, como se indicó arriba, queda ampliamente demostrado que todas las poblaciones requieren del servicio de polinización.

Uno de los supuestos más importantes de esta tesis es que la tasa de visita floral en *O. compacta* disminuye con la altitud, así reflejando la tendencia comunitaria antes descrita. Los datos obtenidos confirman que este supuesto se cumple ampliamente en *O. compacta*. De hecho, la disminución altitudinal en la tasa de visita supera la tendencia reportada por Arroyo et al. (1985) basado en una comparación de los tres pisos vegetacionales altitudinalmente distribuidos por encima del límite arbóreo. La disminución más abrupta de la tasa de visita en el caso de *O. compacta*, en donde se compararon poblaciones en dos extremos del piso andino superior, sería un indicativo de que la disponibilidad de polinizadores se torna relativamente más restrictiva en los pisos de vegetación de mayor altitud.

A pesar de la alta dependencia de vectores de polinización bióticos en todo su rango altitudinal y la fuerte disminución altitudinal en las tasas de visita floral en *O. compacta*, para los tres rasgos florales estudiados (tamaño floral, tamaño de despliegue floral, longevidad floral), no se obtuvieron patrones altitudinales que fueran consistentes con lo esperado bajo la hipótesis APP. Más aún, si se observa los resultados en conjunto, es evidente que no hay una consistencia en los patrones de variación de los rasgos estudiados entre las localidades (Tabla 8.).

Tabla 9. Comparación entre lo esperado según la hipótesis APP y los resultados encontrados en el estudio en las distintas localidades.

		<i>Localidades</i>		
		LP	VN	PN
<i>Hipótesis APP</i>	Rasgos			
	Tamaño floral	↑	↑	↑
	Tamaño despliegue floral	↑	↑	↑
	Longevidad floral	↑	↑	↑
<i>Altitud mayor</i>	Tamaño floral	=	=	↓
	Tamaño despliegue floral	↑	=	=
	Longevidad floral	↑	=	=

Al integrar los resultados de las tasas de visita y la longevidad floral, se obtuvo evidencia que existe un déficit de visitas en las tres poblaciones de mayor altitud, y especialmente en dos (VNA, PNA). Por el contrario, nuestras estimaciones indican que las flores de las poblaciones de menor altitud podrían recibir hasta 11 visitas durante su vida. Hay que tomar en cuenta que estas estimaciones están calculadas en base a tasas de visita registradas en días con

condiciones climáticas mejores que el promedio. Por lo tanto, el déficit en las poblaciones de mayor altitud estaría subestimado, mientras el número de visitas en las poblaciones de baja altitud estaría sobreestimado. No obstante esta fuente de error, es interesante comparar el número de visitas por flor predicho para LPB con los resultados de experimento de exposición diferencial de polinizadores. En este experimento se obtuvo 73% de fructificación con tres días de exposición, el equivalente a la longevidad floral potencial obtenida para esta población. Lo anterior sugiere que no hay una restricción reproductiva severa en esta población. Se llega a una conclusión similar para las otras dos poblaciones de baja altitud, ya que las estimaciones de número de visitas por flor fueron más altas que para LPB. Aquí es importante recordar que el experimento de exposición diferencial a polinizadores y la determinación de la longevidad floral se realizaron en diferentes temporadas, es decir, en condiciones climáticas no idénticas. Experimentos en curso en nuestro laboratorio indicarían una fuerte correlación entre la longevidad floral y la temperatura en *O. compacta*, de tal forma que las inferencias anteriores deben considerarse tentativas.

Considerando el conjunto de resultados surge la pregunta ¿Cómo las poblaciones de mayor altitud, teniendo un número de visitas por flor muy inferior de uno en dos casos y las cuales no necesariamente todas son efectivas, mantienen poblaciones extensas? Existen varios atributos de historia de vida

que no fueron tomados en cuenta en este estudio, dentro de los cuales están la extensión del período de floración de las poblaciones de *O.compacta* que corresponde aproximadamente a dos meses. Si se hace el ejercicio de calcular el número de flores producidas por planta, considerando una longevidad floral de aproximadamente tres días y un promedio de flores/planta de tres, se llega a la conclusión que una planta podría producir un mínimo de 20 y un máximo de 60 flores por planta en la temporada. En base de este número y el número de visitas por flor estimada en la población con menor número de visitas (VNA), el total de visitas por planta (máximo) estaría entre dos y seis por planta.

Ya que no encontramos evidencia para la existencia de rasgos compensatorios, tendríamos que concluir que la producción de semillas resultante de las bajas tasas de visita es suficiente para mantener las poblaciones. Además siendo *O. compacta* una especie perenne que forma banco de semillas serían otros los factores relevantes en este contexto.

Esto lleva a cuestionar la relevancia de los polinizadores como una fuerza selectiva en este sistema, ya que, a pesar de las fuertes diferencias en las tasas de visita floral, estas parecen no tener relación en la variación de los rasgos que compensarían estas diferencias. Sin embargo, es preciso a hacer hincapié que en esta tesis no se evaluó la variación intra- e interanual de la disponibilidad de polinizadores y tampoco de los rasgos estudiados. Esta tesis muestra la

necesidad de hacer estudios de largo plazo en el sistema con el fin de capturar estas variaciones, ya que los rasgos estudiados en conjunto con los atributos de historia de vida ya mencionados podrían estar explicando la relación planta-polinizador y las verdaderas restricciones a las que se ve sometida esta especie en el área de estudio.

Para poder incorporar la extensión del período de floración es necesario hacer un seguimiento de los rasgos compensatorios a la baja disponibilidad de polinizadores tales como el tamaño floral, el tamaño de despliegue floral y la longevidad floral en distintos puntos de la época de floración, además de cuantificar las tasas de visita floral en cada uno de estos puntos temporales de medición. Esto debido a que durante la época estival las condiciones ambientales varían a través de la temporada. Una de los factores más afectados es la condición edáfica del suelo, esta varía desde Octubre en que comienza la floración y que coincide con el inicio de la época de deshielos hasta mediados de Febrero que coincide con el período de estiaje, en la zona de estudio.

Otro tema a considerar es como varían los recursos que le entrega la planta a los polinizadores, néctar y polen, y como varían las claves odoríferas que las plantas entregan al ambiente, tanto en cantidad como en calidad y esto a través de la temporada. Esto último con el fin de detectar si los recursos que ofrece la

planta se correlacionarían con el nivel de atracción de los visitantes a los individuos de *O. compacta*.

En cuanto a los rasgos florales relevantes de evaluar de manera más exhaustiva está la longevidad floral, desde el punto de vista de la duración de la receptividad estigmática y la carga polínica necesaria para lograr la máxima fructificación y si esta afecta la duración de la longevidad floral. Esto podría dar luces de cuan efectivas pueden ser las visitas de polinizadores y por ende cuantas visitas requiere una flor para producir la máxima fructificación.

Además, es importante evaluar el efecto micrositio en la longevidad floral. Como por ejemplo, cual es el efecto de la temperatura sobre la longevidad floral. El efecto de la temperatura podría estar ocultando diferencias altitudinales sobre este rasgo. Para poder aislar tal efecto se hace necesario realizar estudios de jardín común o análisis intrapoblacionales de la temperatura.

Finalmente, observar la variación interanual en todos los factores antes mencionados es determinante, ya que el supuesto de una condición constante de un factor ambiental relevante no es tal, supuesto que es omitido por la metodología empleada en esta tesis. Esto mezclado a la formación de banco de semillas hace necesario un estudio a largo plazo, como se mencionó antes.

Si bien los logros de esta tesis responden interrogantes claves de los atributos de historia de vida de la especie, estudios adicionales son indispensables para conocer las poblaciones de *O. compacta* que persisten en su hábitat natural de alta montaña.

10 BIBLIOGRAFÍA

Aceituno P (1990) Anomalías climáticas en la región sudamericana durante los extremos de la oscilación austral. *Revista Geofísica* 32: 65 – 78

Aceituno P (1992) Anomalías de precipitación en Chile central relacionadas con la oscilación del sur: Mecanismos asociados. Extended Abstract: Paleo-ENSO Records International Symposium, Lima - Peru: 1 – 6

Arroyo MK, Armesto J, Villagrán C (1981) Plant phenological patterns in the high andean cordillera of central Chile. *Journal of Ecology* 69: 205 – 223

Arroyo MTK, Primack R, Armesto J (1982) Communities studies in pollination ecology in high temperate Andes of central Chile. I. Pollination mechanisms and altitudinal variation. *American Journal of Botany* 69: 82 – 97

Arroyo MTK, Armesto J, Primack R (1985) Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of central Chile. II. Effect of temperature on visitation rates and pollination possibilities. *Plant Systematic and Evolution* 149: 187 – 203

Arroyo MK, Squeo F (1990) Relation between plant breeding system and pollination. In: Kawano S (ed) *Biological approaches and evolutionary trends in plants*. ACADEMIC PRESS INC., London pp 205 – 227

Arroyo MTK, Munoz MS, Henriquez 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 MK, Till-Bottra I, Torres-Diaz C, Henríquez CA, Martínez J (2007) Display size preferences and foraging habits of high Andean butterflies pollinating *Chaetanthera lycopodioides* (Asteraceae) in the subnival of the central Chilean Andes. *Arctic, Antarctic and Alpine Research* 39: 347 – 352

Ashman T-L, Knight TM, Steets JA, Amarasekare P, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Mazer SJ, Mitchell RJ, Morgan MT, Wilson WG (2004) Pollen limitation of plant reproduction: Ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85: 2408 – 2421

Ashman TL, Schoen DJ (1994) How long should flowers live. *Nature* 371: 788 – 791

Barrett SCH, Shore JS (2008) New insights on heterostyly: Comparative biology, Ecology and Genetics. In: Franklin-Tong V (ed) *Self-incompatibility in flowering plants: Evolution, diversity and mechanisms*. Springer-Verlag, Berlin, pp 3-32

Barrett SCH (1990) The evolution and adaptive significance of heterostyly. *Trends in Ecology & Evolution* 5: 144 – 148

Barrett SCH (1998) The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science* 3: 335 – 341

Barry RG (1981) *Mountain weather and climate*. Methuen & Co. Ltda., London
Bingham RA, Orthner AR (1998) Efficient pollination of alpine plants. *Nature* 391: 238 – 239

Bell G (1985) On the function of flowers. *Proceedings of the Royal Society of London* 224: 223 – 265

Blionis GJ, Vokou D (2001) Pollination ecology of *Campanula* species on Mt Olympos, Greece. *Ecography* 24: 287 – 297

Bliss LC (1962) Adaptations of arctic and alpine plants to environmental conditions. *Arctic* 15: 117 – 144

Bliss LC (1971) Arctic and alpine plant life cycles. *Annual Review of Ecology and Systematics* 2: 405 – 438

Bullock SH (1985) Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* 17: 287 - 301

Cavieres LA, Arroyo MK (1999) Tasa de enfriamiento adiabático del aire en el valle de Río Molina, Provincia de Santiago, Chile Central (33°S) *Revista Geográfica de Chile Terra Australis* 44: 79 – 86

Charlesworth D (1979) The evolution and breakdown of tristylly. *Evolution* 33: 486 – 498

- Darwin CR (1876) The effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom. John Murray, London
- Darwin CR (1877) The different forms of flowers on plants of the same specie. John Murray, London
- Di Castri F, Hajek E (1976) Bioclimatología de Chile. Vicerrectoría académica-Universidad Católica de Chile
- Eckert CG (2002) Effect of geographical variation in pollinator fauna on the mating system of *Decodon verticillatus* (Lythraceae). International Journal of Plant Sciences 163: 123 - 132
- Elle E, Carney R (2003) Reproductive assurance varies with flower size in *Collinsia parviflora* (Scrophulariaceae). American Journal of Botany 90: 888 - 896
- Fabbro T, Korner C (2004) Altitudinal differences in flower traits and reproductive allocation. Flora 199: 70 - 81
- Fisher RA (1941) The theoretical consequences of polyploid inheritance for the mid style form in *Lythrum salicaria*. Annals of Eugenics 11: 31 - 38
- Galen C (1989) Measuring pollinator-mediated selection on morphometric floral traits: Bumblebees and alpine sky pilot, *Polemonium viscosum* (Polemoniaceae). Evolution 43: 882 - 890
- Ganders FR (1979) The biology of heterostyly. New Zealand Journal of Botany 17: 607 - 635
- García-Camacho R, Totland O (2009) Pollen limitation in the Alpine: a Meta-Analysis. Arctic, Antarctic and Alpine Research 41: 103 - 111
- Giblin DE (2005) Variation in floral longevity between populations of *Campanula rotundifolia* (Campanulaceae) in response to fitness accrual rate manipulation. American Journal of Botany 92: 1714 - 1722
- Glaettli M, Barrett SCH (2008) Pollinator responses to variation in floral display and flower size in dioecious *Sagittaria latifolia* (Alismataceae). New Phytologist 179: 1193 - 1201
- Gugerli F (1998) Effect of elevation on sexual reproduction in alpine populations of *Saxifraga oppositifolia* (Saxifragaceae). Oecologia 114: 60 - 66

- Hagerup O (1951) Pollination on the Faroes - in spite of rain and poverty in insects. *Danske Biologiske Meddelelser* 18: 1 – 47
- Harder LD, Johnson SD (2005) Adaptive plasticity of floral display size in animal-pollinated plants. *Proceedings of the Royal Society* 272: 2651 – 2657
- Herrera J (2005) Flower size variation in *Rosmarinus officinalis*: Individuals, populations and habitats. *Annals of Botany* 95: 431 – 437
- Hodgins KA, Barrett SCH (2006a) Female reproductive success and the evolution of mating-type frequencies in tristylous populations. *New Phytologist* 171: 569 – 580
- Hodgins KA, Barrett SCH (2006b) Mating patterns and demography in the tristylous daffodil *Narcissus triandrus*. *Heredity* 96:262-270
- Hodgins KA, Barrett SCH (2008) Geographic variation in floral morphology and style-morph ratios in a sexually polymorphic daffodil. *American Journal of Botany* 95:185-195
- Kalisz S , Vogler DW (2003) Benefits of autonomous selfing under unpredictable pollinator environments. *Ecology* 84: 2928 – 2942
- Kalisz S, Vogler DW, Hanley KM. (2004) Context-dependent autonomous self-fertilization yields. *Nature* 430: 884-887
- Körner C (1999) *Alpine plant life*. Springer, Berlin
- Körner C (2003) *Plant ecology at high elevations*. In: Körner C (ed) *Alpine Plant Life*. Springer-Verlag, Berlin
- Körner C, Neumayer M, Menendez-Riedl SP, Smeets-Scheel A (1989) Functional morphology of mountain plants. *Flora* 182:353-383
- Kudo G, Molau U (1999) Variations in reproductive traits at inflorescence and flower levels of an arctic legume, *Astragalus alpinus* P.: Comparisons between a subalpine and an alpine population. *Plant Species Biology* 14:181-191
- Larson BMH, Barrett SCH (2000) A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 69:503-520
- Lourteig A (2000) *Oxalis* L. Subgéneros *Monoxalis* (Small) Lourt., *Oxalis* y *Trifidus* Lourt. *Bradea* 7: 201-629.

Lundemo S, Totland Ø (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

Lloyd DG, Webb CJ, Dulberger R (1990) Heterostyly in species of *Narcissus* (Amaryllidaceae) and *Hugonia* (Linaceae) and other disputed cases. *Plant Systematics and Evolution* 172: 215-227

Mitchell RJ, Karron JD, Holmquist KJ, Bell JM (2004) The influence of *Mimulus ringens* floral display size on pollinator visitation patterns. *Functional Ecology* 18: 116-124

Molina-Montenegro M, Cavieres LA (2006) Efecto de la densidad y tamaño floral sobre el éxito reproductivo de *Nothoscordum graminum* (Alliaceae). *Gayana Botánica* 63: 93-98

Mosquin T (1966) Reproductive specialization as a factor in the evolution of the Canadian flora. In: Taylor RL, Luwdwig RA (eds) *The evolution of Canada's flora*. University of Toronto Press, Toronto, pp 41-63

Muñoz A, Celedón-Neghme C, Cavieres LA, Arroyo MK (2005) Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia* 143: 126-135

Ohashi K, Yahara T (2001) Behavioral responses of pollinators to variation in floral display size and their influences on the evolution of floral traits. In: Chittka L, Thomson JD (eds) *Cognitive ecology of pollination* Cambridge University Press, Cambridge, pp 274-296

Perez F, Arroyo MK, Medel R (2007) Phylogenetic analysis of floral integration in *Schizanthus* (Solanaceae): does pollination truly integrate corolla traits? *Journal of Evolution Biology* 20: 1730-1738

Primack R (1985) Longevity of individual flowers. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 15-37

Richards J (1986) *Plant breeding systems*. Allen & Unwin, London

Santibáñez F, Uribe JM (1990) Atlas agroclimático de Chile: Regiones V y Metropolitana. In: Universidad de Chile, Fac. de Cs. Agrarias y Forestales, Lab. de Agroclimatología. Santiago, Chile., p 66

Schoen DJ, Ashman TL (1995) The evolution of floral longevity: Resource allocation to maintenance versus construction of repeated parts in modular organisms. *Evolution* 49: 131-139

Torres-Diaz C, Cavieres LA, Munoz-Ramirez C, Arroyoz MTK (2007) Consequences of microclimate variation on insect pollinator visitation in two species of *Chaetanthera* (Asteraceae) in the central Chilean Andes. *Revista Chilena de Historia Natural* 80: 455-468

Totland O (1994) Influence of climate, time of day and season, and flower density on insect flower visitation in Alpine Norway. *Arctic and Alpine Research* 26: 66-71

Totland O (1997) Limitations on reproduction in alpine *Ranunculus acris*. *Canadian Journal of Botany* 75: 137-144

Utelli AB, Roy BA (2000) Pollinator abundance and behavior on *Aconitum lycoctonum* (Ranunculaceae): an analysis of the quantity and quality components of pollination. *Oikos* 89: 461-470

Vallejo-Marín M, O'Brien HE (2007) Correlated evolution of self-incompatibility and clonal reproduction in *Solanum* (Solanaceae). *New Phytologist* 173: 415-421

Weller SG, Dominguez CA, Molina-Freaner FE, Fornoni J, Leubhn G (2007) The evolution of distyly from tristily in populations of *Oxalis alpina* (Oxalidaceae) in the Sky Islands of the Sonoran Desert. *American Journal of Botany* 94: 972-985

Zhang Z-Q, Li Q-J (2008) Autonomous selfing provides reproductive assurance in an alpine Ginger *Roscoea schneideriana* (Zingiberaceae). *Annals of Botany* 102: 531-538