

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Rol de la termogénesis y el aroma floral en la polinización de *Phytelephas aequatorialis* (Arecaceae) en los bosques premontanos del occidente de Ecuador

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Biológicas

ORQUIDEA GALILEA ORELLANA VERA

Quito, 2022

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas del Srta. Orquídea Galilea Orellana Vera ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Rommel Montúfar G.

Dr. Rommel Montúfar

Director de la Disertación

Quito, 30 de noviembre de 2022

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mi familia nuclear por permanecer a mi lado con amor y no permitir que olvide lo valiosa y capaz que soy de lograr todos mis objetivos con rigurosidad y honestidad.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme vida, salud e inconmensurable amor, a mis padres que con paciencia y sabiduría supieron guiarme y a mis hermanas que cada día me alegran, me ayudan a afrontar los nuevos retos de la vida y me muestran la magia de la amistad. También a Ignacio por ser mi mejor amigo y compañero de aventuras, a Francisco por compartir nuestros altos y bajos e ir creciendo conmigo a lo largo de los años y a mis bellas amigas Cami Rodríguez, Naty Berrazueta y Eduarda Cabezas por apoyarme, alentarme y creer en mi.

Agradezco también a Rommel Montúfar por ser un ejemplo de pasión por la ciencia, honestidad e integridad, a Thomas Auffray y a Marc Gibernau por compartir su experiencia y conocimiento en el campo, a Arturo y Silvia Guasti por su calidez y dedicación. También a la Fundación Otonga y al Dr. Giovanni Onore por abrirme las puertas, inspirarme y permitirme llamar hogar al bosque que muchas veces recorrí en busca de Taguas.

Mis agradecimientos a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por mi formación profesional y al CESAQ por sus instalaciones y el equipo para esta investigación.

Finalmente quiero agradecer a la IRD y en particular al proyecto HOTPALM por hacer este estudio posible, por permitirme desarrollar mis capacidades y conocer a grandes exponentes con una larga trayectoria científica que le enseñaron mucho a alguien que recién está iniciando la suya.

TABLA DE CONTENIDO

1	RESUMEN.....	1
2	<i>ABSTRACT</i>	2
3	INTRODUCCIÓN	3
3.1	OBJETIVOS	10
3.1.1	OBJETIVO GENERAL	10
3.1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
4	MATERIALES Y MÉTODOS	11
4.1	MODELO DE ESTUDIO Y LUGAR.....	11
4.2	COMUNIDADES DE INSECTOS ASOCIADOS A LAS INFLORESCENCIAS DE <i>P. AEQUATORIALIS</i>	11
4.2.1	TÉCNICA DE COLECTA DE DATOS	12
4.2.2	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	12
4.3	COLECCIÓN DE OLORES	13
4.3.1	TÉCNICA DE COLECTA DE DATOS	13
4.3.2	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	14
4.4	PRODUCCIÓN DE CALOR	14
4.4.1	TÉCNICA DE COLECTA DE DATOS	15
4.4.2	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	15
4.5	ENSAYOS DE INTERACCIÓN	15
4.5.1	TÉCNICA DE COLECTA DE DATOS	17
4.5.2	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	17
5	RESULTADOS.....	18
5.1	COMUNIDADES DE INSECTOS ASOCIADOS A LAS INFLORESCENCIAS DE <i>P. AEQUATORIALIS</i>	18
5.1.1	CURVA DE ACUMULACIÓN.....	19
5.1.2	ÍNDICES DE DIVERSIDAD	19
5.1.3	COMUNIDADES DE VISITANTES EN <i>P. AEQUATORIALIS</i> (NMDS)	
	20	
5.1.4	ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES (ANÁLISIS SIMPER)....	21

5.2	COLECCIÓN DE OLORES	22
5.2.1	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS DE OLORES FLORALES	22
5.2.2	ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) SOBRE LA CANTIDAD DE P-METIL ANISOL EN FLORES MASCULINAS Y FEMENINAS.....	23
5.3	PRODUCCIÓN DE CALOR	24
5.3.1	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	24
5.4	ENSAYOS DE ATRACCIÓN DE INSECTOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE CALOR-OLOR-HUMEDAD	26
5.4.1	PRUEBAS PARAMÉTRICAS Y NO PARAMÉTRICAS.....	28
6	DISCUSIÓN	30
6.1	ENTOMOFAUNA DE LA TAGUA	30
6.1.1	DIVERSIDAD DE VISITANTES.....	30
6.1.2	COMPOSICIÓN Y PRINCIPALES GRUPOS	31
6.1.3	ABUNDANCIA DURANTE LA ANTESIS	33
6.2	P-METIL ANISOL Y SU ROL EN LA QUÍMICA DE <i>P.</i> <i>AEQUATORIALIS</i>	35
6.2.1	DISTINCIÓN ENTRE SEXOS FLORES.....	36
6.3	ECOLOGÍA TÉRMICA Y MIMETISMO	38
6.3.1	FUENTE DE CALOR Y DIFERENCIACIÓN SEXUAL.....	38
6.3.2	BIOENSAYOS CON SEÑALES FLORALES	41
6.3.3	POLINIZACIÓN MEDIANTE ENGAÑO POR MIMETISMO	44
7	CONCLUSIÓN	48
8	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
9	FIGURAS.....	57
10	TABLAS.....	62
11	MATERIAL SUPLEMENTARIO	64

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Curva de acumulación de especies para un determinado número de trampeos en las inflorescencias masculinas (verde, trampeos = 54) y femeninas (naranja, trampeos = 76) de *P. aequatorialis*. 19
- Figura 2. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) sobre las comunidades de insectos que visitan las inflorescencias masculinas (n = 54) y femeninas (n = 76) de *P. aequatorialis* en la Reserva Otongachi 2021. 20
- Figura 3. Gráfico de pastel con las abundancias medias por grupo de las comunidades de visitantes de las inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis*. 21
- Figura 4. Superposición de picos detectados en las cromatografías con el programa OpenChrome de la muestra de olores colectados en inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis* en antesis..... 23
- Figura 5. Patrones de variación térmica del promedio de las temperaturas máximas de los diferentes tejidos en inflorescencias femeninas (n = 5) y masculinas (n = 4) de *P. aequatorialis*, antes, durante y después de la antesis floral..... 25
- Figura 6. Gráfico de caja del número de insectos capturados en los tres tratamientos de cada experimentación en campo (calor y olor; calor y humedad). 27
- Figura 7. Gráfico de barras del cambio de temperatura de distintos tejidos florales en inflorescencias masculinas (n = 4) y femeninas (n = 5) de *P. aequatorialis*, antes, durante y después de la antesis. 64
- Figura 8. Gráfico de barras del cambio de temperatura de distintos tejidos florales en inflorescencias masculinas (n = 4) y femeninas (n = 5) de *P. aequatorialis*, en comparación con la temperatura del aire, antes, durante y después de la antesis..... 64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Media de índices de diversidad de los trampeos en inflorescencias masculinas (n = 54) y femeninas (n = 76) de <i>P. aequatorialis</i>	20
Tabla 2. Abundancias medias por grupo de las diez morfoespecies más abundantes calculadas en el análisis SIMPER.	21
Tabla 3. Análisis de varianza de un factor realizado con Análisis de Datos de Excel sobre la comparación de porcentajes del pico ~18 minutos (p-metil anisol) entre inflorescencias masculinas y femeninas de <i>P. aequatorialis</i>	23
Tabla 4. Resultados del análisis de varianza de dos factores realizado con Rstudio sobre la cantidad de insectos atraídos (con transformación logarítmica) en cada tratamiento en el ensayo de interacción de calor y olor.....	28
Tabla 5. Análisis de varianza de dos factores realizado con Rstudio sobre la cantidad de insectos atraídos en cada tratamiento en el ensayo interacción de calor y humedad.....	29

1 RESUMEN

La polinización entomófila es una compleja interacción mutualista entre insectos y plantas. Un grupo fascinante de estudio son las palmas ya que presentan diversidad de mecanismos de polinización. Entre ellas encontramos a *Phytelephas aequatorialis* que es una palma dioica, sexualmente dimórfica y endémica del Ecuador. En varias especies dioicas se ha propuesto el mimetismo intersexual como estrategia reproductiva debido a la falta de recompensa por parte de las flores femeninas. Para comprobar este modelo, en la Reserva Privada Otongachi caracterizamos la comunidad de insectos que visitan a las inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis* durante la apertura floral (antesis). En el mismo período, colectamos aromas florales y registramos la emisión de calor (termogénesis) en inflorescencias de ambos sexos. Finalmente, realizamos un experimento en campo para evaluar la dinámica de interacción entre el calor y el olor y su rol en la atracción de insectos. La entomofauna que visita las inflorescencias masculinas y femeninas es similar, lo que asegura el transporte eficiente de polen. Las inflorescencias de ambos sexos liberan p-metil anisol como componente principal del olor floral. La producción de calor desde los estambres de las inflorescencias masculinas presentó una media de 9,023°C y en caso de los ovarios de las inflorescencias femeninas alcanzó un promedio de 8,594°C por sobre el ambiente durante la apertura floral. La termogénesis en las flores masculinas disminuyó después de la antesis pero en las flores femeninas se mantuvo por más tiempo. En este estudio se propone que *Phytelephas aequatorialis* sigue un modelo de mimetismo intersexual para la atracción de comunidades similares de insectos por medio de la liberación de aromas florales volatilizados por termogénesis por parte de las inflorescencias masculinas y femeninas. Estudios sobre la ecología de polinización y la biología floral son fundamentales para la conservación, el mantenimiento de la diversidad genética y el manejo sostenible de recursos forestales como *P. aequatorialis*.

Palabras clave: Aroma floral, mimetismo, *Phytelephas*, polinización, termogénesis.

2 ABSTRACT

Entomophilous pollination is a complex mutualistic interaction between insects and plants. Palms are a fascinating group to study because they present a diversity of pollination mechanisms. Among them we find *Phytelephas aequatorialis*, which is a dioecious, sexually dimorphic palm endemic to Ecuador. In several dioecious species, intersexual mimicry has been proposed as a reproductive strategy due to the lack of reward from female flowers. To test this model, we characterized the insect community visiting male and female inflorescences of *P. aequatorialis* during flower opening (anthesis) in the Otongachi Private Reserve. During the same period, we collected floral scents and recorded heat emission (thermogenesis) in inflorescences of both sexes. Finally, we conducted a field experiment to evaluate the dynamics of interaction between heat and odor and their role in insect attraction. The entomofauna visiting male and female inflorescences are similar, ensuring efficient pollen transport. The inflorescences of both sexes release p-methyl anisole as the main component of floral odor. Heat production from the stamens of male inflorescences averaged 9,023°C and in the case of the ovaries of female inflorescences it averaged 8,594°C above ambient during flower opening. Thermogenesis in male flowers decreased after anthesis but was maintained longer in female flowers. In this study, it is proposed that *Phytelephas aequatorialis* follows an intersexual mimicry model for attracting similar insect communities through the release of volatilized floral scents by thermogenesis from male and female inflorescences. Studies on pollination ecology and floral biology are fundamental for the conservation, maintenance of genetic diversity and sustainable management of forest resources such as *P. aequatorialis*.

Keyword: Floral scent, mimicry, *Phytelephas*, pollination, thermogenesis.

3 INTRODUCCIÓN

Las plantas son organismos inmóviles y su incapacidad de moverse genera una presión para la transferencia de polen de la flor masculina hasta la flor femenina (Ollerton, 2017). Una potencial estrategia es la autopolinización, sin embargo, ésta genera una pérdida de la diversidad genética que favorece el incremento de la endogamia (Ollerton, 2017). Otra alternativa es emplear vectores, como agua, viento o animales, para el transporte de gametos (Ollerton, 2017). Vertebrados e invertebrados actúan como portadores de polen para algunas gimnospermas y para el 87,5% de las angiospermas (Ollerton, 2017; Crespo-Pérez, Kazakou, Roubik y Cárdenas, 2020). Los polinizadores proporcionan un servicio ecológico y son responsables de varias innovaciones evolutivas que impulsaron la diversificación de las plantas (Ollerton, 2017). Incluso, la coevolución entre flores y polinizadores ha sido ampliamente documentada (Nordström et al., 2017). Hasta la actualidad, se estiman 352.000 especies de plantas con flores y 350.000 de polinizadores (1 de cada 10 animales en la tierra; Osterman et al., 2021).

Para comprender las interacciones entre insectos y plantas, a lo largo de su historia evolutiva, es importante el estudio de los patrones de fenología floral y de las comunidades de visitantes florales (Lara, Díez, Restrepo, Núñez y Moreno, 2017). Asimismo, los estudios de polinización son indispensables para comprender las redes ecológicas y al hablar sobre diversidad biológica, es ampliamente conocido que presenta un gradiente latitudinal (Mittelbach et al., 2007). De hecho, la mayor diversidad de polinizadores y plantas con flor, reposa sobre los trópicos y se relaciona directamente con una mayor especialización de interacciones biológicas (Ollerton, 2017).

Por su parte, los insectos tropicales (72% de los insectos de la Tierra) intervienen en la regulación de la estructura y diversidad de los ecosistemas, diversidad de plantas, productividad fotosintética, fertilidad del suelo y calidad del agua (Crespo-Pérez et al., 2020). Sin embargo, los estudios sobre polinización por insectos en los trópicos representan únicamente el 23% de la literatura científica publicada sobre los servicios ecosistémicos de los insectos en el período desde 2017 hasta el 2020 (Crespo-Pérez et al., 2020).

Con respecto a las plantas, la familia botánica de las palmeras (Arecaceae) presenta alrededor de 2600 especies que habitan en regiones tropicales y subtropicales (Dransfield et al., 2008). Las arecáceas exhiben diversos patrones de floración (desde asincrónica hasta la sincrónica estricta) y visitantes florales (principalmente coleópteros, abejas y moscas), la interacción de ambos incrementa el éxito reproductivo (Lara et al., 2017). Igualmente presentan varios sistemas reproductivos que permiten definir la disposición de los sexos a diferentes niveles espaciales: en la flor (hermafroditismo o unisexual), en la inflorescencia (unisexuales o hermafroditas) o a nivel del individuo (monoico o dioico) (Nadot, Alapetite, Baker, Tregear y Barfod, 2016). La dioecia (i.e., individuos distintos producen inflorescencias masculinas y femeninas), en la cual se elimina cualquier posibilidad de autofecundación, ha surgido en varios linajes a lo largo de la evolución de las palmeras (Nadot et al., 2016). El 30% de las especies extantes de palmas son dioicas, particularmente en las subfamilias Calamoideae y Ceroxyloideae (Nadot et al., 2016). Dentro de la subfamilia Ceroxyloideae, destacan las palmas de marfil pertenecientes a la tribu Phytelepheeae, con ocho especies sudamericanas agrupadas en tres géneros (*Ammandra*, *Aphandra* y *Phytelephas*) nativos de las regiones tropicales del noroeste de sudamérica (Escobar, Helmstetter, Montúfar, Couvreur y Balslev, 2020a).

Phytelephas aequatorialis es una palma dioica y es altamente dimórfica en el tamaño, forma y atributos fenológicos y temporales de los dos tipos de inflorescencias (Montúfar, Brokamp y Jácome, 2013). La inflorescencia masculina es una espiga péndula de forma cilíndrica formada por cientos a miles de flores pequeñas unidas a un raquis floral, que puede medir más de dos metros de largo y 20 centímetros de diámetro (Montúfar et al., 2013). Estas inflorescencias crecen cerca de 20 centímetros por día y son receptivas (liberación de polen) por una noche (Pincebourde, Montúfar, Páez y Dangles, 2016). Mientras que, la longitud de la inflorescencia femenina no supera los 70 centímetros y está formada por largos estilos (20-30 centímetros), largos estigmas divididos (quince centímetros) y tépalos muy conspicuos (Montúfar et al., 2013). Su crecimiento es de aproximadamente cinco centímetros por día y su receptividad (captación de polen) perdura por un tiempo más prolongado (varios días; Pincebourde et al., 2016).

Estudios previos han postulado el mimetismo intersexual como estrategia reproductiva en el género *Phytelephas* (Ervik, Tollsten y Knudsen, 1999). La hipótesis de mimetismo intersexual propone que las inflorescencias masculina y femenina son seleccionadas para ser lo suficientemente parecidas y garantizar la transferencia de polinizadores (Ashman, 2009). Esta semejanza es particularmente fuerte cuando una de las inflorescencias, sobre todo la femenina, no ofrece ningún tipo de recompensa (engañosa) o cuando ofrece muy poca recompensa (mimética; Ashman, 2009). De esta hipótesis deriva la inferencia de que los polinizadores deben identificar señales similares para detectar retribuciones y/o deben ser atraídos por recompensas parecidas (Ashman, 2009). Por lo tanto, el dimorfismo sexual debería disminuir (en caso de engaño) o ser intermedio (en caso de mimetismo; Ashman, 2009). Asimismo, se predice que cuando ambos sexos llegan a la antesis (apertura floral) en tiempos sobrelapados y sincronizados, la selección para la semejanza entre ambas inflorescencias aumentará (Ashman, 2009).

Las flores pueden emplear síndromes como colores (reflexión de longitudes de onda) y aromas (composición y proporción de compuestos volátiles), que pueden interactuar entre sí de forma multimodal, junto con otras estrategias de atracción a polinizadores que incluyen forma, tamaño, patrones, gradientes de CO₂, temperatura y humedad (Nordström et al., 2017; Arnold et al., 2019). Usualmente estas señales están asociadas con algún tipo de recompensa (Arnold et al., 2019). Por esta razón, los polinizadores evolucionan características fisiológicas, anatómicas, ecológicas y conductuales para reconocer y seleccionar las firmas o señales florales (Nordström et al., 2017). Inclusive, algunos visitantes florales pueden utilizar distintas partes de la planta dependiendo del estadio de desarrollo en el que se encuentren (Arnold et al., 2019).

Entre las características que nos permiten evaluar si *Phytelephas aequatorialis* se ajusta a la hipótesis de mimetismo intersexual, se encuentran: (i) la liberación de químicos volátiles de la inflorescencia y (ii) la producción de calor de la inflorescencia (termogénesis). No obstante, son escasos los estudios de polinización en zonas tropicales que incluyen el análisis de compuestos volátiles y la termogénesis (Hoe, Gibernau y Wong, 2018).

Los compuestos químicos volátiles florales participan en la interacción entre plantas y polinizadores a modo de mediadores (Ashman, 2009). De hecho, estos volátiles son fundamentales en la atracción, guía, búsqueda de recompensa y permanencia temporal de los polinizadores que a su vez transferirán el polen (Knudsen, Tollsten y Ervik, 2001; Hoe et al., 2018; Maia et al., 2021). Los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) son los componentes centrales en el olor floral de varias especies entomófilas de Magnoliaceae, Annonaceae, Arecaceae y Araceae (Maia, Santos, Gonçalves, Navarro y Nuñez-Avellaneda, 2018). Los VOCs pueden establecer interacciones selectivas con un tipo específico de polinizador (Carreño-Barrera, Maia, Colombo y Núñez-Avellaneda, 2021). De hecho, el período de mayor visitación de insectos se asocia con la máxima emisión de olor (Dufaÿ y Anstett, 2004; Khorsand Rosa y Koptur, 2009).

La termogénesis se ha registrado en distintos linajes vegetales como Zamiaceae (Suinyuy, Donaldson y Johnson, 2010) y Cycadaceae (Roemer, Terry y Marler, 2013), en las angiospermas basales Illiciaceae (Thien, Azuma y Kawano, 2000), Nymphaeaceae (Seymour y Matthews, 2006; Consiglio y Bourne, 2001; Lamprecht, Schmolz, Blanco y Romero, 2002), Aristolochiaceae (Ervik y Barfod, 1999), Magnoliaceae (Azuma, Thien y Kawano, 1999; Lamprecht et al., 2002; Gottsberger, Silberbauer-Gottsberger, Seymour y Dötterl, 2012) y Annonaceae (Jürgens, Webber y Gottsberger, 2000; Costa, Silva, Paulino-Neto y Pereira, 2017), en las monocotiledóneas Cyclanthaceae (Consiglio y Bourne, 2001; Franz, 2007), Arecaceae (Barfod, Hagen y Borchsenius, 2011) y Araceae (Consiglio y Bourne, 2001; Lamprecht et al., 2002; Hoe et al., 2018), y Nelumbonaceae (Consiglio y Bourne, 2001) y Rafflesiaceae (en la parásita *Rhizanthus lowii*; Lamprecht et al., 2002) como únicas eudicotiledóneas (Bay, 1995; Seymour y Schultze-Motel, 1997; Ervik y Barfod, 1999; Thien et al., 2000; Barfod et al., 2011). Además, se ha propuesto que la cantarofilia coevolucionó con la termogénesis floral, el aroma floral y la protoginia (Azuma et al., 1999; Thien et al., 2000).

Dentro de las palmas, se ha reportado termogénesis en al menos 46 especies (Ervik y Barfod, 1999). La producción de calor se encuentra sobre todo en las tribus Phytelepheeae y Cocoseae (Barfod et al., 2011). De hecho, la ocurrencia

de termogénesis en la mayoría de subfamilias de Arecaceae ha surgido por evolución independiente o convergente (Knudsen et al., 2001). *Phytelephea* es la excepción ya que todas las palmas de esta tribu son termogénicas y de polinización cantarófila (Ervik et al., 1999). Asimismo, la producción de calor se ha informado en palmas económicamente importantes como *Acrocomia aculeata* (Maia et al., 2019) y *Elaeis guineensis* (Yousefi, Rafie, Abd Aziz y Azrad, 2020).

Pregunta de investigación: El éxito de polinización está determinado por la transferencia de polen de un sexo a otro y la polinización en *Phytelephas aequatorialis* ocurre por medio de insectos (vectores) que se mueven entre inflorescencias masculinas y femeninas en individuos separados, a causa de su naturaleza dioica. Por estas razones, inferimos que tanto las inflorescencias femeninas como masculinas de *P. aequatorialis* emiten las mismas señales de atracción (mimetismo floral) para asegurar la polinización por vectores animales.

Hipótesis: *Phytelephas aequatorialis* sigue un modelo de mimetismo intersexual para la atracción de comunidades similares de insectos por medio de la liberación de aromas florales volatilizados por termogénesis por parte de las inflorescencias masculinas y femeninas, para asegurar el éxito de polinización.

Justificación: La polinización constituye un estratégico proceso ecológico que garantiza el flujo génico para las plantas silvestres y cultivadas (Ollerton, 2017). Como vectores de la polinización, los insectos facilitan el flujo genético de más del 85% de plantas silvestres y 87 de los 107 cultivos más importantes del mundo (Aizen et al., 2019; Osterman et al., 2021). Este servicio de polinización aporta con c.a. 577.000 millones de dólares a la economía mundial, destinados a la producción de alimentos y la seguridad alimentaria (Betts, Hadley y Kormann, 2019). Sin embargo, la Evaluación de los Ecosistemas del Milenio registró la degradación y el uso excesivo no sostenible, de este y otros servicios ecosistémicos a nivel mundial, mayor al 60% (Mace, Norris y Fitter, 2012).

En los últimos años, el área para los cultivos dependientes de polinizadores aumentó en un 137%, es decir, 33% de la cobertura agrícola total (Osterman et al., 2021). Desafortunadamente, este incremento del área agrícola se ha inclinado

hacia el monocultivo, lo cual ocasiona la pérdida y fragmentación del hábitat y por consiguiente, una disminución de la biodiversidad y las interacciones biológicas afectando principalmente a los polinizadores nativos (Aizen et al., 2019; Betts et al., 2019). A estas amenazas se le suman el uso de pesticidas, especies invasoras, emisión de contaminantes, enfermedades, cambio medioambiental, modificación del uso de la tierra y defaunación (Nordström et al., 2017; Crespo-Pérez et al., 2020). Estas son algunas de las razones por las cuales más del 40% del amplio repertorio de polinizadores silvestres y manejados están sufriendo una disminución en términos de diversidad, biomasa y abundancia (Nordström et al., 2017; Osterman et al., 2021). La continua expansión de la frontera agrícola implica concomitantemente el uso de agroquímicos que afectan directamente a la sobrevivencia de los insectos, entre ellos los polinizadores.

En las regiones tropicales y subtropicales la agricultura se ha expandido de manera acelerada desde 1985, afectando las áreas forestales nativas (Foley et al., 2011). Esto es particularmente alarmante debido a que se estima una deforestación entre 5 a 10 millones de hectáreas de bosque tropical por año destinadas para la agricultura (Foley et al., 2011). La cobertura forestal del Ecuador ha sufrido drásticas reducciones desde inicios del siglo XX. Particularmente, desde el 2001 hasta el 2008, el área forestal disminuyó hasta el 36,8% con una la tasa de deforestación anual de -1,9% (González-Jaramillo et al., 2016). Esta reducción afecta particularmente las zonas bajas de la región costa como producto del aumento creciente de la presión demográfica (González-Jaramillo et al., 2016). La continua destrucción de los últimos remanentes de bosque en el litoral acelera la pérdida de polinizadores y consecuentemente, la reducción de la resiliencia del ecosistema costero (Escobar, Couvreur, Montúfar y Balslev, 2019). Este paisaje altamente deforestado y degradado es el hogar de una palma endémica y emblemática localmente conocida como tagua, *Phytelephas aequatorialis*.

La palma *Phytelephas aequatorialis* es una especie endémica del occidente del Ecuador y crece en los últimos remanentes forestales del litoral y en los pastizales ampliamente extendidos en la región o en sistemas agroforestales (Montúfar et al., 2013). La especie está presente desde los 0 msnm hasta los 1500 msnm, incluyendo los bosques húmedos y muy húmedos, bosques semidecduos,

bosques de neblina, bosques pre-montanos y montanos del litoral y las estribaciones occidentales (Montúfar et al., 2013). Adicionalmente, esta región alberga dos linajes genéticos de *P. aequatorialis* (Costa Central y Costa Sur) generados a partir de la última glaciación del Pleistoceno (Escobar et al., 2021).

La deforestación en el litoral de Ecuador no solo afectaría la disponibilidad de polinizadores, sino también de dispersores. Escobar, Razafindratsima, Montúfar y Balslev (2020b) reportaron que la disminución de cobertura forestal dentro de un sistema agroforestal provocó una pérdida de riqueza de dispersores de semillas, lo que teóricamente generaría una disminución de la diversidad genética y del reclutamiento de individuos (Escobar et al., 2020b). La continua deforestación favorece la degradación de procesos ecológicos, como la polinización y la dispersión de semillas, claves en la generación de diversidad genética en las poblaciones biológicas.

Por estas razones, se propone que la investigación de la polinización es fundamental para la conservación de las poblaciones de *P. aequatorialis* y es esencial si queremos asegurar tanto la diversidad genética como fenotípica (Escobar et al., 2019). Por consiguiente, la comprensión de la biología de *P. aequatorialis* y la restauración de sus interacciones con animales, pueden contribuir a la conservación de este recurso forestal (Escobar et al., 2020b).

Las semillas de *P. aequatorialis* son un importante recurso forestal no maderable (PFNM). El endospermo duro y blanco (tagua o marfil vegetal) ha sido tradicionalmente utilizado desde el siglo XIX como materia prima para la elaboración de botones, artesanías, entre otros (Montúfar et al., 2013). Adicionalmente, sus hojas (cade), se emplean de manera local para techar viviendas (Brokamp et al., 2014). Desde el punto de vista económico, en el 2011 la exportación de marfil vegetal desde el Ecuador alcanzó valores de 14 millones de dólares, ocupando el segundo lugar en la lista de palmas nativas de gran importancia (Brokamp et al., 2014). Por lo tanto, es necesario conservar este recurso, tener un manejo sostenible, una justa comercialización y un buen dominio de la biología de esta especie. Es así como se podrán desarrollar procesos de manejo, adaptación y domesticación para potenciar sus proezas naturales

(Brokamp et al., 2014), permitiéndonos aprovechar este recurso muy rentable cuyas posibilidades de aplicación apenas se están explorando.

3.1 OBJETIVOS

3.1.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar la polinización en *Phytelephas aequatorialis* a través de la caracterización de comunidades de visitantes florales y la identificación de sus síndromes de polinización para entender cómo estos factores interactúan entre sí y determinan el éxito de polinización en un modelo dioico altamente dimórfico.

3.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar la comunidad de insectos que visitan las inflorescencias femeninas y masculinas e identificar a los potenciales polinizadores de *P. aequatorialis*.

Comparar (i) la composición de olores florales liberados y (ii) la producción de calor (termogénesis) entre inflorescencias femeninas y masculinas de *P. aequatorialis* durante la antesis.

Evaluar la dinámica de interacción entre el calor y el olor producidos, durante la antesis de *P. aequatorialis*, para la atracción de insectos durante sus períodos de mayor actividad.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MODELO DE ESTUDIO Y UBICACIÓN

El estudio se realizó en la población silvestre de *Phytelephas aequatorialis* ubicada en la Reserva Privada Otongachi (RPO; Pichincha) y en algunos individuos en el pastizal de La Unión del Toachi (pueblo en el cual está ubicada la RPO), desde julio hasta septiembre del 2021. Se muestrearon individuos de *P. aequatorialis*, en los alrededores cercanos de las instalaciones de la RPO, que se encontraban en antesis (período de la apertura floral). Cada uno registrado con coordenadas GPS y con un código asignado. Como unidad experimental se establecieron las inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis* en antesis.

4.2 COMUNIDADES DE INSECTOS ASOCIADOS A LAS INFLORESCENCIAS DE *P. AEQUATORIALIS*

Para describir las comunidades de insectos que interactúan con las inflorescencias de *P. aequatorialis* se construyeron trampas de intercepción con botellas de plástico de un galón para suspenderlas boca abajo al frente de las inflorescencias (masculinas y femeninas), en los primeros días de antesis. La apertura de la botella desembocó en un frasco que contenía una mezcla de agua con jabón para evitar la huida de los insectos. Las trampas de intercepción fueron ubicadas en dieciséis inflorescencias femeninas (bosque = 7, pastizal = 9), y en doce inflorescencias masculinas (bosque = 10, pastizal = 2), que se encontraban en los primeros días de antesis, todas ellas ubicadas dentro del bosque de la RPO y en un pastizal aledaño en La Unión del Toachi. Posteriormente, se recolectaron los insectos que cayeron en la trampa y fueron preservados en alcohol al 70%.

También se confirmó el pico de actividad de insectos colocando p-metil anisol en una de las trampas de intercepción y registrando el número de individuos de cada morfotipo que caen en la trampa cada hora, a lo largo de un día. El período con mayor abundancia de individuos de cada morfotipo correspondió al de mayor actividad y además, sirvió de referencia para realizar posteriormente la recolección de olores y registrar los cambios de temperatura.

Adicionalmente, se emplearon cámaras time-lapse para registrar en video el momento de apertura y extensión floral hasta la receptividad tanto de las inflorescencias masculinas ($n = 7$) como femeninas ($n = 8$). En las noches se implementó una fuente de luz artificial colocada frente a la inflorescencia para facilitar la visualización continua de la antesis.

4.2.1 TÉCNICA DE COLECTA DE DATOS

Los frascos con insectos fueron rotulados con la fecha, hora de colocación en la trampa y hora de retiro, código y sexo del individuo y si era necesario también con el código de la inflorescencia. Posteriormente, con el estereomicroscopio OLYMPUS SZ61 (SZ2-ILST) se realizó el conteo de la cantidad de insectos recolectados por frasco junto con la identificación del morfotipo al que pertenecen y esta información fue tabulada en una hoja de cálculo. Para esto, las muestras se trasladaron a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador sede Quito, donde se tomaron fotografías con la técnica de focus stacking para un mejor reconocimiento de caracteres de diferenciación. Algunas de estas fotografías fueron inspeccionadas por expertos taxónomos que facilitaron la identificación.

Con respecto a los videos generados por la cámara time-lapse, se registraron las horas de apertura floral inicial y máxima apertura de cada inflorescencia grabada.

4.2.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Inicialmente, se realizó una curva de acumulación de especies para garantizar un muestreo representativo de la comunidad de visitantes florales. Además, se calcularon índices de diversidad y abundancia (Shannon, Simpson, Inverso de Simpson y Evenness) utilizando los programas EstimateS 8.2.0 y Rstudio 4.1.1. (paquete VEGAN, función *diversity*) y se realizaron gráficos empleando Rstudio 4.1.1. (paquete VEGAN, función *specaccum*). A continuación, se realizó un análisis multivariado NMDS (Non-metric Multidimensional Scaling) con el programa Rstudio 4.1.1. (paquete VEGAN, función *metaMDS*) para comprobar la similitud de comunidades de visitantes florales en las inflorescencias femeninas

y masculinas. Finalmente, se ejecutó un análisis SIMPER (Similarity Percentages) para determinar el valor de contribución de cada morfotipo en la comunidad de visitantes aplicando el paquete VEGAN (función *simper*).

4.3 COLECCIÓN DE OLORES

En el primer día de antesis y en el período de mayor actividad de los insectos, se cubrió totalmente la inflorescencia femenina con un plástico de vidrio que no libera olores (Nalophan, 50 x 50 cm) y se lo ató ligeramente con cuerdas con la finalidad de poder atrapar a los olores volátiles que emiten las flores. En el caso de la inflorescencia masculina, se cubrió solamente $\frac{3}{4}$ de la inflorescencia debido a su gran longitud. La colección de muestras de olores para análisis cromatográficos se realizaron en siete inflorescencias femeninas (bosque = 2, pastizal = 5) y seis masculinas (bosque = 5, pastizal = 1). Posteriormente, se realizó una apertura pequeña en el plástico a través del cual se insertó la punta de una fibra SPME (Solid Phase Micro Extraction, Supelco, recubiertas con 65µm Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene [PDMS/DVB] para poder capturar compuestos volátiles livianos; <https://fr.vwr.com/store/product/25298951/spme-fiber-assemblies-supelco>) que fue ajustada con pinzas a la funda. No se utilizó el inyector de la fibra SPME debido al peso que generaría en la funda. Finalmente, se expuso la fibra de PDMS/DVB a las periferias adyacentes de la inflorescencia por un lapso de 15 minutos, procurando que no toque directamente la inflorescencia. Estas fibras fueron llevadas al Centro de Estudios Aplicados en Química (CESAQ) de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador sede Quito, para su análisis por cromatografía de gases. El cromatógrafo de gases Perkin Elmer Clarus 500, que utiliza una columna de cromatografía con estándares de identificación disponibles en el CESAQ, permitió la detección de los componentes del olor emitidos por las flores.

4.3.1 TÉCNICA DE COLECTA DE DATOS

Las fibras SPME fueron procesadas mediante cromatografía de gases y los cromatogramas resultantes se analizaron con el programa OpenChrome (Lablicate GmbH). La ausencia de un módulo de espectrometría de masa no permitió realizar

la identificación de cada compuesto. Sin embargo, el p-metil anisol fue inyectado en el cromatógrafo de gases, y se registró su tiempo de retención (~18 minutos) para compararlo con el tiempo de retención de los otros compuestos detectados dentro los perfiles cromatográficos de nuestros olores recolectados. La comparación entre olores masculinos y femeninos se centró, por un lado, en la diversidad y abundancia relativa de todos los compuestos detectados y por otro, en la comparación de la abundancia relativa del p-metil anisol entre los muestreos.

4.3.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Durante las cromatografías, los picos representan la detección de un compuesto volátil proveniente de la muestra. Se extrajeron los tiempos de retención de los diferentes picos y el porcentaje que representa ese pico específico en el total de picos detectados. Ambos valores se obtuvieron a partir del algoritmo de detección del programa OpenChrome.

Con el objetivo de identificar diferencias significativas en los olores entre sexos (masculino y femenino) se realizó un Análisis de varianza (ANOVA). Inicialmente, se probaron los supuestos ANOVA (normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk, varianza igual con la prueba de Bartlett e independencia) utilizando Rstudio para este último conjunto de datos. Después, se aplicó el ANOVA sobre la proporción de p-metil anisol en ambas inflorescencias para comprobar su similitud. En este caso se utilizó análisis de datos en Excel y también se empleó el paquete VEGAN (función *aov*) para lenguaje en R.

4.4 PRODUCCIÓN DE CALOR

Con el objetivo de explorar la interacción entre el calor y el olor producido durante la antesis, se colocaron sensores térmicos marca HOBO 4-channel thermocouples con cuatro sondas. Para identificar las inflorescencias cercanas a la antesis, se utilizó una cámara térmica FLIR Exx (E53) y se tomaron fotografías térmicas del contraste de temperatura entre las inflorescencias y el ambiente. Los sensores térmicos se colocaron en cinco inflorescencias femeninas (bosque = 4, pastizal = 1) y cinco inflorescencias masculinas (bosque = 5). Para las flores

femeninas las cuatro sondas se ubicaron de la siguiente manera: al aire (cerca de la flor pero sin contacto directo con la palma ni en exposición directa al sol), inserción en la bráctea floral, inserción en la base de la flor (hacia ovarios) y dentro del pecíolo de una hoja (próxima a la flor). Para las inflorescencias masculinas las sondas se ubicaron de igual manera pero la inserción en la base de la flor fue hacia los estambres. Se registró la temperatura en el primer día de antesis de cada inflorescencia y en el período de máxima actividad de insectos para comparar la producción de calor de inflorescencias masculinas y femeninas en este lapso de tiempo. Además, con el uso de los termocouples (sensores de temperatura), se logró identificar el tejido que emite calor y calcular la diferencia de temperatura de los tejidos florales (brácteas, ovarios y estambres) en comparación con la temperatura ambiental y con la temperatura no termogénica del individuo de tagua.

4.4.1 TÉCNICA DE COLECTA DE DATOS

Después de la antesis se retiraron los termocouples y los datos fueron descargados en la aplicación para ordenador de HOBO. En una hoja de cálculo de Excel se extrajo la información térmica dos horas antes de la antesis, en el tiempo de antesis y dos, cuatro y seis horas después de la antesis. Para cada período de tiempo se calculó la temperatura máxima de los tejidos florales y de su diferencia de temperatura en relación a la temperatura del aire. La variación de la temperatura del aire y del pecíolo (tejido no termogénico) fue muy similar durante el período de antesis, por esta razón solo comparamos la temperatura de cada tejido floral con la del aire.

4.4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizaron análisis descriptivos con análisis de datos en Excel, para caracterizar y comparar los cambios de temperatura en los tejidos de inflorescencias masculinas (bráctea y estambres) y femeninas (bráctea y ovarios) al igual que su diferencia con la temperatura del aire.

4.5 ENSAYOS DE INTERACCIÓN

Esta experimentación se realizó para confirmar si el compuesto volátil producido por las inflorescencias es el que atrae a los insectos y el que confirma la hipótesis de mimetismo intersexual para el modelo de *P. aequatorialis*. Después, evaluamos si el calor tiene un impacto en la capacidad de atracción del p-metil anisol lo que resultaría en un aumento de la atractividad de un sexo floral si es que se encuentra una diferencia en la termogénesis al momento de máxima actividad de insectos.

Utilizamos tres técnicas distintas para recolectar insectos durante su período de mayor actividad (desde las 18:00 hasta las 18:40).

1) Empleamos cuatro termos estándar llenos con agua en diferentes temperaturas, con su tapa removida y reemplazada por parafilm ajustado con ligas de goma sobre las cuales se colocará o no el químico p-metil anisol (olor de anís). Un primer termo con agua a temperatura ambiente ($\sim 18^{\circ}\text{C}$) y con químico (0,200 mL) sobre el parafilm, otro con agua caliente ($\sim 50^{\circ}\text{C}$) y sin químico y un último termo con agua caliente ($\sim 50^{\circ}\text{C}$) y con químico (0,200 mL). Cada termo se ubicó dentro de un cubo de tul blanco de 15cm x 15cm. Estos cubos de tul se colocaron en línea recta con una separación de cuatro metros entre cada cubo y se ubicaron en un transecto del camino en el bosque de la RPO. Después, se utilizaron aspiradores entomológicos para capturar todos los insectos que se posaron sobre el tul o estaban sobrevolando muy cerca del tul. El orden de los termos con distintos tratamientos y la persona encargada de utilizar los aspiradores manuales para cada caja de tul, se seleccionaron de manera aleatoria con el objetivo de reducir sesgos. De esta experimentación se realizaron cuatro repeticiones.

2) Con los mismos parámetros de cada tratamiento explicados anteriormente, en esta técnica utilizamos trampas de intercepción con un contenedor inferior para albergar los termos con los diferentes tratamientos y con un tubo colector con agua y jabón integrado a la trampa. De esta experimentación se realizaron dos repeticiones.

3) En esta última técnica también utilizamos aspiradores manuales y cajas de tul, la diferencia estuvo en los tratamientos. En un primer termo colocamos agua

a temperatura ambiente ($\sim 18^{\circ}\text{C}$) y sobre el parafilm colocamos el químico (0,200 mL), un segundo con agua a temperatura ambiente ($\sim 18^{\circ}\text{C}$) y sobre el parafilm colocamos el químico (0,200 mL) y un poco de agua a temperatura ambiente (0,200 mL) y un último termo con agua caliente ($\sim 50^{\circ}\text{C}$) y sobre el parafilm el químico (0,200 mL) y la misma cantidad de agua a temperatura ambiente que en el termo anterior. De esta experimentación se realizaron cuatro repeticiones.

4.5.1 TÉCNICA DE COLECTA DE DATOS

Cada frasco que contenía insectos de la experiencia fue rotulado con la fecha, hora de inicio y fin de la experiencia, tratamiento y persona que recolectó. Después se realizó el conteo de la cantidad de insectos recolectados por frasco junto con la identificación del morfotipo al que pertenecen. Esta identificación y clasificación se realizó siguiendo el mismo procedimiento explicado en la primera sección de métodos: “Comunidades de insectos”.

4.5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Inicialmente, se probaron los supuestos ANOVA (normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk, varianza igual con la prueba de Bartlett e independencia) utilizando Rstudio. Después, se efectuó un análisis de varianza ANOVA de dos factores (calor y químico; calor y humedad) utilizando Rstudio. También se realizó el Test de Friedman que es una prueba no paramétrica utilizando el complemento de Excel Real Statistics. Finalmente se ejecutó, de forma manual en Excel, una prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney para hacer comparaciones en el conjunto de datos de los ensayos con calor y químico.

5 RESULTADOS

Durante el periodo de muestreo se capturaron un total de 36.452 visitantes florales pertenecientes a 66 morfoespecies. Con respecto a la abundancia de morfoespecies, los Coleoptera representaron el 96,58% del número total de insectos recolectados, seguidos por los Hymenoptera en un 2,46% y únicamente 0,96% de Diptera. En los coleópteros predominan tres familias taxonómicas, Nitidulidae (45,15% del total de coleópteros), Staphylinidae (22,65%) y Curculionidae (19,52%). Dentro de los coleópteros también se incluyen las siguientes familias o subfamilias menos abundantes: Histeridae (6,10%), Silvanidae (3,30%), Ptiliidae (1,86%), Chrysomelidae (0,48%), Scolytinae (0,44%), Dynastinae (0,32%), Carabidae (0,06%), Monotomidae (0,04%) y Dermaptera (0,02%).

En los videos time-lapse además de la apertura floral, también es visible la llegada de insectos muy pequeños que visitan la inflorescencia en las horas de oscuridad. Por esta razón, concluimos que la fuente de luz colocada durante la noche no alteró la visita de los insectos al momento de la antesis.

5.1 COMUNIDADES DE INSECTOS ASOCIADOS A LAS INFLORESCENCIAS DE *P. AEQUATORIALIS*

5.1.1 CURVA DE ACUMULACIÓN

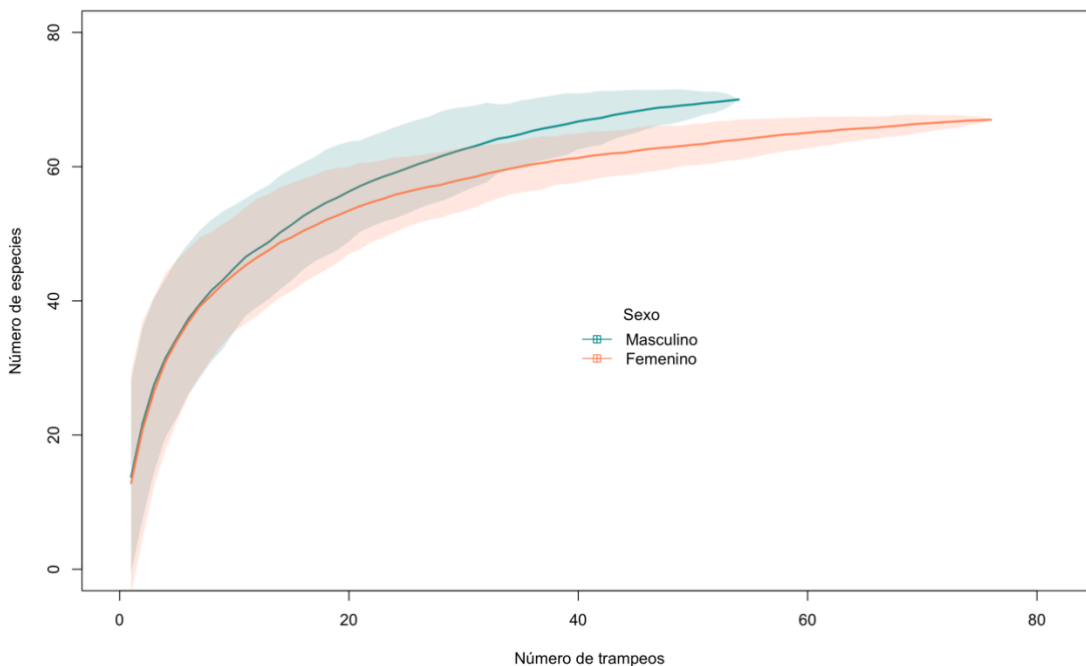


Figura 1. Curva de acumulación de especies para un determinado número de trampeos en las inflorescencias masculinas (verde, trampeos = 54) y femeninas (naranja, trampeos = 76) de *P. aequatorialis*. La zona sombreada representa la desviación estándar para cada valor de la curva. Elaborado utilizando el programa Rstudio (paquete VEGAN y función *specaccum* mediante la randomización de los trampeos y 100 permutaciones).

Al analizar la curva de acumulación de especies de la figura 1, las curvas para las inflorescencias masculinas y femeninas llegan a una asintota y se mantienen hacia el final del total de muestreos. Esto refleja un esfuerzo de muestreo estadísticamente representativo de la diversidad de visitantes florales; puesto que se logró capturar y registrar la mayoría de morfoespecies que conforman la comunidad de visitantes florales.

5.1.2 ÍNDICES DE DIVERSIDAD

La tabla 1 muestra valores bajos para el índice de Simpson, inverso de Simpson y de Evenness lo cual refleja la dominancia de ciertos morfotipos en el muestreo. Además, un valor bajo en el índice de Shannon sugiere baja equidad y alta entropía.

Tabla 1. Media de índices de diversidad de los trampeos en inflorescencias masculinas (n = 54) y femeninas (n = 76) de *P. aequatorialis*.

	Shannon	Simpson	InvSimpson	Evenness
Masculino	1,636	0,681	3,931	0,171
Femenino	1,628	0,706	4,305	0,164

Shannon, índice de diversidad de Shannon; Simpson, índice de diversidad de Simpson; Invimpson, índice inverso de Simpson; Evenness, índice de uniformidad.

5.1.3 COMUNIDADES DE VISITANTES EN *P. AEQUATORIALIS* (NMDS)

El valor de estrés > 0,10 es un indicativo de una buena representación en dimensiones reducidas. Al analizar la figura 2, se observa un solapamiento de áreas entre los muestreos de flores masculinas y femeninas lo que indica un alto nivel de similitud en las comunidades de visitantes florales entre las inflorescencias lo que garantiza la funcionalidad de la polinización.

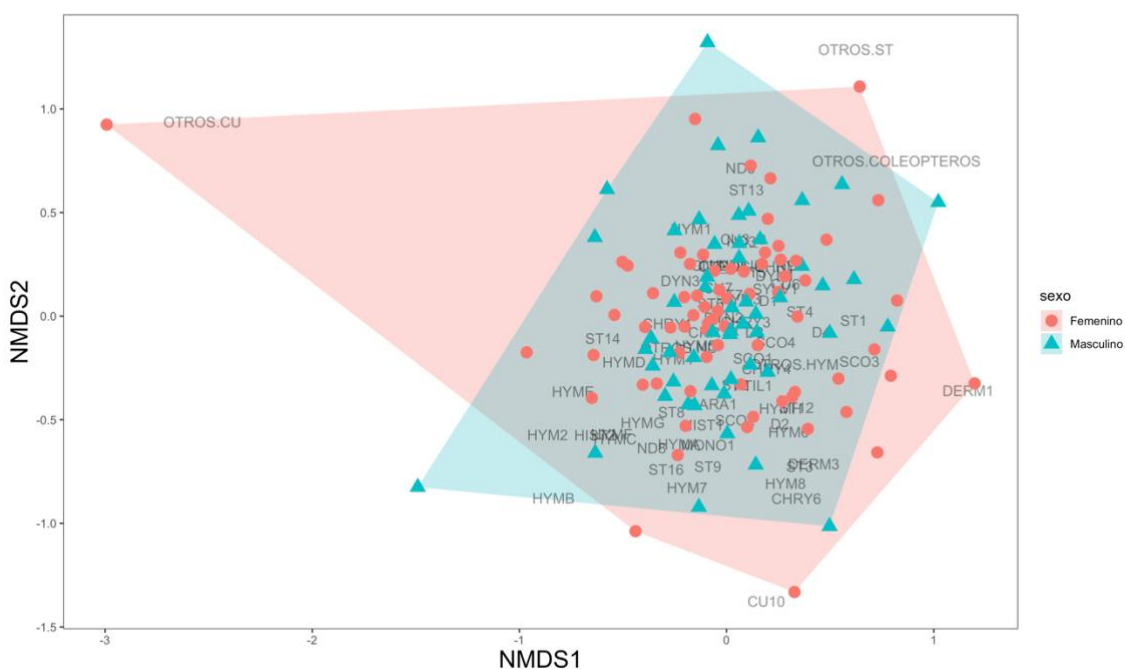


Figura 2. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) sobre las comunidades de insectos que visitan las inflorescencias masculinas (n = 54) y femeninas (n = 76) de *P. aequatorialis* en la Reserva Otongachi 2021. El valor de estrés (stress value) = 0,1483354 fue calculado con lenguaje R. La imagen es un gráfico de polígono realizado con el paquete GGLOT2 en Rstudio. Cada morfoespecie presenta un código según la familia o subfamilia a la que pertenece: Coleoptera: ST = Staphylinidae, CU = Curculionidae,

ND = Nitidulidae, HIST = Histeridae, SCO = Scolytinae, CHRY = Chrysomelidae, SYLV = Silvanidae, PTIL = Ptiliidae, MONO = Monotomidae, DYN = Dynastinae, CAR = Carabidae, DERM = Dermaptera, Hymenoptera = HYM, Diptera = D.

5.1.4 ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES (ANÁLISIS SIMPER)

Análisis Simper para inflorescencias masculinas

Análisis Simper para inflorescencias femeninas

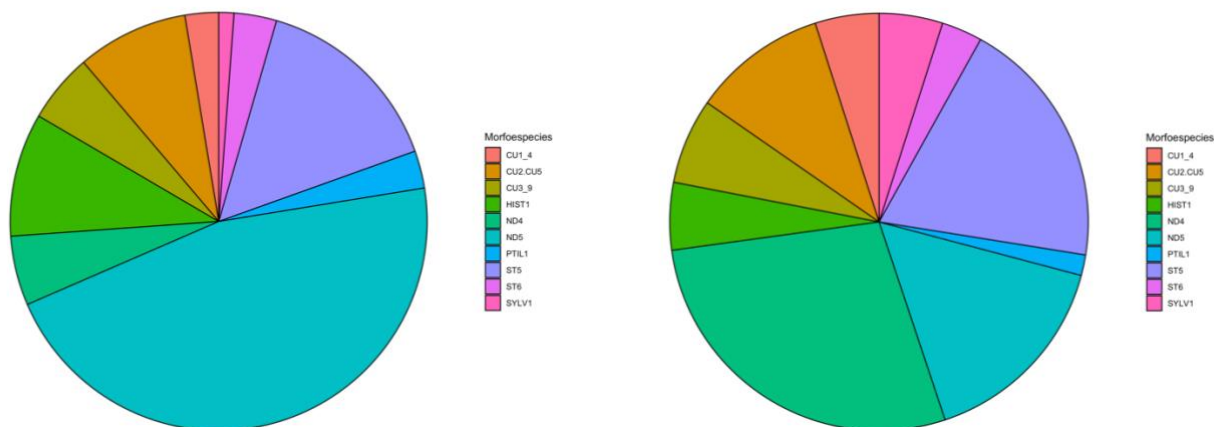


Figura 3. Gráfico de pastel con las abundancias medias por grupo de las comunidades de visitantes de las inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis*. A la izquierda los valores para las inflorescencias masculinas y a la derecha los valores para las inflorescencias femeninas. Las diez morfoespecies más abundantes para inflorescencias masculinas y femeninas calculadas en el análisis SIMPER con el paquete VEGAN para lenguaje en R.

En la figura 3 se observa que las mismas diez morfoespecies son las más representativas y abundantes en las inflorescencias masculinas y femeninas.

Tabla 2. Abundancias medias por grupo de las diez morfoespecies más abundantes calculadas en el análisis SIMPER.

Morfoespecie	% disimilitud	Masculino	Femenino
ND5	20,800%	93,741	45,260
ST5	12,220%	30,648	55,932
HIST1	7,470%	19,426	15,027
ND4	6,132%	10,926	80,260
CU2.CU5	5,650%	17,556	29,863
CU3_9	4,509%	10,889	19,014
PTIL1	3,159%	5,889	4,589

CU1_4	2,227%	5,296	14,178
ST6	1,870%	6,722	9,055
SYLV1	1,867%	2,389	14,123

% disimilitud, Porcentaje de disimilitud; Masculino, Abundancia media en la comunidad de insectos que visitan las inflorescencias masculinas; Femenino, Abundancia media en la comunidad de insectos que visitan las inflorescencias femeninas, ST, Staphylinidae; CU, Curculionidae; ND, Nitidulidae; HIST, Histeridae; SYLV, Silvanidae; PTIL, Ptiliidae.

Estas diez morfoespecies son las más abundantes en la comunidad de insectos y contribuyen a la similitud media entre el grupo de visitantes de las inflorescencias masculinas y femeninas.

5.2 COLECCIÓN DE OLORES

5.2.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS DE OLORES FLORALES

Los análisis cromatográficos de las muestras tomadas (n = 11) durante la antesis de las inflorescencias masculinas y femeninas reflejaron que el químico volatilizado más representativo corresponde al p-metil anisol (~18 minutos; Figura 4). Este patrón fue detectado tanto en las flores femeninas como en las masculinas.

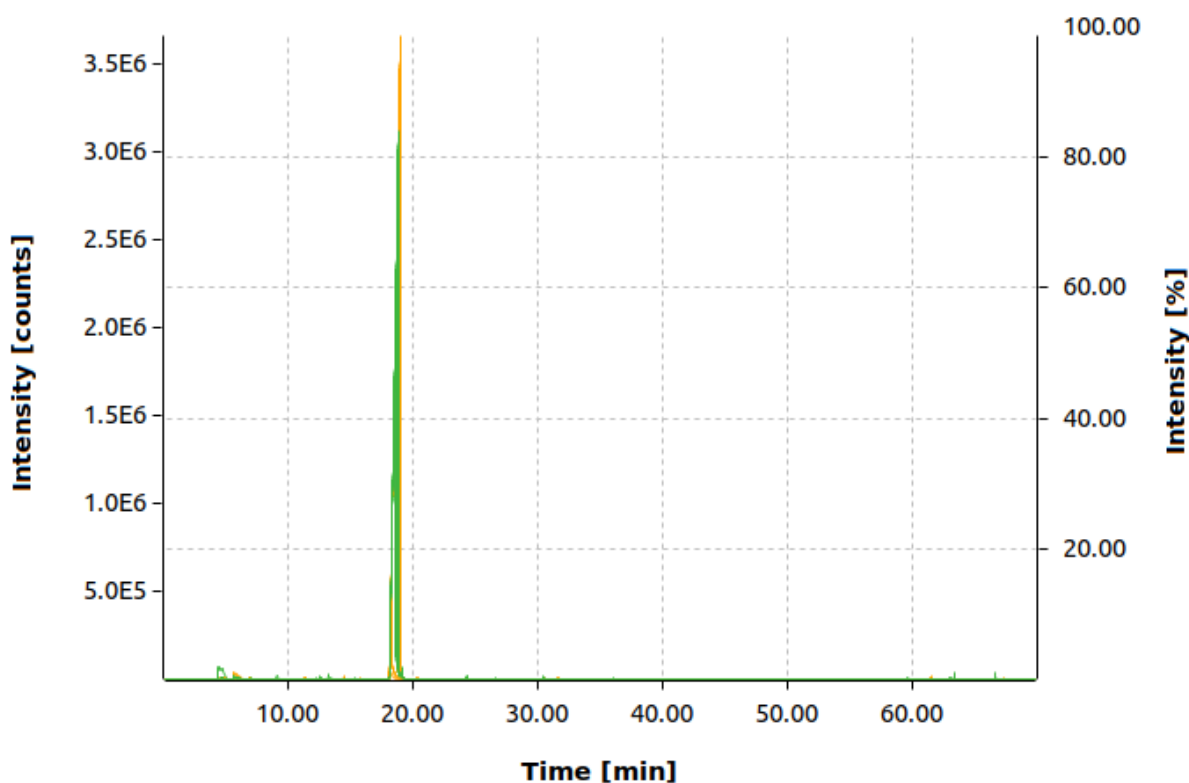


Figura 4. Superposición de picos detectados en las cromatografías con el programa OpenChrome de la muestra de olores colectados en inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis* en antesis. El pico predominante ~18 minutos corresponde al p-metil anisol. Las líneas naranjas corresponden a inflorescencias femeninas (n = 6) y las líneas verdes a inflorescencias masculinas (n = 5).

Adicionalmente, se realizó una prueba de arranque (bootstrapping) y comprobación de las diferencias entre los grupos en Rstudio 4.1.1. (paquete VEGAN, función *adonis* por el método Bray Curtis). Como resultado, se obtuvo una probabilidad de 0,09 que es mayor al nivel de significancia (p -valor > 0,05). Por lo tanto, se acepta la hipótesis nula (H_0) cuya declaración determina que no existe ninguna diferencia entre los picos de detección de compuestos entre las inflorescencias femeninas y masculinas.

Tres muestreos femeninos (SPME-9A_001 con un área del pico detectado a los ~18 minutos de 7084760, B7B = 77467587, SPME-B7C_001 = 41674171) y un muestreo masculino (B9B = 486592476) fueron removidos puesto que corresponden a valores extremos aberrantes. De este modo, se obtiene una mejor visualización de la mayoría de datos en la figura 4.

5.2.2 ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) SOBRE LA CANTIDAD DE P-METIL ANISOL EN FLORES MASCULINAS Y FEMENINAS

Inicialmente se probaron los supuestos ANOVA para el conjunto de datos. Los datos cumplen con los requerimientos de distribución normal (se acepta H_0 ; $p = 0,06543 > 0,05$), de varianzas iguales (se acepta H_0 ; $p = 0,9922 > 0,05$) y de independencia al ser un modelo dioico en el cual las inflorescencias femeninas están separadas de las inflorescencias masculinas.

Tabla 3. Análisis de varianza de un factor realizado con Análisis de Datos de Excel sobre la comparación de porcentajes del pico ~18 minutos (p-metil anisol) entre inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis*.

	Promedio	Varianza	Probabilidad	F	Fcrítico
Masculino	97,2486	2,3079103	0,526878002	0,4432554	5,59144785
Femenino	97,92875	2,33431092			

El valor F es menor que Fcrítico ($0,4432554 < 5,59144785$) y el valor de probabilidad es mayor al nivel de significancia ($0,526878002 > 0,05$). Ambas condiciones aceptan la hipótesis nula (H_0), es decir, no existe ninguna diferencia en la cantidad de p-metil anisol emitido por las inflorescencias de ambos sexos.

Dos muestreos femeninos (SPME-9A_001 con un porcentaje de p-metil anisol del 20,503% en relación a la cantidad total de volátiles detectados y SPME-B7C_001 = 65,104%) y un muestreo masculino (B9B = 52,401%) fueron removidos puesto que corresponden a valores extremos aberrantes. Sin embargo, el análisis de varianza incluyendo estos datos produce un resultado similar, con un valor p de 0,5107694 que conduce a la misma decisión de aceptar la hipótesis nula.

5.3 PRODUCCIÓN DE CALOR

5.3.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Aquí se presentan los resultados de los análisis en cinco muestreos femeninos y cuatro muestreos masculinos. Sin embargo, para dos de los muestreos en inflorescencias femeninas (B-041_Fa y B-041_Fb) solamente se conocía el día de antesis. Por lo tanto, se estimó la hora de antesis (~18:00) en base a registros en la literatura y a nuestras observaciones en campo sobre la hora de la apertura floral femenina. Los resultados empleando estos datos fueron muy similares a los resultados que incluyen únicamente los tres muestreos de los cuales sí conocemos la hora de antesis exacta.

Además, se eliminó del conjunto de datos al muestreo FMA_1 en una inflorescencia masculina debido a que los valores reportados de temperatura se encontraban por debajo de la temperatura ambiental. Las posibles causas de estos datos aberrantes se discuten más adelante.

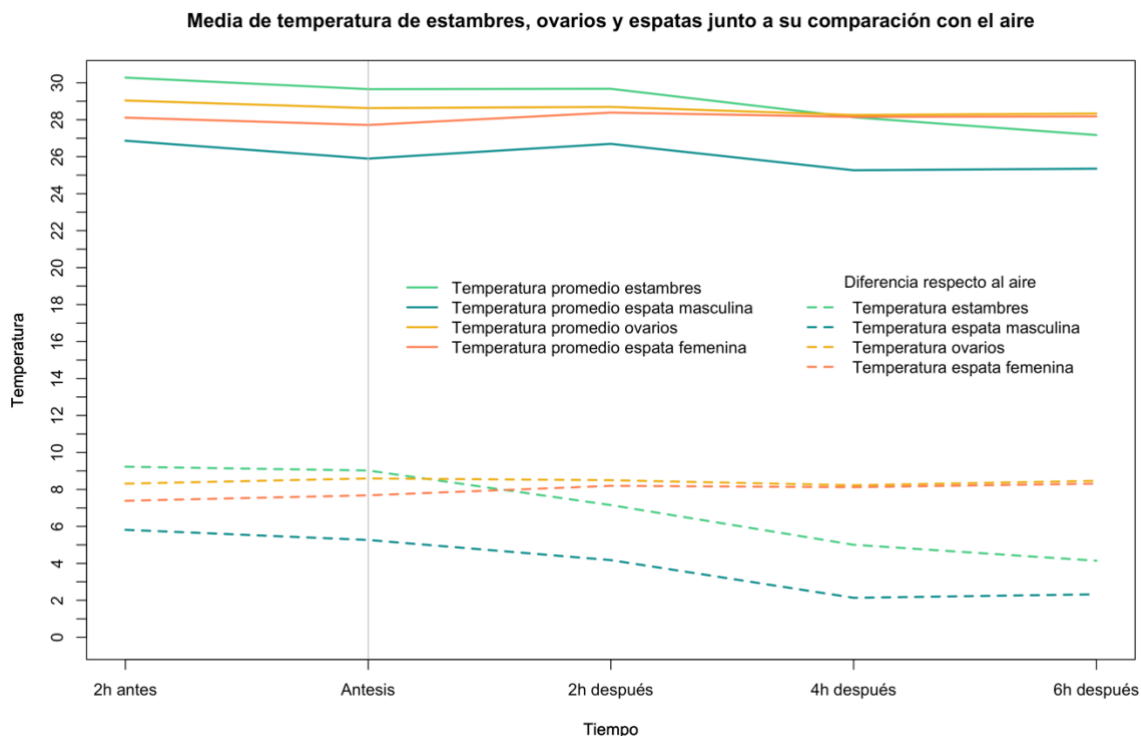


Figura 5. Patrones de variación térmica del promedio de las temperaturas máximas de los diferentes tejidos en inflorescencias femeninas (n = 5) y masculinas (n = 4) de *P. aequatorialis*, antes, durante y después de la antesis floral. Las líneas sólidas corresponden al cambio de temperatura antes de la antesis (2h antes), durante la antesis y después de la antesis (2h después, 4h después y 6h después). Las líneas entrecortadas representan la diferencia de temperatura de los tejidos en relación con la temperatura del aire en el período de tiempo de ocho horas (antes, durante y después de la antesis).

Los tejidos que presentan mayor temperatura son la base de los estambres (inflorescencias masculinas) y la base de los ovarios (inflorescencias femeninas), a comparación de sus respectivas brácteas (espatas). En la apertura floral la media de temperatura de los estambres es de 29,66°C (9,023°C por sobre el ambiente) y de la espata masculina de 25,90°C (5,27°C por sobre el ambiente). Mientras que, durante la antesis, el promedio de temperatura de los ovarios es de 28,63°C (8,59°C por encima del ambiente) y de la espata femenina de 27,72°C (7,68°C por encima del ambiente).

Con respecto a la variación de la temperatura en las inflorescencias masculinas, se observa una disminución progresiva de temperatura de los estambres (dos horas antes = 30,28°C hasta seis horas después = 27,17°C) y de

la espata o bráctea masculina (dos horas antes = 26,87°C hasta seis horas después = 25,35°C) después de la apertura floral. Esta disminución es aún más notoria si comparamos la temperatura de estos tejidos en relación con la temperatura del aire. Para los estambres esta diferencia va desde 9,23°C más que la temperatura del aire dos horas antes de la antesis hasta 4,14°C más que la temperatura del aire seis horas después de la antesis. Para la bráctea masculina esta diferencia va desde 5,82°C dos horas antes de la antesis hasta 2,32°C seis horas después de la antesis.

Por otro lado, en las inflorescencias femeninas se observa muy poca variación, es decir, se mantiene más o menos constante la temperatura de los ovarios (dos horas antes = 29,04°C hasta seis horas después = 28,34°C) y de la espata o bráctea femenina (dos horas antes = 28,11°C hasta seis horas después = 28,18°C) después de la apertura floral. Esta poca variabilidad es mucho más evidente si comparamos la temperatura de estos tejidos en relación con la temperatura del aire. Para los ovarios la diferencia va desde 8,31°C más que la temperatura del aire dos horas antes de la antesis hasta 8,47°C más que la temperatura del aire seis horas después de la antesis. Para la bráctea femenina esta diferencia va desde 7,39°C dos horas antes de la antesis hasta 8,31°C seis horas después de la antesis.

5.4 ENSAYOS DE ATRACCIÓN DE INSECTOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE CALOR-OLOR-HUMEDAD

Durante los ensayos de interacción se capturaron un total de 4.477 visitantes florales pertenecientes a 43 morfoespecies. Con respecto a la abundancia de morfoespecies, los Coleoptera representaron el 81,06% del número total de insectos recolectados, seguidos por los Diptera en un 18,27% y únicamente 0,67% de Hymenoptera. En los coleópteros predominan tres familias taxonómicas, Nitidulidae (40,23% del total de coleópteros), Curculionidae (33,89%) y Staphylinidae (16,89%). Dentro de los coleópteros también se incluyen las siguientes familias o subfamilias menos abundantes: Silvanidae (6,23%), Chrysomelidae (1,27%), Dynastinae (0,61%), Histeridae (0,55%), Scolytinae (0,17%), Ptiliidae (0,03%) y Dermaptera (0,06%).

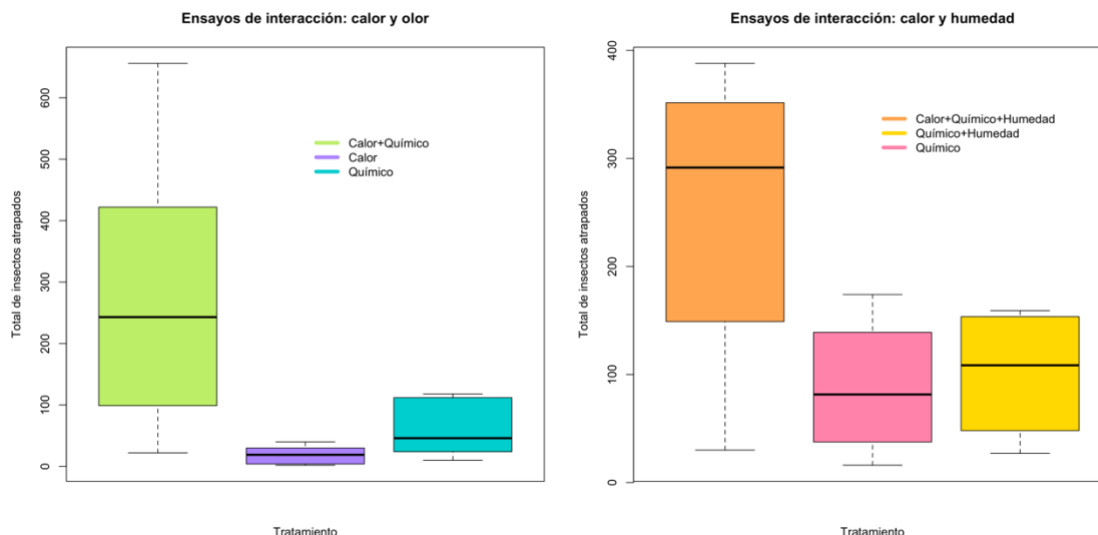


Figura 6. Gráfico de caja del número de insectos capturados en los tres tratamientos de cada experimentación en campo (calor y olor; calor y humedad). A la izquierda las cantidades totales para los ensayos de calor y olor, y a la derecha las cantidades totales para los ensayos de calor y humedad. Círculo blanco = valor extremo. Barra inferior = valor mínimo. Borde inferior de la caja = primer cuartil (Q1). Línea sólida gruesa = mediana o segundo cuartil (Q2). Borde superior de la caja = tercer cuartil (Q3). Rango intercuartil (Q1 – Q3). Barra superior = valor máximo. Gráfico elaborado con el programa Rstudio (boxplot).

La figura 6 muestra diferencias significativas en la cantidad de insectos atraídos en los tres diferentes tratamientos. En el experimento de interacción de calor y olor, el tratamiento con el rendimiento más bajo (menor cantidad de insectos atraídos) fue el que solo utilizó agua caliente ($\sim 50^{\circ}\text{C}$, *Calor*) con un promedio de insectos atraídos de 19; seguido por el tratamiento que utilizó únicamente el químico (p-metil anisol 0,200 mL, *Químico*) con un promedio de insectos atraídos de 60,17. El tratamiento que combinó ambos componentes (*Calor+Químico*) fue el de mayor rendimiento con un promedio de insectos atraídos de 263,33.

En el experimento de interacción de calor y humedad, el tratamiento con el rendimiento más bajo fue el que empleó únicamente el químico (p-metil anisol 0,200 mL, *Químico*) con un promedio de insectos atraídos de 88,25; seguido por el tratamiento que utilizó el químico junto con agua a temperatura ambiente (0,200 mL, *Químico+Humedad*) con un promedio de insectos atraídos de 100,75. El tratamiento que atrajo la mayor cantidad de insectos con un promedio de insectos atraídos de 250,25 fue el

que utilizó un termo con agua caliente ($\sim 50^{\circ}\text{C}$) y sobre el parafilm el químico y agua a temperatura ambiente (*Calor+Químico+Humedad*).

5.4.1 PRUEBAS PARAMÉTRICAS Y NO PARAMÉTRICAS

Se probaron los supuestos ANOVA utilizando Rstudio para el ensayo de interacción: calor y químico. Para el conjunto de datos del total de insectos atrapados en cada tratamiento se realizó una transformación logarítmica. De esta forma, los datos cumplieron con el supuesto de normalidad (se acepta H_0 ; $p = 0,906 > 0,05$) y con el supuesto de varianza igual (se acepta H_0 ; $p = 0,7432 > 0,05$). Para el último supuesto se comprueba la independencia ya que en la configuración del experimento se realizó un diseño aleatorio (aleatorización de orden y de colector).

Tabla 4. Resultados del análisis de varianza de dos factores realizado con Rstudio sobre la cantidad de insectos atraídos (con transformación logarítmica) en cada tratamiento en el ensayo de interacción de calor y olor.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Temperatura	1	0,1876	0,1876	1,0195	0,3268
Olor	1	5,9257	5,9257	32,2092	2,738e-05 ***

Df, grados de libertad; Sum Sq, suma de cuadrados; Mean Sq, cuadrados medios; F value, valor F; Pr(>F), probabilidad del estadístico F.

Los resultados muestran que no hay diferencias significativas ($p = 0,3268 > 0,05$) en el número de insectos atraídos entre los tratamientos de frío y calor. Sobre los tratamientos con y sin químico hay diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p = 2,738e-05 < 0,05$). Por último, no se pudo determinar la interacción entre ambos tratamientos debido a que el valor de grados de libertad (Df) es cero, lo que imposibilita el cálculo de la interacción.

En el test de Friedman, en los datos brutos sin transformación, se obtuvo evidencia estadística de que el número de insectos atraídos es diferente según la

temperatura y la presencia o ausencia de químico con una significancia de 0,05 ($p = 0,0057 < 0,05$). Las comparaciones entre pares mediante Wilcoxon-Mann-Whitney revelaron que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Esto podría explicarse por el bajo número de réplicas ($n = 6$).

También se probaron los supuestos ANOVA utilizando Rstudio para el ensayo de interacción: calor y humedad. Para el supuesto de normalidad se acepta la hipótesis nula ($p = 0,1691 > 0,05$). Para el supuesto de varianza igual también se acepta la hipótesis nula ($p = 0,2478 > 0,05$). Para el último supuesto se comprueba la independencia ya que en la configuración del experimento se realizó un diseño aleatorio (aleatorización de orden).

Tabla 5. Análisis de varianza de dos factores realizado con Rstudio sobre la cantidad de insectos atraídos en cada tratamiento en el ensayo interacción de calor y humedad.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Temperatura	1	64688	64688	5,9564	0,03733 *
Humedad	1	312	312	0,0288	0,86905

Df, grados de libertad; Sum Sq, suma de cuadrados; Mean Sq, cuadrados medios; F value, valor F; Pr(>F), probabilidad del estadístico F.

Sobre la diferencia entre frío y calor se acepta la hipótesis alternativa ($p = 0,03733 < 0,05$) es decir, hay diferencias significativas entre ambos tratamientos. Sobre la diferencia entre con y sin humedad se acepta la hipótesis nula ($p = 0,86905 > 0,05$), es decir, no hay diferencia entre ambos tratamientos. Por último, tampoco se pudo determinar la interacción entre ambos tratamientos debido a que el valor de grados de libertad (Df) es cero. Esto también se atribuye a la poca cantidad de replicaciones ($n = 4$).

6 DISCUSIÓN

6.1 ENTOMOFAUNA DE LA TAGUA

6.1.1 DIVERSIDAD DE VISITANTES

La reproducción en palmas dioicas se caracteriza por un sistema de polinización generalista (Ríos, Fuchs, Hodel y Cascante-Marín, 2014; Barbosa et al., 2020) acompañado de una especificidad taxonómica baja de la entomofauna (Listabarth, 2001). Por ejemplo, la comunidad de visitantes florales en *Oenocarpus bataua* y *Wettinia kalbreyeri* está conformada por muchas especies con escasa frecuencia y pocas especies abundantes (Núñez, Isaza y Galeano, 2015; Lara et al., 2017). Estos patrones son similares a los resultados obtenidos en este estudio que describen al grupo de insectos en *P. aequatorialis* (Figura 1; Tabla 1; Tabla 2).

En este estudio se identificaron 66 morfoespecies para *P. aequatorialis*, la cual constituye una alta diversidad de entomofauna floral, en comparación con otras especies de palmas en el Neotrópico. La diversidad de visitantes florales en palmas es variable (Barfod et al., 2011), como es reportada para las siguientes especies neotropicales: *Coccothrinax argentata* (cinco especies de insectos; Khorsand Rosa y Koptur, 2009), *Geonoma irena* (siete especies; Borchsenius, 1997), *Manicaria saccifera* (ocho especies; Copete, Flórez y Núñez-Avellaneda, 2018), *Astrocaryum vulgare* (once especies; Consiglio y Bourne, 2001), *Calamus rudentum* (doce especies; Bøgh, 1996); *Phytelephas seemannii* (26 especies; Bernal y Ervik, 1996), *Bactris guineensis* (27 especies; Brieva-Oviedo, Maia y Núñez-Avellaneda, 2020); *Aiphanes erinacea* (28 especies; Borchsenius, 1993), *Licuala spinosa* (29 especies; Barfod, Burholt y Borchsenius, 2003), *Euterpe precatoria* (38 taxa; Küchmeister, Silberbauer-Gottsberger y Gottsberger, 1997), *Syagrus coronata* (48 morfoespecies artrópodos; Barbosa et al., 2020), *Acrocomia aculeata* (48 especies; Carreño-Barrera et al., 2021), *Hyospathe elegans* (60 especies; Listabarth, 2001), *O. bataua* (63 especies; Núñez et al., 2015) y *Mauritia flexuosa* con 85 especies (Mendes, de Melo Valente, Rêgo y Esposito, 2017). La alta diversidad de la

entomofauna en *P. aequatorialis* es solamente superada por *Mauritia flexuosa*, una palmera dioica con inflorescencias masivas y múltiples en los bosques amazónicos.

6.1.2 COMPOSICIÓN Y PRINCIPALES GRUPOS

La comunidad de insectos en *P. aequatorialis* corresponde a un diverso espectro de visitantes florales que comprende catorce familias con una clara predominancia del taxón Coleoptera (Figura 1; Figura 3). Además, la composición de la entomofauna es similar en las inflorescencias masculinas y femeninas (Figura 2). La similitud entre la entomofauna masculina y femenina en *P. aequatorialis* asegura el traslado de polen conoespecífico y la fertilización. Los primeros insectos en llegar a la inflorescencia femenina posiblemente son los principales portadores de polen para garantizar la fertilización de *Phytelephas*, inclusive en una sola visita (Bernal y Ervik, 1996; Ervik et al., 1999; King, Ballantyne y Willmer, 2013). Estos son mayoritariamente escarabajos (cantarofilia) que pertenecen a Aleocharinae (Staphylinidae), *Mystrops* (Nitidulidae) y *Phyllotrox* (Curculionidae), seguidos por abejas y moscas (Bernal y Ervik, 1996; Ervik et al., 1999; Listabarth, 2001; Barfod et al., 2011; Lara et al., 2017). La polinización cantarófila también ha sido reportada en *Oenocarpus*, *E. precatória* (Listabarth, 2001), *P. seemannii* (Bernal y Ervik, 1996), *W. kalbreyeri* (Lara et al., 2017) y en *M. flexuosa* constituyen el 90% del total de visitantes (Mendes et al., 2017). Los resultados de nuestro estudio coinciden con los datos mencionados anteriormente, donde los coleópteros (96,58%) constituyeron los principales visitantes de las inflorescencias (masculinas y femeninas).

En los Staphylinidae varias especies de la subfamilia Aleocharinae son polinizadores de *Phytelephas* y *Aphandra natalia* (Ervik et al., 1999). En *P. seemannii* los polinizadores principales son tres especies de *Amazoncharis* y sus depredadores *Xanthopygus* (Bernal y Ervik, 1996). Los estafilínidos también cumplen un rol polinizador en *Phytelephas tenuicaulis*, *M. saccifera* y *Welfia regia* (Sayers, Steinbauer y Miller, 2019). Los Curculionidae son los visitantes más recurrentes en las palmas; en *M. flexuosa* representan el 70% de todos los insectos atraídos (Mendes et al., 2017). Algunos de los más destacados están dentro de la tribu Derelomini (*A. aculeata*) como *Phyllothrox* (*P. microcarpa*) y *Derelomus* (*O.*

bataua), y la subfamilia Baridinae (*A. natalia*; Bernal y Ervik, 1996; Barfod et al., 2011, Núñez et al, 2015; Carreño-Barrera et al., 2021). *Elaeidobius kamerunicus* es el polinizador principal de la palma aceitera de África (Barfod et al., 2011). Mientras que *Anchylorhynchus trapezicollis* poliniza a *Syagrus coronata* (De Medeiros, Núñez-Avellaneda, Hernandez y Farrell, 2019). Los Nitidulidae que visitan las palmas se encuentran a menudo en *Mystrops* y *Epurea* (Barfod et al., 2011). Sobre todo miembros de la tribu Mystropini son polinizadores importantes de palmas cultivadas (e.g. *Elaeis oleifera* y *Bactris gasipaes*) y silvestres (e.g. *Attalea phalerata*, *Syagrus smithii*, *P. tenuicaulis*, *M. saccifera*, *Ceroxylon quindiuense*, *Iriarteia deltoidea* y *O. bataua*; Kirejtshuk y Couturier, 2010; Barfod et al., 2011; Guerrero-Olaya y Núñez-Avellaneda, 2017; Copete et al., 2018). Nuestro estudio confirma la importancia de estos tres grupos en la potencial transferencia de polen de *P. aequatorialis* desde las flores masculinas hasta las femeninas (Figura 2; Figura 3). Los Scarabaeidae son polinizadores de importancia secundaria en *B. gasipaes*, *E. precatória* (Küchmeister et al., 1997), *Astrocaryum* y *Acrocomia* (*Cyclocephala*; Barfod et al., 2011); sin embargo, no encontramos una alta relevancia de este grupo en la polinización de *P. aequatorialis* en este estudio.

Adicionalmente, reportamos tres morfoespecies pertenecientes a las familias Histeridae (HIST1), Ptiliidae (PTIL1) y Silvanidae (SYLV1) como parte de las diez morfoespecies más abundantes en las inflorescencias masculinas y femeninas (Figura 3; Tabla 2). Proponemos que las morfoespecies de las familias mencionadas anteriormente podrían tener un papel importante en la transferencia de polen junto con los nitidúlidos, estafilínidos y curculiónidos. Incluso en las fotografías con focus stacking se observa a HIST1 y a ND5 con muchos granos de polen adheridos a sus cuerpos.

Los coleópteros son los polinizadores más eficientes para palmas como *Aphandra* y *Phytelephas* porque permanecen toda la noche en la inflorescencia estaminada, son los más abundantes y los primeros en llegar a la flor pistilada (Ervik et al., 1999). Por último, sus comportamientos de aislamiento, penetración en tejidos florales y aseo facilitan la deposición de polen en la superficie estigmática basal (Bernal y Ervik, 1996; Mendes et al., 2017). Además, en cada inflorescencia femenina hay una poca cantidad de óvulos y unos cuantos granos de polen son

suficientes para la fertilización eficiente (Ervik et al., 1999). Dada la predominancia de escarabajos en nuestros muestreos estimamos que entre estos visitantes se encuentran los potenciales polinizadores de *P. aequatorialis*.

Bernal y Ervik (1996) reportan himenópteros en la polinización *P. seemannii* (Apidae y Vespidae), *Prestoea decurrens* (Listabarth, 2001), *Euterpe oleracea*, *E. edulis* (Küchmeister et al., 1997), *A. aculeata* (Apidae; Carreño-Barrera et al., 2021) y *P. aequatorialis* (abejas *Trigona* en brotes de ambos sexos; Pincebourde et al., 2016). Sin embargo, las abejas llevan una carga de polen muy baja (Ervik et al., 1999). En varias especies vegetales dioicas de *Solanum*, *Clusia* y *Carica* las *Trigona* son visitantes pero no polinizadoras (Khorsand Rosa y Koptur, 2013), y en *M. flexuosa* y *A. vulgare* las abejas son saqueadoras (Consiglio y Bourne, 2001; Mendes et al., 2017). En el presente estudio reportamos un porcentaje de visitación en *P. aequatorialis* de Hymenoptera de apenas 2,46%.

Los dípteros Drosophilidae y Sphaeroceridae visitan la flor estaminada de *P. seemannii* (Bernal y Ervik, 1996) y las moscas sírfidas son las polinizadoras principales en *Prestoea schultzeana* (Listabarth, 2001). El rol polinizador de las drosófilas es insignificante a causa de sus reducidas cargas polínicas y comportamiento de sedentarismo (Ervik et al., 1999). Incluso si se excluye a abejas y drosófilas durante la polinización de *P. seemannii*, se obtiene una completa fructificación (Bernal y Ervik, 1996). En nuestro estudio los dípteros representan el 0,96% del total de insectos atraídos por *P. aequatorialis*.

6.1.3 ABUNDANCIA DURANTE LA ANTESIS

En Phytelepheeae se estima que son miles los insectos, en especial coleópteros, que visitan las inflorescencias (Barfod et al., 2011). Evidencia videográfica y experiencia en campo corroboran la anterior premisa para *P. aequatorialis*. En nuestro estudio, la máxima cantidad de visitantes registrados en un solo muestreo fue de 2.327 en una inflorescencia femenina de pastizal. Además, durante tres meses en campo, el número total de individuos colectados en nuestro estudio en *P. aequatorialis* fue de 36.452. En contraste, en cuatro años se colectaron 46.873 insectos que visitan *M. flexuosa* (Mendes et al., 2017). La

abundancia de visitantes que llegan a las inflorescencias de *P. aequatorialis* en el período de antesis concuerda con los valores esperados para palmas de inflorescencias grandes y polinización cantarófila.

Estos valores también coinciden con resultados previos obtenidos para palmeras de la región en donde se observa una gran variación en la abundancia. Por ejemplo, especies con inflorescencias pequeñas y un bajo número de flores como *Geonoma irena* presentaron un reducido número de individuos en la antesis (menos de diez visitantes; Borchsenius, 1997). Sin embargo, esta cifra se incrementa cuando el tamaño de la inflorescencia es mayor, por ejemplo *M. saccifera* (máximo 776 visitantes en cada inflorescencia; Copete et al., 2018), *S. smithii* (1.020 insectos en la inflorescencia pistilada y 7.510 en la estaminada; Guerrero-Olaya y Núñez-Avellaneda, 2017), *P. tenuicaulis* (más de 10.000 visitantes) y *B. gasipaes* (40.000 o 100.000 insectos en una inflorescencia al principio de la antesis; Barfod et al., 2011).

Los visitantes que arriban a la inflorescencia pistilada seguramente provienen de una estaminada puesto que la cantidad de insectos *Amazoncharis* es de 700 a 1.000 veces mayor en la flor masculina (*P. seemannii*; Bernal y Ervik, 1996). Durante la primera hora de apertura floral, llegan entre 600 y 1.800 estafilínidos a la flor femenina de *P. seemannii* (Bernal y Ervik, 1996). Posterior a la antesis en *P. tenuicaulis* se colectaron 6.000 estafilínidos, 3.500 *Phyllotrox* y 300 *Mystrops* (Barfod, Henderson y Balslev, 1987). Además, a una inflorescencia estaminada de *E. precatória* acudieron aproximadamente 1.000 estafilínidos, 1.000 Chrysomelidae, 1.000 *Phyllotrox* y ~500 abejas (Küchmeister et al., 1997). Por otro lado, a una inflorescencia masculina en *Chamaedorea* llegan más de 2.000 insectos trips (Ríos et al., 2014). En cada inflorescencia de *M. flexuosa* se contaron 500 individuos de *Grasidius* sp. 1 (Acalyptini/Derelomini; Mendes et al., 2017). A una inflorescencia recién abierta de *A. vulgare* acudieron 30.000 nitidúlidos (Consiglio y Bourne, 2001). Para *H. elegans* se propone que el éxito reproductivo se atribuye a una alta tasa de visitación (Listabarth, 2001).

Estas cifras no son estrictamente comparables debido a la falta de estandarización de las mediciones de cada uno de los reportes presentados. A

pesar de esto, nos permiten dilucidar a grandes rasgos la abundancia de visitantes que llegan a las inflorescencias de *P. aequatorialis* en un momento de la antesis.

6.2 P-METIL ANISOL Y SU ROL EN LA QUÍMICA DE *P. AEQUATORIALIS*

En nuestro estudio, el compuesto químico dominante en el olor de *P. aequatorialis* es el p-metil anisol o 1-metoxi-4-metil benceno tanto en las inflorescencias masculinas como en las femeninas (Figura 4). Este compuesto fue reportado anteriormente por Ervik et al. (1999) para *Phytelephas aequatorialis*, *P. seemannii* y *P. macrocarpa*. Al igual que en otros modelos de polinización cantarófila, en *P. aequatorialis* el olor representa una importante señal olfativa y se compone de uno o pocos compuestos muy abundantes (Knudsen et al., 2001; Meekijjaroenroj, Bessière y Anstett, 2007). Este patrón de composición por dominancia caracteriza a *Wettinia*, *Bactris*, *Geonoma* y *Phytelephantoideae* (Barbosa et al., 2020). De hecho, la química floral de las palmas puede utilizarse como carácter diagnóstico a nivel de especie debido a su alta estabilidad (Barfod et al., 2011).

Los tres muestreos retirados para los análisis (SPME-9A_001, SPME-B7C_001 y B9B) presentaron bajos porcentajes de p-metil anisol posiblemente porque (i) la colección de olores se realizó en inflorescencias que no se encontraban en el primer día de antesis, (ii) hubo fallas en el procedimiento de colección de olores en campo, (iii) las muestras no fueron conservadas apropiadamente y bajo refrigeración, (iv) ocurrieron errores durante las cromatografías o (v) hay variación intraespecífica en la cantidad de p-metil anisol liberado durante la antesis dentro de esta población de *P. aequatorialis*.

Algunas palmas utilizan componentes particulares como acetato de metilo (*Attalea phalerata*; Maia et al., 2021), derivados de la degradación de carotenoides (*Nypa fruticans*; Azuma, Toyota, Asakawa, Takaso y Tobe, 2002) y en el caso de *P. aequatorialis* el p-metil anisol (bencenoide; Ervik et al., 1999). A pesar de pertenecer al mismo linaje evolutivo, los olores florales de *Ammandra* se componen principalmente de sesquiterpenos (isoprenoides), en *Aphandra* encontramos a la (+)-2-metoxi-3-sec-butilpirazina (compuesto nitrogenado; Knudsen et al., 2001;

Dobson, 2006). Además, las vías metabólicas para elaborar estos componentes también son distintas (Barfod et al., 2011). Las palmas de la subfamilia Phytelephantoideae emplean componentes específicos para la atracción preferencial de polinizadores (Ervik et al., 1999; Knudsen et al., 2001). La especificidad de la entomofauna, a causa del aroma, puede ser un indicador de coevolución (Ervik et al., 1999).

Entre otros de los compuestos reportados en el aroma de las palmas se encuentran derivados de ácidos grasos (Knudsen, 1999; Knudsen et al., 2001), en particular, *W. kalbreyeri* presenta un 95,4% de 3-pentanona (Knudsen et al., 2001). Gran cantidad de las palmas presentan olores florales dominados por una variedad de isoprenoides (Knudsen, Andersson y Bergman, 1999; Knudsen et al., 2001; Dufay, Hossaert-McKey y Anstett, 2004; Núñez, Bernal y Knudsen, 2005; Dobson, 2006; Meekijjaroenroj et al., 2007; Núñez-Avellaneda y Rojas-Robles, 2008; Ríos et al., 2014; Barbosa et al., 2020). Para *S. coronata* el principal es (E)- β -ocimeno (86,1%♂ y 91,5%♀; Barbosa et al., 2020). También encontramos compuestos nitrogenados en el olor de las flores de arecáceas (Knudsen et al., 2001; Núñez et al., 2005; Maia et al., 2018; Maia et al., 2021). Con respecto a los bencenoides, el aroma de *A. aculeata* presenta entre 97,56% y 99,99% de 4-metil anisol (Maia et al., 2019) y *Elaeis guineensis* utiliza principalmente metil chavicol (Yousefi et al., 2020). Esta agrupación según la composición química floral no se correlaciona con la clasificación filogenética, lo que indicaría la evolución convergente de los distintos componentes (Knudsen et al., 2001; Meekijjaroenroj et al., 2007).

Nuestros resultados sugieren que la química floral de *P. aequatorialis* es consistente con modelos previamente descritos para especies tropicales polinizadas por escarabajos. Además, proponemos que esta especificidad química en el olor atrae particularmente a escarabajos de los grupos antes mencionados.

6.2.1 DISTINCIÓN ENTRE SEXOS FLORALES

Knudsen et al. (1999) revelaron que entre el 88% y el 95% de especies de palmas existe similitud química de olores florales de ambos sexos. Años después, Knudsen et al. (2001) registraron una similitud cuantitativa de olores florales

volatilizados por palmas de ambos sexos desde 61,3 % hasta 86,3% y cualitativa entre 63,5 y 96,6%. Cabe mencionar que puede existir variación en la composición del aroma dentro de una misma especie (Knudsen et al., 1999; Knudsen, 2002; Dufaÿ et al., 2004). Por ejemplo, tres poblaciones de *G. macrostachys* (Coca, Jatun Sacha y Cuyabeno - Ecuador) varían cuantitativa y cualitativamente en su composición de olor floral (Knudsen et al., 2001).

Ashman (2009) propone que por lo general las inflorescencias masculinas liberan mayor cantidad de aroma que las femeninas. Esto se ha registrado en *C. humilis* (Dufaÿ y Anstett, 2004), *A. phalerata* (Fava, da Silva Covre y Sigrist, 2011), *M. flexuosa* (Khorsand Rosa y Koptur, 2013; Mendes et al., 2017) y *E. guineensis* (Yousefi et al., 2020). En Cycadophyta los conos masculinos liberan aromas atrayentes pero el aumento de concentración ahuyenta a los trips y son atraídos hacia el olor menos intenso de los conos femeninos (Ashman, 2009). En el caso de las palmas Phyllocladaceae, cuando las flores masculinas disminuyen su receptividad, producción de calor y olor, las flores femeninas se abren calientes y perfumadas (Ashman, 2009). Nuestros datos sugieren un patrón contrario en la cantidad de aroma liberado, siendo las flores pistiladas las más perfumadas. Esta discrepancia puede deberse a que no hacemos una distinción entre muestras de bosque y pastizal. Por lo que, una comparación entre inflorescencias del mismo hábitat podría confirmar la propuesta de Ashman (2009).

Las inflorescencias de ambos sexos emiten un aroma muy similar en *P. seemannii* (Bernal y Ervik, 1996), *C. alpinum* (86,3% de similitud), *W. maynensis* (75,4%; Núñez-Avellaneda y Rojas-Robles, 2008), *C. macrospadix* (Ríos et al., 2014), *M. flexuosa* (83,7%; Núñez-Avellaneda y Rojas-Robles, 2008; Khorsand Rosa y Koptur, 2013), *Attalea microcarpa*, *Syagrus petraea* (Silberbauer-Gottsberger, Vanin y Gottsberger, 2013), *B. guineensis* (olor idéntico; Brieva-Oviedo et al., 2020), *E. guineensis* (Yousefi et al., 2020), *A. phalerata* (idéntico; Fava et al., 2011; Maia et al., 2021) y *S. coronata* (Barbosa et al., 2020). La alta similitud en los olores liberados por ambos sexos también se ha reportado en otros linajes como en las dioicas *Carica papaya* (Caricaceae), *S. caprea* y *S. cinerea* (Salicaceae; 83% - 89% de similitud), *Cycnoches densiflorum* (Orchidaceae; 96%;

Tollsten y Knudsen, 1992; Knudsen et al., 1999), *Siparuna* (Siparunaceae) y *Zamia* (Zamiaceae; Dufaÿ y Anstett, 2003).

Ervik et al. (1999) determinó que los olores liberados por las inflorescencias femeninas y masculinas tienen una semejanza del 76,5% en *Ammandra*, del 84,2% en *Aphandra* y más del 99% en *Phytelephas*.

Aquí reportamos una media de contenido de p-metil anisol del 97,25% en inflorescencias masculinas y del 97,93% en inflorescencias femeninas de *P. aequatorialis* durante la antesis floral (Tabla 3). Es decir, existe una gran similitud en la composición química de los olores florales de ambos sexos en *P. aequatorialis*. Esta semejanza posiblemente facilita el traslado de polen desde las anteras hasta los estigmas, por lo que el p-metil anisol es esencial en la interacción con polinizadores y en el éxito reproductivo de la tagua.

6.3 ECOLOGÍA TÉRMICA Y MIMETISMO

6.3.1 FUENTE DE CALOR Y DIFERENCIACIÓN SEXUAL

En este estudio reportamos que durante la antesis de *P. aequatorialis*, la máxima temperatura alcanzada por las flores estaminadas fue de 13,09°C y por la bráctea masculina de 9,46°C, ambas sobre el ambiente. Mientras que la máxima temperatura alcanzada en las flores pistiladas fue de 9,81°C y por la bráctea femenina de 8,88°C, ambas por encima del ambiente (Figura 5; Figura 7; Figura 8 en el material suplementario). Por otro lado, Pincebourde et al. (2016) reportaron que días antes de la antesis, los brotes de *P. aequatorialis* alcanzaron un máximo de temperatura de 10 a 20°C por sobre la temperatura ambiental.

Además, en este estudio en *P. aequatorialis* sugerimos que las flores en el interior del brote/yema son la fuente de la producción de calor por lo que presentan la temperatura máxima y calientan a la bráctea que las recubre la cual tiene una temperatura inferior. En las brácteas femeninas no se registró un gran descenso de temperatura posiblemente porque en la apertura floral la bráctea se mantiene cerca

de la inflorescencia. Mientras que las brácteas masculinas en la antesis se separan considerablemente más de la inflorescencia lo que explicaría que las brácteas masculinas disminuyan su temperatura de manera más rápida. En otros estudios con *Astrocaryum vulgare* y *Attalea allenii* la fuente del calor se detectó dentro de las inflorescencias (Consiglio y Bourne, 2001; Núñez et al., 2005). En *A. phalerata* el calentamiento se registra dentro de la bráctea estaminada pero no se percibe dentro de la bráctea pistilada (Fava et al., 2011).

Sin embargo, en el estudio de Pincebourde et al. (2016) en *P. aequatorialis* detectaron que en las inflorescencias femeninas la termogénesis provenía de las brácteas mas no de las flores en su interior. Pincebourde et al. (2016) proponen que la alta actividad metabólica para desarrollar las flores es la fuente de la producción de calor en las yemas. La discrepancia sobre el tejido termogénico pudo ocurrir en la forma de toma de datos u observaciones. Pincebourde et al. (2016) utilizaron fotografía infrarroja mientras que en este estudio se emplearon medidores (thermocouples) colocados directamente en los tejidos florales.

Las temperaturas máximas alcanzadas en las flores de palmeras por encima de la temperatura ambiental han sido reportadas hasta 10/12/14°C. En *N. fruticans* la termogénesis alcanza los 6°C y en otros estudios llega hasta 10°C antes y durante la antesis (Straarup, Hoppe, Pooma y Barfod, 2018). Doce horas antes de la antesis de *P. microcarpa*, en la bráctea externa de las inflorescencias masculinas y femeninas se registró un aumento de temperatura de 3°C y 2,3°C, respectivamente (Barfod et al., 1987).

En la apertura floral de *P. microcarpa*, la temperatura del interior de la bráctea pistilada fue de 8°C (Barfod et al., 1987). Para *A. allenii* el aumento de temperatura antes de la antesis fue de 1,6°C (♂) y 1,4°C (♀) y durante la antesis de 5,4°C (♂) y 7,0°C (♀; Núñez et al., 2005). Para *Wettinia quinaria* el calor durante la antesis alcanzó los 2,2°C (♂) y 3,2°C (♀; Núñez et al., 2005). En *O. bataua* se registran temperaturas de 5,2°C (♂) y 4°C (♀), en *O. minor* de 6,2°C (♂) y 7°C (♀), y en *O. balickii* de 4,8°C (♂) y 5,5°C (♀; Núñez et al., 2015). En *M. flexuosa* las flores presentaron de 0,5 a 1°C (♂) y de 4 a 5°C (♀) de aumento de temperatura (Mendes et al., 2017). En el caso de *B. guineensis* las flores llegan hasta 10°C (♂)

y 12°C (♀), pero en las femeninas se mantuvo esa temperatura por más tiempo (Brieva-Oviedo et al., 2020). En casi todas estas palmas, la flor femenina presentó el mayor aumento de temperatura.

Para *A. vulgare* el aumento de temperatura superó al ambiente por 14,4°C antes de la antesis y en las primeras horas de la antesis la temperatura alcanzó 2,9°C (♂) y 1,7°C (♀; Consiglio y Bourne, 2001). En otro estudio en *O. bataua* la producción de calor llegó a los 5,8 (♂) y 4,2°C (♀) por sobre el ambiente (Núñez-Avellaneda y Rojas-Robles, 2008). En las inflorescencias de *M. saccifera* la termogénesis alcanza los 4,7 (♂) y 4,0°C (♀; Copete et al., 2018). En estas palmas, las inflorescencias estaminadas registran la mayor temperatura.

En *P. aequatorialis* se sigue este patrón de mayor producción de calor en las inflorescencias masculinas durante la antesis pero en las inflorescencias femeninas ocurre la menor disminución de calor en el transcurso de la antesis (Figura 5).

La temperatura producida por los estambres de las flores masculinas descendió en promedio 4,88°C seis horas después de la antesis y en caso de los ovarios de las flores femeninas la temperatura bajó únicamente 0,13°C seis horas después de la antesis. Ervik et al. (1999) reportaron que la temperatura de las inflorescencias masculinas decrece al inicio de la antesis; y mantiene, por las siguientes 12 horas, una temperatura de 3°C por sobre la temperatura del ambiente. Por otro lado, las inflorescencias femeninas llegan a una temperatura máxima pocas horas posteriores a la antesis y por los siguientes días disminuyen paulatinamente la temperatura (Ervik et al., 1999).

Para la estadística descriptiva se retiró el muestreo FMA_1 realizado en una inflorescencia masculina debido a que en los tejidos florales y vegetales se presentaron valores de temperatura por debajo de la temperatura ambiental. Por ejemplo, en los estambres durante la antesis se detectó una temperatura de -0,58°C en comparación con el aire. Añadiendo este valor, el promedio de producción de calor durante la antesis en los estambres de las inflorescencias masculinas sería de 7,10°C por sobre la temperatura ambiental. Algunas posibles explicaciones para este valor mínimo podrían ser: (i) una baja temperatura

ambiental que disminuyó drásticamente la temperatura de la flor cuando esta se abrió, (ii) una falla en la detección de temperatura por los termocouples o por el HOBO, (iii) la desconexión del termocouple del tejido floral, (iv) al hacer la incisión hacia la base de la flor esta apertura pudo haber sido lo suficientemente grande como para que la baja temperatura ambiental enfriara el tejido en el cual colocamos la sonda hacia los estambres o (v) variación intraespecífica en la endotermia vegetal durante la antesis dentro de esta población de *P. aequatorialis*.

No obstante, los valores registrados en nuestro estudio (+10°C) son bastante altos para ambos sexos en comparación con otras palmas. Por esta razón, *P. aequatorialis* presenta la flor termogénica más grande reportada hasta la fecha.

6.3.2 BIOENSAYOS CON SEÑALES FLORALES

Pocos han sido los esfuerzos que determinan las interacciones de síndromes que maximizan la atracción (Nordström et al., 2017). También son escasos los estudios que evalúan la polinización bajo la integración de la composición química del olor y la producción de calor (Hoe et al., 2018).

En este estudio presentamos el mayor éxito de atracción de visitantes en los tratamientos *Calor+Químico* y *Calor+Químico+Humedad* (Figura 6). Sin embargo, nuestros ensayos reportan resultados ambiguos sobre el calor como recompensa energética. Los tratamientos con variación de temperatura no presentaron diferencias significativas en el primer experimento y sí mostraron diferencias en el segundo experimento (Tabla 4 y Tabla 5). Una posible explicación puede ser que (i) no se alcanzó la temperatura precisa en la metodología como en las flores naturales, (ii) que los insectos visitantes no encontraron la recompensa asociada al calor y por lo tanto no exploraron el recurso como para quedar atrapados en la trampa, (iii) a la poca duración de la alta temperatura, (iv) a la superficie productora de calor pues en nuestro caso fue emitido por un pequeño termo y no por una gran inflorescencia o (v) a un sesgo por la persona encargada de la aspiración manual.

Por otro lado, presentamos evidencia de la predominancia del químico p-metil anisol en el olor floral de *P. aequatorialis* y su importancia para atraer insectos

visitantes por sí solo (Tabla 4; Tabla 5). Knudsen et al. (1999) demostraron que los modelos de flores perfumadas atrajeron considerablemente más visitantes que los modelos sin olor. Sin embargo, aparentemente las altas temperaturas bloquean la producción de olor (tal vez para evitar perder agua respiratoria) y por lo tanto la máxima producción de olor ocurrió en la temperatura más baja (Knudsen et al., 1999). Ervik et al. (1999) realizó bioensayos utilizando compuestos sintéticos del olor floral en *Aphandra* y *Phytelephas* y obtuvo como resultado comunidades distintas de insectos atraídos en los dos géneros (Ervik et al., 1999). Maia et al. (2021) también colocaron el químico dominante del olor floral de *A. phalerata* en trampas de intercepción y capturaron a los coleópteros que la visitan regularmente. Asimismo, Maia et al. (2018) emplearon trampas perfumadas con los químicos sintéticos del aroma de *Acrocomia* y *Attalea* y atrajeron selectivamente a dos especies florívoras (*Cyclocephala amazona* y *C. distincta*; Maia et al., 2018). Esto ocurrió debido a que la concentración de químicos utilizada no es la liberada naturalmente y por lo tanto estos escarabajos antagonistas atraídos podrían ahora identificar a las palmas reales y hacerlas su objetivo (Maia et al., 2018).

Por último, no pudimos encontrar evidencia estadística que respalde el rol del aumento de temperatura para volatilizar químicos florales en las inflorescencias de *P. aequatorialis* para una mayor difusión del aroma y por consiguiente, una mayor atracción de insectos (Tabla 4). Tampoco pudimos determinar el efecto de la humedad (que naturalmente podría estar en la superficie floral o en el ambiente alrededor de la inflorescencia) en interacción con el calor y el olor producidos por las flores de *P. aequatorialis* (Tabla 5). Esto pudo deberse (i) a los argumentos previamente expuestos sobre la comparación entre calor y frío, (ii) a una inadecuada cantidad de químico, (iii) a la baja cantidad de repeticiones, (iv) a la falta de independencia entre tratamientos a causa de la corta distancia o (v) que el diseño experimental no haya sido el más adecuado.

No obstante, son muchos los estudios que proponen el rol de la energía térmica en el incremento de la volatilización de químicos atractivos en el aroma floral (Bay, 1995; Bernal y Ervik, 1996; Listabarth, 1996; Azuma et al., 1999; Ervik y Barfod, 1999; Thien et al., 2000; Consiglio y Bourne, 2001; Knudsen et al., 2001; Lamprecht et al., 2002; Voeks, 2002; Núñez et al., 2005; Seymour y Matthews,

2006; Maia, Schindwein, Navarro y Gibernau, 2010; Barfod et al., 2011; Núñez et al., 2015; Pincebourde et al., 2016; Mendes et al., 2017; Hoe et al., 2018; Straarup et al., 2018; Barbosa et al., 2020; Brieva-Oviedo et al., 2020; Yousefi et al., 2020). Barbosa et al. (2020) propone que la liberación floral de olor y calor es esencial para atraer polinizadores y, de manera más general, pudo contribuir a la evolución de estrategias de reproducción dentro de Arecaceae. En *Bactris bifida*, *B. gasipaes*, *B. monticola*, *Oenocarpus* y *M. flexuosa* la antesis de las inflorescencias de ambos sexos está sincronizada con una temperatura más alta que el ambiente en las flores y una mayor emisión de olor (Listabarth, 1996; Núñez et al., 2015; Mendes et al., 2017). Esta aparición combinada también ha sido registrada en Araceae, Annonaceae, Magnoliaceae y Nymphaeaceae (Seymour y Schultze-Motel, 1997; Lamprecht et al., 2002).

Facilitar la emisión de olores es la función térmica de mayor importancia aparente debido a que los olores son fundamentales para la atracción de polinizadores, sobre todo escarabajos que son más sensibles a señales químicas (Anstett, 1999; Ervik y Barfod, 1999; Knudsen et al., 2001; Mendes et al., 2017; Straarup et al., 2018). A pesar de que en este estudio no fueron evaluadas, también se han propuesto otras funciones de la endotermia vegetal en el desarrollo floral, la fertilización y algunas relacionadas con la atracción, la permanencia temporal, la ejecución de actividades en el tejido floral y el abandono de los insectos durante el evento polinizador (Bay, 1995; Bernal y Ervik, 1996; Listabarth, 1996; Seymour y Schultze-Motel, 1997; Azuma et al., 1999; Ervik y Barfod, 1999; Thien et al., 2000; Consiglio y Bourne, 2001; Seymour y Matthews, 2006; Maia et al., 2010; Barfod et al., 2011; Pincebourde et al., 2016; Hoe et al., 2018; Straarup et al., 2018; Barbosa et al., 2020).

Las flores masculinas, al invertir menos recursos y energía en el desarrollo de la infrutescencia, podrían desarrollar una mayor cantidad de tejidos para la polinización (Khorsand Rosa y Koptur, 2013). Cabe mencionar que el polen tiene una alta viabilidad para soportar el viaje hacia su destino en los estigmas (Mendes et al., 2017). Incluso se propone que existe una fuerte relación entre el éxito reproductivo de palmas dioicas y la provisión continua de polen desde las flores masculinas (Maia et al., 2021). Por otro lado, las flores femeninas están

directamente involucradas en la reproducción lo que explicaría su optimización en el tamaño (Khorsand Rosa y Koptur, 2013). Esta fenología sexual es característica del dimorfismo en *P. aequatorialis* y también de otras palmas. Proponemos que esta diferencia de tamaño explicaría la mayor emisión de olor desde las flores estaminadas en comparación con las pistiladas. También sugerimos que el rápido decrecimiento de la termogénesis al momento de la apertura floral masculina se debe a la brusca exposición al ambiente frío de una gran cantidad de tejido. Esta desventaja sería compensada por una mayor duración de la termogénesis, la liberación de aroma y la receptividad de las inflorescencias femeninas para atraer por engaño a los polinizadores. Además, estimamos que la compacta forma de las flores femeninas junto con sus tépalos y estigmas delgados y abundantes podrían ser una forma para reducir el tejido expuesto a los polinizadores. De esta manera evitan la oviposición, la florivoría u otra actividad que posiblemente afecte el desarrollo de la semilla.

En el mutualismo entre palmas y escarabajos, un recurso de intercambio subestimado ha sido el calor. Proponemos que la asociación calor y olor se mantiene no solamente para volatilizar los aromas sino también para que esta mayor difusión de la señal atrayente química sea relacionada con una recompensa térmica directa. La visita de insectos también es para acceder al calor como recompensa, que incrementa su endotermia corporal y reduce el costo de actividades para cumplir su ciclo de vida y para dirigirse hacia otras flores llevando la carga polínica (Seymour y Schultze-Motel, 1997; Ervik y Barfod, 1999; Maia et al., 2010; Barfod et al., 2011; Hoe et al., 2018; Straarup et al., 2018). A su vez, ambas señales (calor y olor) pueden asociarse a la disponibilidad de tejidos florales.

6.3.3 POLINIZACIÓN MEDIANTE ENGAÑO POR MIMETISMO

Para que la polinización ocurra, en general se necesita que las plantas emitan una señal atrayente y otorguen una retribución, a cambio los insectos visitantes trasladan el polen a otras plantas con las mismas características.

En las inflorescencias masculinas de las palmas se han registrado recompensas alimenticias (Küchmeister et al., 1997; Anstett, 1999; Barfod et al.,

2011; Silberbauer-Gottsberger et al., 2013; Ríos et al., 2014; Mendes et al., 2017; Straarup et al., 2018) y tejido vegetal para diversas actividades (Bay, 1995; Bernal y Ervik, 1996; KÜchmeister et al., 1997; Anstett, 1999; Ervik et al., 1999; Ervik y Barfod, 1999; Consiglio y Bourne, 2001; Dufaÿ y Anstett, 2003; Barfod et al., 2011; Silberbauer-Gottsberger et al., 2013; Ríos et al., 2014; Straarup et al., 2018; Barbosa et al., 2020; Brieva-Oviedo et al., 2020). Además, se han registrado mutualismos de dependencia debido a que varios polinizadores cumplen algunas etapas de su ciclo de vida en las inflorescencias (Hossaert-McKey, Soler, Schatz y Proffit, 2010; Núñez et al., 2015).

Nuestras observaciones en campo confirman que los escarabajos son atraídos hacia los tejidos florales masculinos y ahí encuentran sitios de apareamiento y oviposición. Incluso se observaron coleópteros (Nitidulidae, Curculionidae y Staphylinidae) emergiendo de las inflorescencias masculinas (en grandes cantidades) y femeninas (en pequeñas cantidades) los primeros días después de la antesis.

En algunas inflorescencias femeninas de palmas los visitantes se alimentan (Anstett, 1999; Mendes et al., 2017; Barbosa et al., 2020) y utilizan sus tejidos (Bernal y Ervik, 1996; Barfod et al., 2011). No obstante, en flores pistiladas en sistemas dioicos se registran mecanismos de defensa contra el desarrollo y la depredación por larvas y la oviposición (Anstett, 1999; Dufaÿ y Anstett, 2003; Dufaÿ y Anstett, 2004; Ríos et al., 2014).

Sin embargo, Ervik et al. (1999), al no encontrar una recompensa para los grupos visitantes de las inflorescencias femeninas de especies de *Phytelephas*, plantea la atracción por automimetismo olfativo. El mimetismo ha sido descrito como una estrategia adaptativa en respuesta al conflicto evolutivo por no ofrecer recompensa en un sistema dioico (Dufaÿ y Anstett, 2003; Russell, Kikuchi, Giebink y Papaj, 2020). En ocasiones, la flor imitadora ofrece recompensa pero de menor calidad o cantidad que la flor imitada (Dufaÿ y Anstett, 2003; Yang, Niu, Sun, Cai y Chen, 2020). Algunas características comunes en el engaño por mimetismo suelen ser el solapamiento de función, distribución y tiempo de antesis (Soler, Proffit, Bessièrre, Hossaert-McKey y Schatz, 2012; Hossaert-McKey et al., 2016), mayor

frecuencia del individuo modelo que del imitador (Listabarth, 1993; Krishna y Somanathan, 2018; Larue, Austruy, Basset y Petit, 2021), la necesidad de un polinizador por parte del imitador, mayor forrajeo en el modelo y similitud adaptativa en la fenología floral (e.g. el olor floral; Knudsen et al., 1999; Castillo, Caballero, Boege, Fornoni y Dominguez, 2012; Soler et al., 2012; Hossaert-McKey et al., 2016; Russell et al., 2020; Yang et al., 2020). Como resultado, los visitantes no pueden determinar si se trata de una flor masculina o femenina y si se trata de una flor con recompensa o una engañosa (Tollsten y Knudsen, 1992; Dufaÿ y Anstett, 2003; Hossaert-McKey et al., 2010; Weldon, 2016; Yang et al., 2020) y la polinización ocurre por error (Krishna y Somanathan, 2018; Yang et al., 2020). De esta manera, se produce selección positiva para el engaño y aumenta la aptitud del imitador y del modelo debido al éxito en la polinización (Soler et al., 2012; Yang et al., 2020). No obstante, no debemos pasar por alto el aprendizaje por experiencia, las limitaciones sensoriales, la precisión de la percepción, la capacidad de elección y el comportamiento de los insectos visitantes de lo cual muy poco se sabe (Dufaÿ y Anstett, 2003; Russell et al., 2020; Yang et al., 2020) y para lo que se necesitan estudios neuroetológicos (Weldon, 2016).

Las flores femeninas compiten con las grandes y atractivas flores masculinas por la atracción de visitantes en *Phytelephas* (Ervik et al., 1999). Este conflicto se reduce cuando las inflorescencias pistiladas se abren en la noche después de que las estaminadas se enfrían, liberan cada vez menos olor y disminuye el espacio para la oviposición (Bernal y Ervik, 1996; Ervik et al., 1999). Estas divergencias en el tiempo de antesis pueden ser contempladas como caracteres sexuales secundarios (Ervik et al., 1999; Nadot et al., 2016). El patrón diferencial de apertura (masculina de mañana y femenina de noche) se ha registrado en *P. seemannii* (Nadot et al., 2016), *A. natalia* y *P. aequatorialis* (Bernal y Ervik, 1996).

Dentro de Arecaceae, la imitación de olores también se ha estimado para *P. seemannii* debido al pronto abandono de los visitantes al reconocer el engaño de la flor pistilada (Bernal y Ervik, 1996). Otras palmas con inflorescencias femeninas miméticas (sin recompensa y con aroma similar a la flor estaminada) son *C. humilis* (Anstett, 1999; Dufaÿ et al., 2004), *Attalea funifera* (Voeks, 2002), *Calamus castaneus* (Kidyoo y McKey, 2012; Khorsand Rosa y Koptur, 2013), *M. flexuosa*

(Mendes et al., 2017), *M. saccifera* (Copete et al., 2018), *S. coronata* (Barbosa et al., 2020) y *A. aculeata* (Carreño-Barrera et al., 2021).

Los patrones termogénicos de las inflorescencias han sido infravalorados en el mimetismo y en la polinización. Debido a que el mimetismo de olores por sí solo asegura la transferencia de polen conespecífico como se ha observado en otras especies. Sin embargo, en modelos como en *P. aequatorialis* en los que no solo hay dioecia sino también alto dimorfismo sexual, la temperatura puede jugar un papel decisivo en el engaño y en el éxito de reproducción.

Proponemos el mimetismo intersexual como mecanismo de reproducción en *P. aequatorialis*. A causa del alto grado de similitud en rasgos florales como dinámica de producción de calor y composición química del olor floral, los visitantes no distinguen entre inflorescencias masculinas y femeninas. Es así como se mantiene el mutualismo que permite el traslado de polen para la tagua y el acceso a recursos y el desarrollo de etapas en el ciclo de vida de las especies en la comunidad de insectos.

7 CONCLUSIONES

1. La entomofauna de *P. aequatorialis* corresponde a una diversa comunidad de insectos dominada por coleópteros de las familias Nitidulidae, Curculionidae y Staphylinidae que visitan las inflorescencias masculinas y femeninas.
2. En este estudio proponemos la importancia de la emisión de olor floral y de la producción de calor en la polinización de *P. aequatorialis*. El olor liberado se compone casi en su totalidad por el compuesto p-metil anisol en las inflorescencias masculinas y femeninas. La endotermia floral alcanza valores medios alrededor de los 9°C y 8°C por sobre la temperatura ambiental para las inflorescencias masculinas y femeninas, respectivamente.
3. Además, presentamos evidencia que soporta la hipótesis de mimetismo intersexual para el modelo dioico y altamente dimórfico de *P. aequatorialis*. Estos rasgos particulares: período de antesis, composición química del olor floral y patrones de termogénesis, posiblemente permitan el establecimiento de estrechos mutualismos con grupos especializados de polinizadores, sensibles a estas señales, que obtienen determinadas recompensas por su servicio polinizador.
4. Los bioensayos revelan que existe diferencia entre las medias de atracción de insectos de los diferentes tratamientos que combinan calor, olor y humedad, siendo la combinación entre *Calor+Químico* la más eficiente, a pesar de no encontrar evidencia estadística de esta interacción.

Estudiar los sistemas de polinización de *P. aequatorialis* es fundamental porque estos controlan la transmisión genética a la siguiente generación, el flujo génico, la diversidad alélica dentro y entre poblaciones, y la endogamia (Barfod et al., 2011). También es imperativo conocer el proceso de polinización para desarrollar métodos sostenibles de gestión y manejo, estrategias de conservación y una buena gestión del paisaje y de los servicios ecosistémicos asociados a la polinización (Khorsand Rosa y Koptur, 2013).

Las variaciones ambientales pueden alterar los sistemas reproductivos, en particular la relación planta-insecto-ambiente (Nordström et al., 2017). En particular, los eventos antropogénicos globales como el cambio climático; o locales como los

cambios en el uso de la tierra (bosque a pastizal) pueden causar variaciones en la fenología floral (Nordström et al., 2017). En consecuencia, se podría afectar la interacción con los polinizadores silvestres (Nordström et al., 2017). El efecto antropogénico puede impactar a nivel genético con un incremento en la deriva genética y la endogamia en poblaciones fragmentadas (Montúfar, Anthelme, Pintaud y Balslev, 2011). Además, en poblaciones fragmentadas, como ocurre en *P. aequatorialis*, también se reduce el flujo genético y las especies introducidas (invertebrados) pueden afectar, via competición, a los mecanismos reproductivos en las palmas nativas (Khorsand Rosa y Koptur, 2013). Las palmas dioicas tienen mayor sensibilidad a la deforestación, la fragmentación y a las degradaciones del hábitat las cuales pueden tener efectos negativos en los mecanismos reproductivos (Ríos et al., 2014). En este contexto, las estrategias de conservación deben basarse en la protección del pool genético, el cual es una expresión del funcionamiento de mecanismos óptimos de polinización (Ríos et al., 2014). Por esta razón, es importante el desarrollo de investigaciones que exploran tanto las dinámicas de poblaciones de insectos asociados a la polinización como su interacción con las estrategias fisiológicas y morfológicas de las plantas (Nadot et al., 2016).

Además, *P. aequatorialis* no es únicamente un recurso forestal no maderable, pero también un proveedor de una amplia gama de servicios ecosistémicos que incluyen servicios de aprovisionamiento, regulación, culturales y de apoyo a los ecosistemas (Montúfar, Gehrung, Ayala y Atallah, 2022); y adicionalmente posee un alto potencial económico en la industria.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aizen, M. A., Aguiar, S., Biesmeijer, J. C., Garibaldi, L. A., Inouye, D. W., Jung, C., ... Seymour, C. L. (2019). Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. *Global Change Biology*, 25(10), 3516-3527. doi:10.1111/gcb.14736
- Anstett, M. C. (1999). An experimental study of the interaction between the dwarf palm (*Chamaerops humilis*) and its floral visitor *Derelomus chamaeropsis* throughout the life cycle of the weevil. *Acta Oecologica*, 20(5), 551-558.
- Arnold, S. E., Forbes, S. J., Hall, D. R., Farman, D. I., Bridgemohan, P., Spinelli, G. R., ... Stevenson, P. C. (2019). Floral odors and the interaction between pollinating Ceratopogonid midges and Cacao. *Journal of Chemical Ecology*, 45(10), 869-878.
- Ashman, T. L. (2009). Sniffing out patterns of sexual dimorphism in floral scent. *Functional Ecology*, 23(5), 852-862.
- Azuma, H., Thien, L. B., & Kawano, S. (1999). Floral scents, leaf volatiles and thermogenic flowers in Magnoliaceae. *Plant Species Biology*, 14(2), 121-127.
- Azuma, H., Toyota, M., Asakawa, Y., Takaso, T., & Tobe, H. (2002). Floral scent chemistry of mangrove plants. *Journal of Plant Research*, 115(1), 47-53.
- Barbosa, C. M., Maia, A. C. D., Martel, C., Regueira, J. C. S., do Amaral Ferraz Navarro, D. M., Raguso, R. A., ... Machado, I. C. (2020). Reproductive biology of *Syagrus coronata* (Arecaceae): sex-biased insect visitation and the unusual case of scent emission by peduncular bracts. *Plant Biology*, 23(1), 100-110.
- Barfod, A. S., Burholt, T., & Borchsenius, F. (2003). Contrasting pollination modes in three species of *Licuala* (Arecaceae: Coryphoideae). *Telopea*, 10(1), 207-223.
- Barfod, A. S., Hagen, M., & Borchsenius, F. (2011). Twenty-five years of progress in understanding pollination mechanisms in palms (Arecaceae). *Annals of botany*, 108(8), 1503-1516.
- Barfod, A., Henderson, A., & Balslev, H. (1987). A note on the pollination of *Phytelephas microcarpa* (Palmae). *Biotropica*, 19(2), 191-192.
- Bay, D. (1995). Thermogenesis in the aroids. *Aroideana*, 18, 32-39.
- Bernal, R., & Ervik, F. (1996). Floral biology and pollination of the dioecious palm *Phytelephas seemannii* in Colombia: an adaptation to staphylinid beetles. *Biotropica*, 682-696.
- Betts, M. G., Hadley, A. S., & Kormann, U. (2019). The landscape ecology of pollination. *Landscape Ecology*, 34(5), 961-966.
- Bøgh, A. (1996). The reproductive phenology and pollination biology of four *Calamus* (Arecaceae) species in Thailand. *Principes*, 40, 5-15.
- Borchsenius, F. (1993). Flowering biology and insect visitation of three Ecuadorean *Aiphanes* species. *Principes*, 37, 139-150.
- Borchsenius, F. (1997). Flowering biology of *Geonoma irena* and *G. cuneata* var. *sodiroi* (Arecaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 208(3), 187-196.
- Brieva-Oviedo, E., Maia, A. C. D., & Núñez-Avellaneda, L. A. (2020). Pollination of *Bactris guineensis* (Arecaceae), a potential economically exploitable fruit palm from the Colombian Caribbean. *Flora*, 269, 151628.

- Brokamp, G., Borgtoft Pedersen, H., Montúfar, R., Jácome, J., Weigend, M., & Balslev, H. (2014). Productivity and management of *Phytelephas aequatorialis* (Arecaceae) in Ecuador. *Annals of applied biology*, 164(2), 257-269.
- Carreño-Barrera, J., Maia, A. C. D., Colombo, C. A., & Núñez-Avellaneda, L. A. (2021). Co-pollination, constancy, and efficiency over time: small beetles and the reproductive success of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) in the Colombian Orinoquia. *Botany Letters*, 168(3), 395-407.
- Castillo, R. A., Caballero, H., Boege, K., Fornoni, J., & Dominguez, C. A. (2012). How to cheat when you cannot lie? Deceit pollination in *Begonia gracilis*. *Oecologia*, 169(3), 773-782.
- Consiglio, T. K., & Bourne, G. R. (2001). Pollination and breeding system of a neotropical palm *Astrocaryum vulgare* in Guyana: a test of the predictability of syndromes. *Journal of Tropical Ecology*, 17(4), 577-592.
- Copete, J. C., Flórez, D. M., & Núñez-Avellaneda, L. A. (2018). Pollination ecology of the *Manicaria saccifera* (Arecaceae): a rare case of pollinator exclusion. En P. W. Mokwala (Ed.). *Pollination in Plants* (pp. 23-37). IntechOpen.
- Costa, M. S., Silva, R. J., Paulino-Neto, H. F., & Pereira, M. J. B. (2017). Beetle pollination and flowering rhythm of *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae) in Brazilian cerrado: Behavioral features of its principal pollinators. *PLoS One*, 12(2), e0171092.
- Crespo-Pérez, V., Kazakou, E., Roubik, D. W., & Cárdenas, R. E. (2020). The importance of insects on land and in water: a tropical view. *Current Opinion in Insect Science*, 40, 31-38.
- De Medeiros, B. A., Núñez-Avellaneda, L. A., Hernandez, A. M., & Farrell, B. D. (2019). Flower visitors of the licuri palm (*Syagrus coronata*): brood pollinators coexist with a diverse community of antagonists and mutualists. *Biological Journal of the Linnean Society*, 126(4), 666-687.
- Dobson, H. E. (2006). Relationship between floral fragrance composition and type of pollinator. En N. Dudareva and E. Pichersky (Eds). *Biology of floral scent* (pp. 147-198). CRC press.
- Dransfield, J., Uhl, N., Lange, C., Baker, W., Harley, M., & Lewis, C. (2008). *Genera Palmarum. The Evolution and Classification of Palms*. Kew Publishing, Royal Botanic gardens, Kew.
- Dufaÿ, M., & Anstett, M. C. (2003). Conflicts between plants and pollinators that reproduce within inflorescences: evolutionary variations on a theme. *Oikos*, 100(1), 3-14.
- Dufaÿ, M., & Anstett, M. C. (2004). Cheating is not always punished: killer female plants and pollination by deceit in the dwarf palm *Chamaerops humilis*. *Journal of Evolutionary Biology*, 17(4), 862-868.
- Dufaÿ, M., Hossaert-McKey, M., & Anstett, M. C. (2004). Temporal and sexual variation of leaf-produced pollinator-attracting odours in the dwarf palm. *Oecologia*, 139(3), 392-398.
- Ervik, F., & Barfod, A. (1999). Thermogenesis in palm inflorescences and its ecological significance. *Acta Botanica Venezuelica*, 22(1), 195-212.
- Ervik, F., Tollsten, L., & Knudsen, J. T. (1999). Floral scent chemistry and pollination ecology in phytelephantoid palms (Arecaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 217(3), 279-297.
- Escobar, S., Couvreur, T. L., Montúfar, R., & Balslev, H. (2019). The Ivory Palm *Phytelephas aequatorialis* in Western Ecuador. *Palms*, 63(2), 69-79.

- Escobar, S., Helmstetter, A. J., Jarvie, S., Montúfar, R., Balslev, H., & Couvreur, T. L. (2021). Pleistocene climatic fluctuations promoted alternative evolutionary histories in *Phytelephas aequatorialis*, an endemic palm from western Ecuador. *Journal of Biogeography*, 1-15.
- Escobar, S., Helmstetter, A. J., Montúfar, R., Couvreur, T. L., & Balslev, H. (2020a). Phylogenomic relationships and historical biogeography in the South American vegetable ivory palms (Phytelephea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 166, 1-13.
- Escobar, S., Razafindratsima, O. H., Montúfar, R., & Balslev, H. (2020b). Post-Dispersal Seed Removal in a Large-Seeded Palm by Frugivore Mammals in Western Ecuador. *Tropical Conservation Science*, 13, 1-15.
- Fava, W. S., da Silva Covre, W., & Sigrist, M. R. (2011). *Attalea phalerata* and *Bactris glaucescens* (Arecaceae, Arecoideae): Phenology and pollination ecology in the Pantanal, Brazil. *Flora-morphology, distribution, functional ecology of plants*, 206(6), 575-584.
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., ... Zaks, D. P. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478(7369), 337-342.
- Franz, N. M. (2007). Reproductive trade-offs in a specialized plant/pollinator system involving *Asplundia uncinata* Harling (Cyclanthaceae) and a derelomine flower weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Plant Systematics and Evolution*, 269(3), 183-201.
- González-Jaramillo, V., Fries, A., Rollenbeck, R., Paladines, J., Oñate-Valdivieso, F., & Bendix, J. (2016). Assessment of deforestation during the last decades in Ecuador using NOAA-AVHRR satellite data. *Erdkunde*, 70, 217–235.
- Gottsberger, G., Silberbauer-Gottsberger, I., Seymour, R. S., & Dötterl, S. (2012). Pollination ecology of *Magnolia ovata* may explain the overall large flower size of the genus. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 207(2), 107-118.
- Guerrero-Olaya, N. Y., & Núñez-Avellaneda, L. A. (2017). Ecología de la polinización de *Syagrus smithii* (Arecaceae), una palma cantarofila de la Amazonia Colombiana. *Revista peruana de biología*, 24(1), 43-54.
- Hoe, Y. C., Gibernau, M., & Wong, S. Y. (2018). Diversity of pollination ecology in the *Schismatoglottis calyptrata* complex clade (Araceae). *Plant Biology*, 20(3), 563-578.
- Hossaert-McKey, M., Proffit, M., Soler, C. C. L., Chen, C., Bessière, J. M., Schatz, B., & Borges, R. M. (2016). How to be a dioecious fig: chemical mimicry between sexes matters only when both sexes flower synchronously. *Scientific reports*, 6(1), 1-11.
- Hossaert-McKey, M., Soler, C., Schatz, B., & Proffit, M. (2010). Floral scents: their roles in nursery pollination mutualisms. *Chemoecology*, 20(2), 75-88.
- Jürgens, A., Webber, A. C., & Gottsberger, G. (2000). Floral scent compounds of Amazonian Annonaceae species pollinated by small beetles and thrips. *Phytochemistry*, 55(6), 551-558.
- Khorsand Rosa, R., & Koptur, S. (2009). Preliminary observations and analyses of pollination in *Coccothrinax argentata*: Do insects play a role? *Palms*, 53(2), 75–83.
- Khorsand Rosa, R., & Koptur, S. (2013). New findings on the pollination biology of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in Roraima, Brazil: linking dioecy, wind, and habitat. *American journal of botany*, 100(3), 613-621.

- Kidyoo, A. M., & McKey, D. (2012). Flowering phenology and mimicry of the rattan *Calamus castaneus* (Arecaceae) in southern Thailand. *Botany*, 90(9), 856-865.
- King, C., Ballantyne, G., & Willmer, P. G. (2013). Why flower visitation is a poor proxy for pollination: measuring single-visit pollen deposition, with implications for pollination networks and conservation. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(9), 811-818.
- Kirejtshuk, A. G., & Couturier, G. (2010). Sap beetles of the tribe Mystropini (Coleoptera: Nitidulidae) associated with South American palm inflorescences. *Annales de la Société entomologique de France*, 46(3-4), 367-421
- Knudsen, J. T. (1999). Floral scent differentiation among coflowering, sympatric species of *Geonoma* (Arecaceae). *Plant Species Biology*, 14(2), 137-142.
- Knudsen, J. T. (2002). Variation in floral scent composition within and between populations of *Geonoma macrostachys* (Arecaceae) in the western Amazon. *American Journal of Botany*, 89(11), 1772-1778.
- Knudsen, J. T., Andersson, S., & Bergman, P. (1999). Floral scent attraction in *Geonoma macrostachys*, an understorey palm of the Amazonian rain forest. *Oikos*, 409-418.
- Knudsen, J. T., Tollsten, L., & Ervik, F. (2001). Flower scent and pollination in selected neotropical palms. *Plant Biology*, 3(6), 642-653.
- Krishna, S., & Somanathan, H. (2018). Intersexual mimicry and flowering phenology facilitate pollination in a dioecious habitat specialist species, *Myristica fatua* (Myristicaceae). *Plant Ecology*, 219(10), 1247-1257.
- Küchmeister, H., Silberbauer-Gottsberger, I., & Gottsberger, G. (1997). Flowering, pollination, nectar standing crop, and nectaries of *Euterpe precatória* (Arecaceae), an Amazonian rain forest palm. *Plant Systematics and Evolution*, 206(1), 71-97.
- Lamprecht, I., Schmolz, E., Blanco, L., & Romero, C. M. (2002). Flower ovens: thermal investigations on heat producing plants. *Thermochimica Acta*, 391(1-2), 107-118.
- Lara, C. E., Díez, M. C., Restrepo, Z., Núñez, L. A., & Moreno, F. (2017). Flowering phenology and flower visitors of the Macana Palm *Wettinia kalbreyeri* (Arecaceae) in an Andean montane forest. *Revista mexicana de biodiversidad*, 88(1), 106-112
- Larue, C., Austruy, E., Basset, G., & Petit, R. J. (2021). Revisiting pollination mode in chestnut (*Castanea* spp.): An integrated approach. *Botany Letters*, 168(3), 348-372.
- Listabarth, C. (1993). Pollination in *Geonoma macrostachys* and three congeners, *G. acaulis*, *G. gracilis*, and *G. interrupta*. *Botanica Acta*, 106(6), 496-506.
- Listabarth, C. (1996). Pollination of *Bactris* by *Phyllotrox* and *Epurea*. Implications of the palm breeding beetles on pollination at the community level. *Biotropica*, 28(1), 69-81.
- Listabarth, C. (2001). Palm pollination by bees, beetles and flies: why pollinator taxonomy does not matter. The case of *Hyospathe elegans* (Arecaceae, Arecoideae, Areceae, Euterpeinae). *Plant Species Biology*, 16(2), 165-181.
- Mace, G. M., Norris, K., & Fitter, A. H. (2012). Biodiversity and ecosystem services: a multilayered relationship. *Trends in ecology & evolution*, 27(1), 19-26.
- Maia, A. C. D., do Amaral Ferraz Navarro, D. M., Núñez-Avellaneda, L. A., Carreño-Barrera, J., Iannuzzi, L., Cardona-Duque, J., & Nantes, W. A. G. (2021).

- Methyl acetate, a highly volatile floral semiochemical mediating specialized plant-beetle interactions. *The Science of Nature*, 108(3), 1-12.
- Maia, A. C. D., Reis, L. K., Navarro, D. M. do A. F., Aristone, F., Colombo, C. A., Carreño-Barrera, J., ... Santos, G. K. N. (2019). Chemical ecology of *Cyclocephala forsteri* (Melolonthidae), a threat to macauba oil palm cultivars (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae). *Journal of Applied Entomology*, 144(1-2), 33-40.
- Maia, A. C. D., Santos, G. K. N., Gonçalves, E. G., Navarro, D. M. do A. F., & Núñez-Avellaneda, L. A. (2018). 2-Alkyl-3-methoxypyrazines are potent attractants of florivorous scarabs (Melolonthidae, Cyclocephalini) associated with economically exploitable Neotropical palms (Arecaceae). *Pest management science*, 74(9), 2053-2058.
- Maia, A. C. D., Schlindwein, C., Navarro, D. M. A. F., & Gibernau, M. (2010). Pollination of *Philodendron acutatum* (Araceae) in the Atlantic forest of northeastern Brazil: a single scarab beetle species guarantees high fruit set. *International Journal of Plant Sciences*, 171(7), 740-748.
- Meekijjaroenroj, A., Bessière, J. M., & Anstett, M. C. (2007). Chemistry of floral scents in four *Licuala* species (Arecaceae). *Flavour and fragrance journal*, 22(4), 300-310.
- Mendes, F. N., de Melo Valente, R., Rêgo, M. M. C., & Esposito, M. C. (2017). The floral biology and reproductive system of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in a restinga environment in northeastern Brazil. *Brittonia*, 69(1), 11-25.
- Mittelbach, G. G., Schemske, D. W., Cornell, H. V., Allen, A. P., Brown, J. M., Bush, M. B., ... Turelli, M. (2007). Evolution and the latitudinal diversity gradient: speciation, extinction and biogeography. *Ecology Letters*, 10(4), 315–331. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01020.x
- Montúfar, R., Anthelme, F., Pintaud, J. C., & Balslev, H. (2011). Disturbance and resilience in tropical American palm populations and communities. *The Botanical Review*, 77(4), 426-461.
- Montúfar, R., Brokamp, G., & Jácome, J. (2013). Capítulo 13 *Phytelephas aequatorialis*. En R. Valencia, R. Montúfar, H. Navarrete, & H. Balslev (Eds.), *Palmas ecuatorianas: Biología y uso sostenible* (pp. 187-201). Herbario QCA de la de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Montúfar, R., Gehrung, J., Ayala, M. A., & Atallah, S. S. (2022). Identifying the Ecosystems Services of the Ivory Palm (*Phytelephas aequatorialis* Spruce): A Qualitative Study from the Central Coast of Ecuador. *Economic Botany*, 76(2), 1-19.
- Nadot, S., Alapetite, E., Baker, W. J., Tregear, J. W., & Barfod, A. S. (2016). The palm family (Arecaceae): a microcosm of sexual system evolution. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 182(2), 376-388.
- Nordström, K., Dahlbom, J., Pragadheesh, V. S., Ghosh, S., Olsson, A., Dyakova, O., ... Olsson, S. B. (2017). In situ modeling of multimodal floral cues attracting wild pollinators across environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(50), 13218-13223.
- Núñez-Avellaneda, L. A., & Rojas-Robles, R. (2008). Biología reproductiva y ecología de la polinización de la palma milpesos *Oenocarpus bataua* en los Andes colombianos. *Caldasia*, 30(1), 101-125.

- Núñez, L. A., Isaza, C., & Galeano, G. (2015). Ecología de la polinización de tres especies de *Oenocarpus* (Arecaceae) simpátricas en la Amazonia Colombiana. *Revista de Biología Tropical*, 63(1), 35-55.
- Núñez, L., Bernal, R., & Knudsen, J. T. (2005). Diurnal palm pollination by mystropine beetles: is it weather-related? *Plant Systematics and Evolution*, 254(3), 149-171.
- Ollerton, J. (2017). Pollinator diversity: distribution, ecological function, and conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 48, 353-376.
- Osterman, J., Aizen, M. A., Biesmeijer, J. C., Bosch, J., Howlett, B. G., Inouye, D. W., ... Paxton, R. J. (2021). Global trends in the number and diversity of managed pollinator species. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 322, 107653. doi:10.1016/j.agee.2021.107653
- Pincebourde, S., Montúfar, R., Páez, E., & Dangles, O. (2016). Heat production by an Ecuadorian palm. *Frontiers in Ecology and the Environment, Ecological Society of America*, 14(10), 571-572.
- Ríos, L. D., Fuchs, E. J., Hodel, D. R., & Cascante-Marín, A. (2014). Neither insects nor wind: ambophily in dioecious *Chamaedorea* palms (Arecaceae). *Plant Biology*, 16(4), 702-710.
- Roemer, R. B., Terry, L. I., & Marler, T. E. (2013). Cone thermogenesis and its limits in the tropical *Cycas micronesica* (Cycadaceae): Association with cone growth, dehiscence, and post-dehiscence phases. *American Journal of Botany*, 100(10), 1981-1990.
- Russell, A. L., Kikuchi, D. W., Giebink, N. W., & Papaj, D. R. (2020). Sensory bias and signal detection trade-offs maintain intersexual floral mimicry. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 375(1802), 20190469.
- Sayers, T. D., Steinbauer, M. J., & Miller, R. E. (2019). Visitor or vector? The extent of rove beetle (Coleoptera: Staphylinidae) pollination and floral interactions. *Arthropod-Plant Interactions*, 13(5), 685-701.
- Seymour, R. S., & Matthews, P. G. (2006). The role of thermogenesis in the pollination biology of the Amazon waterlily *Victoria amazonica*. *Annals of Botany*, 98(6), 1129-1135.
- Seymour, R. S., & Schultze-Motel, P. (1997). Heat-producing flowers. *Endeavour*, 21(3), 125-129.
- Silberbauer-Gottsberger, I., Vanin, S. A., & Gottsberger, G. (2013). Interactions of the cerrado palms *Butia paraguayensis* and *Syagrus petraea* with parasitic and pollinating insects. *Sociobiology*, 60(3), 306-316.
- Soler, C. C., Proffit, M., Bessière, J. M., Hossaert-McKey, M., & Schatz, B. (2012). Evidence for intersexual chemical mimicry in a dioecious plant. *Ecology Letters*, 15(9), 978-985.
- Straarup, M., Hoppe, L. E., Pooma, R., & Barfod, A. S. (2018). The role of beetles in the pollination of the mangrove palm *Nypa fruticans*. *Nordic Journal of Botany*, 36(9), e01967.
- Suinyuy, T. N., Donaldson, J. S., & Johnson, S. D. (2010). Scent chemistry and patterns of thermogenesis in male and female cones of the African cycad *Encephalartos natalensis* (Zamiaceae). *South African Journal of Botany*, 76(4), 717-725.

- Thien, L. B., Azuma, H., & Kawano, S. (2000). New perspectives on the pollination biology of basal angiosperms. *International Journal of Plant Sciences*, 161(S6), S225-S235.
- Tollsten, L., & Knudsen, J. T. (1992). Floral scent in dioecious *Salix* (Salicaceae) - a cue determining the pollination system? *Plant systematics and evolution*, 182(3), 229-237.
- Voeks, R. A. (2002). Reproductive ecology of the piassava palm (*Attalea funifera*) of Bahia, Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 18(1), 121-136.
- Weldon, P. J. (2016). Receiver-error in deception, including mimicry: making the leap from inter-to intraspecific domains. *Biological Journal of the Linnean Society*, 120(3), 717-728.
- Yang, J., Niu, Y., Sun, W. B., Cai, X. H., & Chen, G. (2020). Intersexual mimicry and imperfect deceit of a threatened aquatic herb *Ottelia acuminata*. *Journal of Systematics and Evolution*, 60(2), 377-385.
- Yousefi, M., Rafie, A. S. M., Abd Aziz, S., & Azrad, S. (2020). Introduction of current pollination techniques and factors affecting pollination effectiveness by *Elaeidobius kamerunicus* in oil palm plantations on regional and global scale: A review. *South African Journal of Botany*, 132, 171-179.

9 FIGURAS

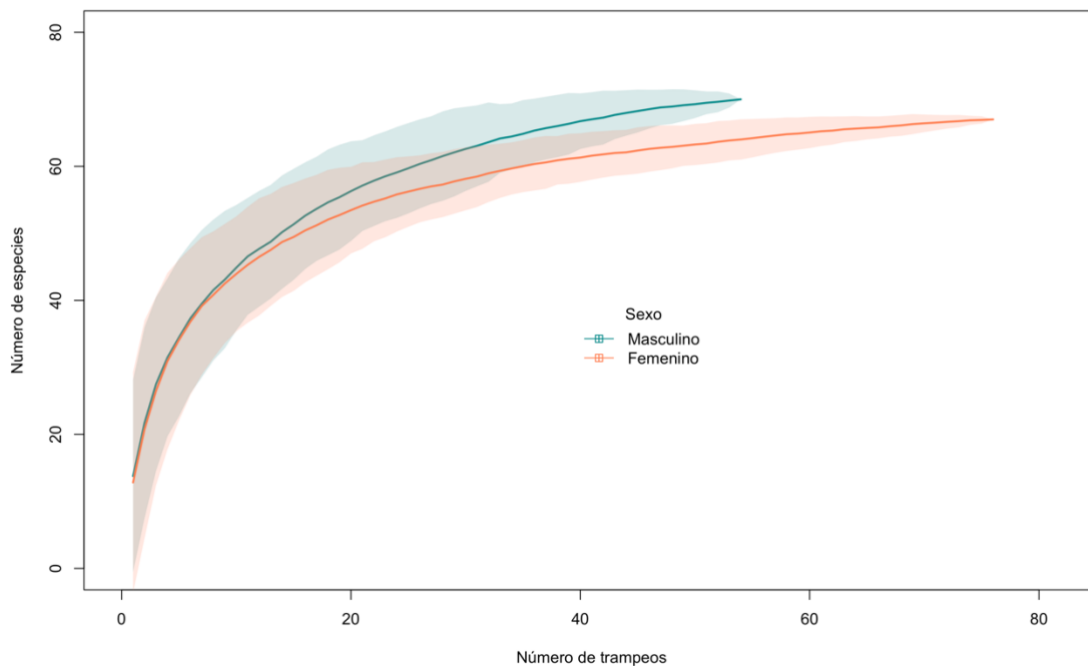


Figura 1. Curva de acumulación de especies para un determinado número de trampas en las inflorescencias masculinas (verde, trampas = 54) y femeninas (naranja, trampas = 76) de *P. aequatorialis*. La zona sombreada representa la desviación estándar para cada valor de la curva. Elaborado utilizando el programa Rstudio (paquete VEGAN y función specaccum mediante la randomización de los trampas y 100 permutaciones).

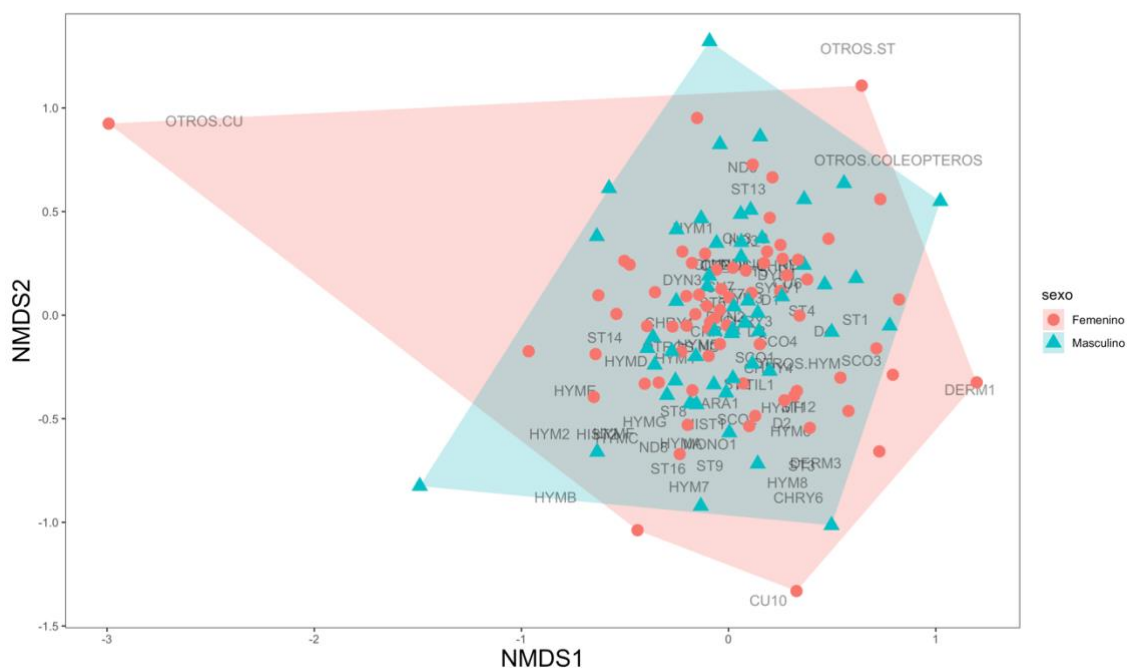


Figura 2. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) sobre las comunidades de insectos que visitan las inflorescencias masculinas (n = 54) y femeninas (n = 76) de *P. aequatorialis* en la Reserva Otongachi 2021. El valor de estrés (stress value) = 0,1483354 fue calculado con lenguaje R. La imagen es un gráfico de polígono realizado con el paquete GGLOT2 en Rstudio. Cada morfoespecie presenta un código según la familia o subfamilia a la que pertenece: Coleoptera: ST = Staphylinidae, CU = Curculionidae, ND = Nitidulidae, HIST = Histeridae, SCO = Scolytinae, CHRY = Chrysomelidae, SYLV = Silvanidae, PTIL = Ptiliidae, MONO = Monotomidae, DYN = Dynastinae, CAR = Carabidae, DERM = Dermaptera, Hymenoptera = HYM, Diptera = D.

Análisis Simper para inflorescencias masculinas

Análisis Simper para inflorescencias femeninas

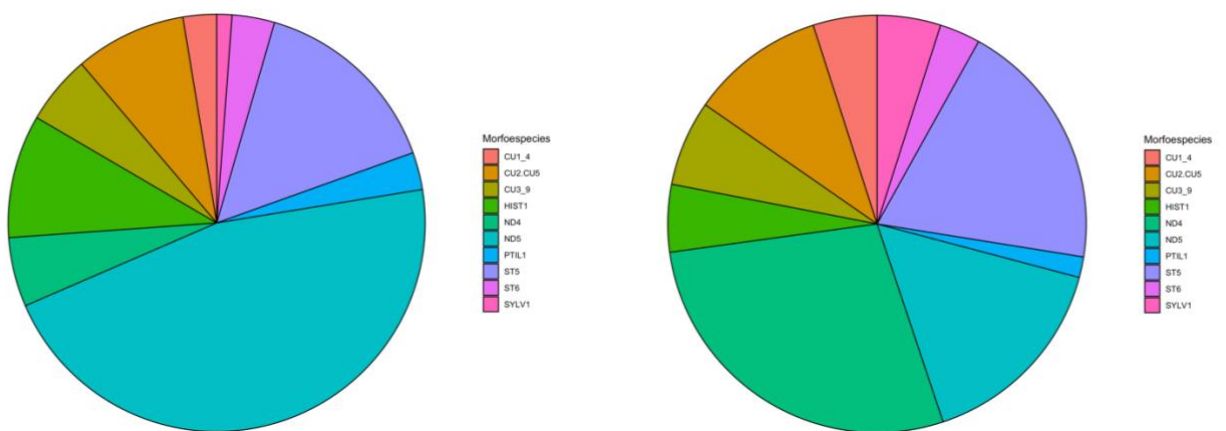


Figura 3. Gráfico de pastel con las abundancias medias por grupo de las comunidades de visitantes de las inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis*. A la izquierda los valores para las inflorescencias masculinas y a la derecha los valores para las inflorescencias femeninas. Las diez morfoespecies más abundantes para inflorescencias masculinas y femeninas calculadas en el análisis SIMPER con el paquete VEGAN para lenguaje en R.

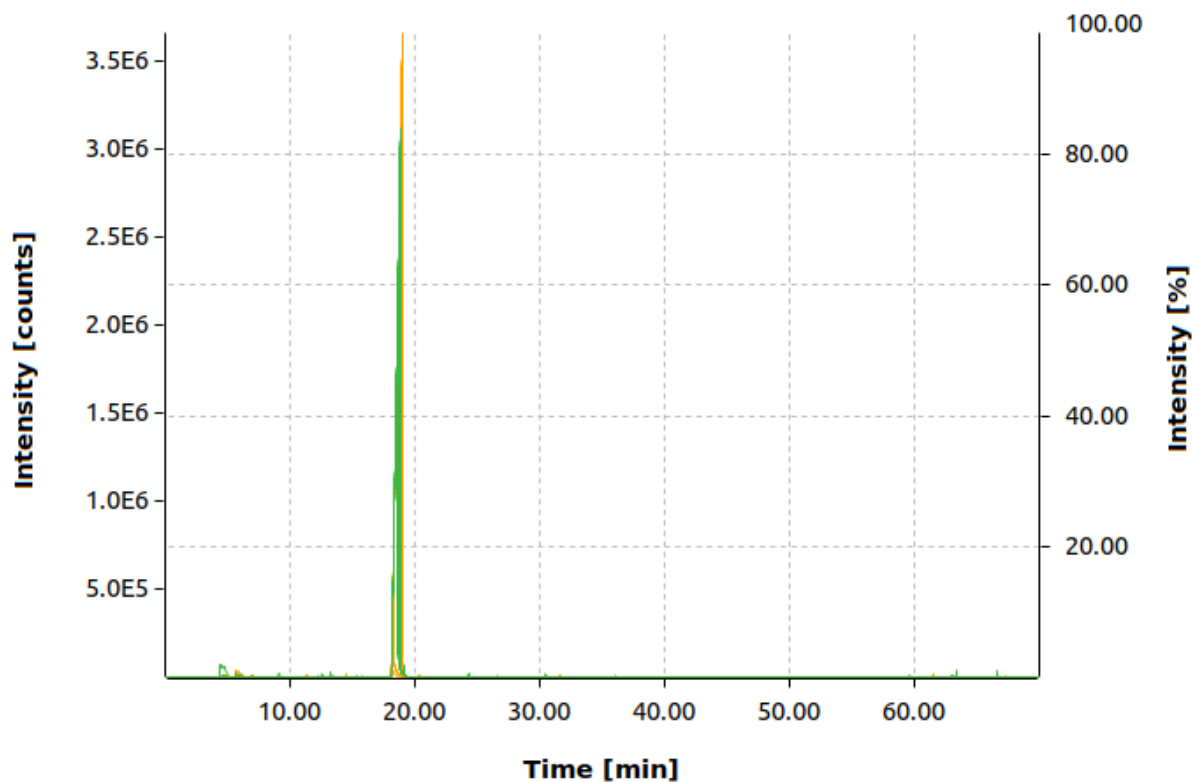
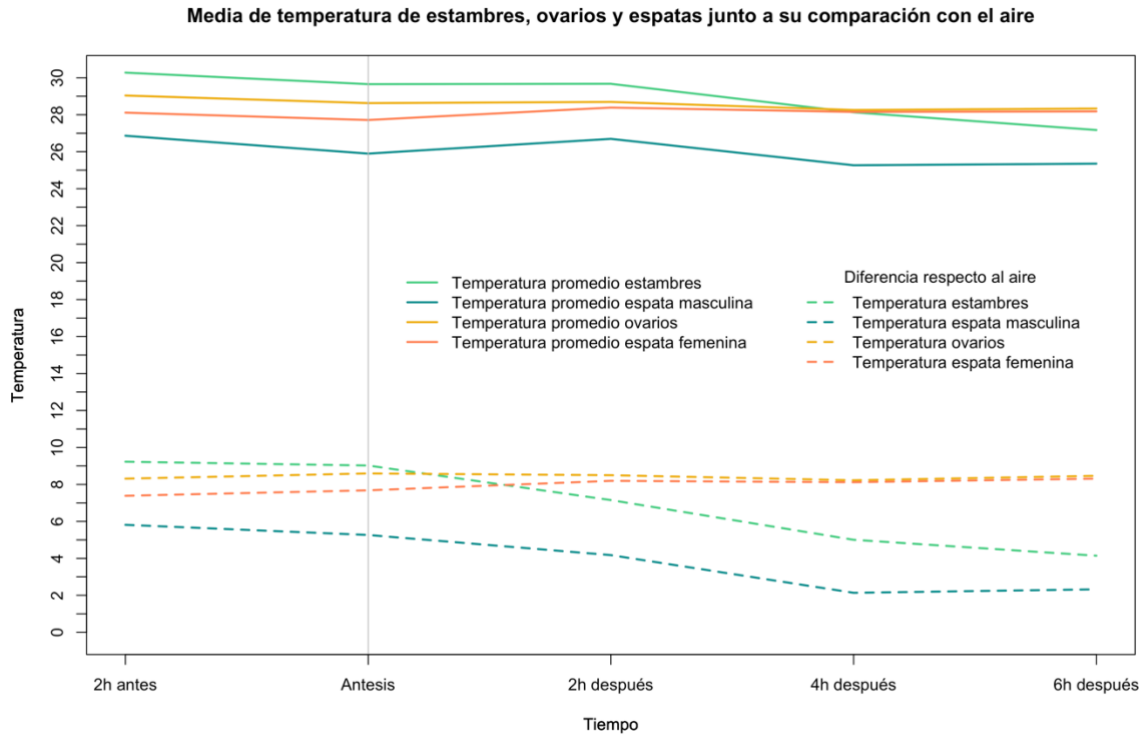


Figura 4. Superposición de picos detectados en las cromatografías con el programa OpenChrome de la muestra de olores colectados en inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis* en anthesis. El pico predominante ~18 minutos corresponde al p-metil anisol. Las líneas naranjas corresponden a inflorescencias femeninas (n = 6) y las líneas verdes a inflorescencias masculinas (n = 5).



Figuras 5. Patrones de variación térmica del promedio de las temperaturas máximas de los diferentes tejidos en inflorescencias femeninas ($n = 5$) y masculinas ($n = 4$) de *P. aequatorialis*, antes, durante y después de la antesis floral. Las líneas sólidas corresponden al cambio de temperatura antes de la antesis (2h antes), durante la antesis y después de la antesis (2h después, 4h después y 6h después). Las líneas entrecortadas representan la diferencia de temperatura de los tejidos en relación con la temperatura del aire en el período de tiempo de ocho horas (antes, durante y después de la antesis).

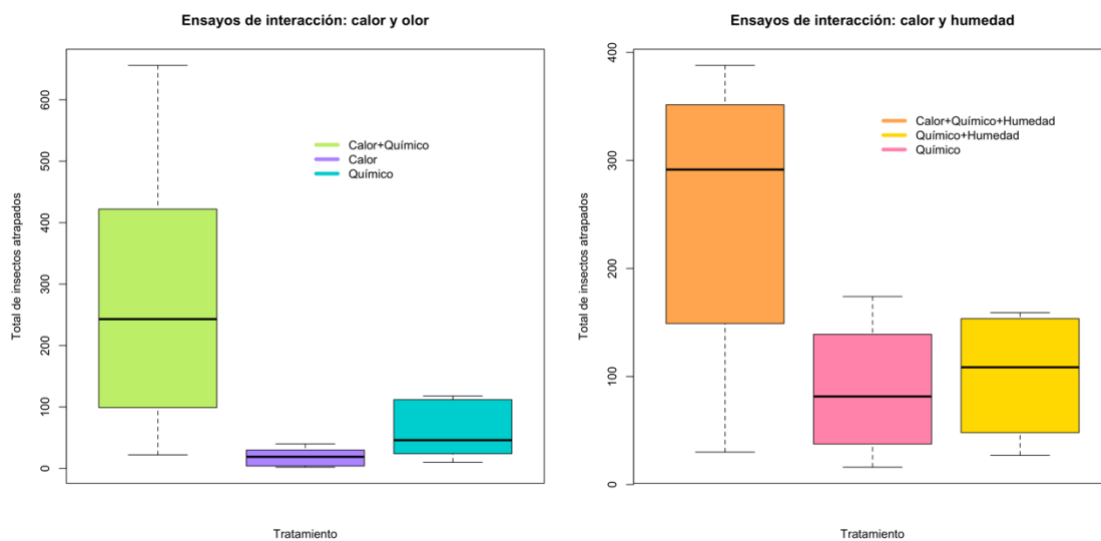


Figura 6. Gráfico de caja del número de insectos capturados en los tres tratamientos de cada experimentación en campo (calor y olor; calor y humedad). A la izquierda las cantidades totales para los ensayos de calor y olor, y a la derecha las cantidades totales para los ensayos de calor y humedad. Círculo blanco = valor extremo. Barra inferior = valor mínimo. Borde inferior de la caja = primer cuartil (Q1). Línea sólida gruesa = mediana o segundo cuartil (Q2). Borde superior de la caja = tercer cuartil (Q3). Rango intercuartil (Q1 – Q3). Barra superior = valor máximo. Gráfico elaborado con el programa Rstudio (boxplot).

10 TABLAS

Tabla 1. Media de índices de diversidad de los trampeos en inflorescencias masculinas (n = 54) y femeninas (n = 76) de *P. aequatorialis*.

	Shannon	Simpson	InvSimpson	Evenness
Masculino	1,636	0,681	3,931	0,171
Femenino	1,628	0,706	4,305	0,164

Shannon, índice de diversidad de Shannon; Simpson, índice de diversidad de Simpson; Invimpson, índice inverso de Simpson; Evenness, índice de uniformidad.

Tabla 2. Abundancias medias por grupo de las diez morfoespecies más abundantes calculadas en el análisis SIMPER.

Morfoespecie	% disimilitud	Masculino	Femenino
ND5	20,800%	93,741	45,260
ST5	12,220%	30,648	55,932
HIST1	7,470%	19,426	15,027
ND4	6,132%	10,926	80,260
CU2.CU5	5,650%	17,556	29,863
CU3_9	4,509%	10,889	19,014
PTIL1	3,159%	5,889	4,589
CU1_4	2,227%	5,296	14,178
ST6	1,870%	6,722	9,055
SYLV1	1,867%	2,389	14,123

% disimilitud, Porcentaje de disimilitud; Masculino, Abundancia media en la comunidad de insectos que visitan las inflorescencias masculinas; Femenino, Abundancia media en la comunidad de insectos que visitan las inflorescencias femeninas, ST, Staphylinidae; CU, Curculionidae; ND, Nitidulidae; HIST, Histeridae; SYLV, Silvanidae; PTIL, Ptiliidae.

Tabla 3. Análisis de varianza de un factor realizado con Análisis de Datos de Excel sobre la comparación de porcentajes del pico ~18 minutos (p-metil anisol) entre inflorescencias masculinas y femeninas de *P. aequatorialis*.

	Promedio	Varianza	Probabilidad	F	Fcrítico
Masculino	97,2486	2,3079103	0,526878002	0,4432554	5,59144785
Femenino	97,92875	2,33431092			

Tabla 4. Resultados del análisis de varianza de dos factores realizado con Rstudio sobre la cantidad de insectos atraídos (con transformación logarítmica) en cada tratamiento en el ensayo de interacción de calor y olor.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Temperatura	1	0,1876	0,1876	1,0195	0,3268
Olor	1	5,9257	5,9257	32,2092	2,738e-05 ***

Df, grados de libertad; Sum Sq, suma de cuadrados; Mean Sq, cuadrados medios; F value, valor F; Pr(>F), probabilidad del estadístico F.

Tabla 5. Análisis de varianza de dos factores realizado con Rstudio sobre la cantidad de insectos atraídos en cada tratamiento en el ensayo interacción de calor y humedad.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Temperatura	1	64688	64688	5,9564	0,03733 *
Humedad	1	312	312	0,0288	0,86905

Df, grados de libertad; Sum Sq, suma de cuadrados; Mean Sq, cuadrados medios; F value, valor F; Pr(>F), probabilidad del estadístico F.

11 MATERIAL SUPLEMENTARIO

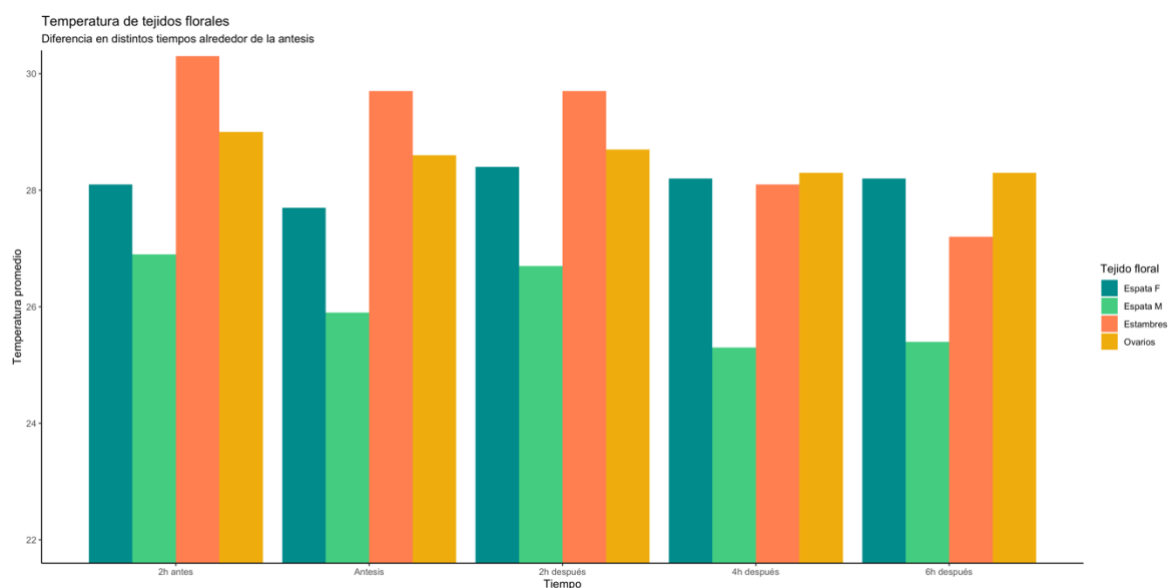


Figura 7. Gráfico de barras del cambio de temperatura de distintos tejidos florales en inflorescencias masculinas ($n = 4$) y femeninas ($n = 5$) de *P. aequatorialis*, antes, durante y después de la antesis. Espata M = espata masculina, Espata F = espata femenina, -2 = dos horas antes de la antesis, 0 = antesis, 2 = dos horas después de la antesis, 4 = cuatro horas después de la antesis y 6 = seis horas después de la antesis. Datos derivados del análisis estadístico en Excel. Gráfico elaborado con el programa Rstudio (paquete GGLOT2).

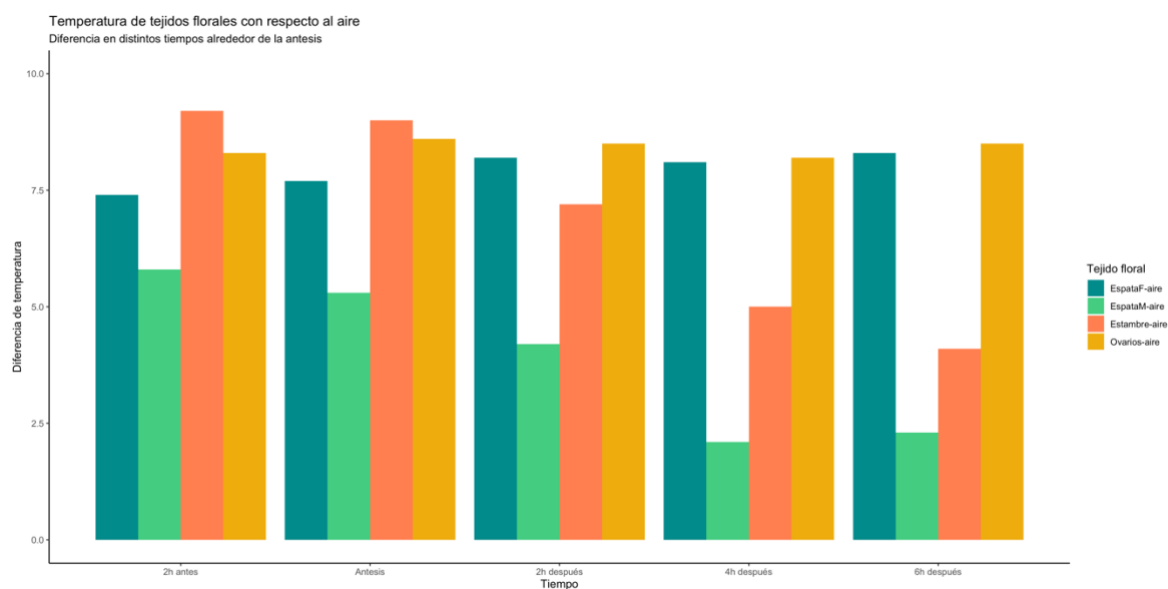


Figura 8. Gráfico de barras del cambio de temperatura de distintos tejidos florales en inflorescencias masculinas ($n = 4$) y femeninas ($n = 5$) de *P. aequatorialis*, en comparación con la temperatura del aire, antes, durante y después de la antesis. EspataM-aire = temperatura de espata masculina menos la temperatura del aire, EspataF-aire = temperatura de espata femenina menos la

temperatura del aire, -2 = dos horas antes de la antesis, 0 = antesis, 2 = dos horas después de la antesis, 4 = cuatro horas después de la antesis y 6 = seis horas después de la antesis. Datos derivados del análisis estadístico en Excel. Gráfico elaborado con el programa Rstudio (paquete GGLOT2).