

EFFECTO DE LAS GUÍAS DE NÉCTAR SOBRE LA EFICIENCIA DE POLINIZACIÓN EN *ALSTROEMERIA AUREA* (ALSTROEMERIACEAE)

Carlos Varela

Universidad de Carabobo, Facultad Experimental de Ciencia y Tecnología, Departamento de Biología, Bárbula, Antígono Decanato Ciencias de la Salud, Valencia, Estado de Carabobo, Venezuela; cvarela2@uc.edu.ve

Abstract. Varela, C. 2009. Effect of nectar guides on pollination efficiency in *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Darwiniana* 47(2): 271-277.

We evaluated the effect that nectar guides have on the efficiency in pollination of flowers in *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae), a herbaceous, xenogamous plant, which blooms in temperate forests of southern South America. The flowers were manipulated in situ and subjected to three treatments: flowers with nectar guides (FCG, not manipulated, control); flowers without nectar guides (FSG, flowers with nectar guides that were obscured) and control-control (CC, flowers in which the nectariferous tepals were covered by other nectariferous tepals to test the possible effect of double petals). The efficiency of pollination was evaluated as a function of visitation frequency, quantity of pollen deposited on the stigmas of visited flowers and quantity of accumulated nectar. Our results show that the absence of nectar guides significantly affected the efficiency of visits by pollinators ($\chi^2 = 18.97$, df: 2, $p << 0.004$) the quantity of pollen grains deposited on stigmas ($F = 19.39$; Gl: 2, $p << 0.0001$) and the accumulated volume of nectar ($F = 12.87$, df: 2, $p << 0.005$). The FSG were less visited, received fewer pollen grains per stigma and had a higher volume of accumulated nectar, unlike the FCG and CC. About 90% of all floral visits were accomplished by *Bombus ruderathus* (84.11%) and *B. dahlbomii* (8.41%), that possess well developed sensory perception (responding to nectar guide patterns in the flowers). We propose that the absence of nectar guides from the flowers of *A. aurea*, eliminated orientation patterns assisting visitors, indicating access to rewards, and consequently affected their pollination.

Keywords. *Alstroemeria*, nectar guides, pollination.

Resumen. Varela, C. 2009. Efecto de las guías de néctar sobre la eficiencia de polinización en *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Darwiniana* 47(2): 271-277.

Evaluamos el efecto de las guías de néctar sobre la eficiencia de polinización en las flores de *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae), una planta herbácea xenógama, que florece en los bosques templados del sur de Sudamérica. Las flores fueron manipuladas "in situ" y sometidas a tres tratamientos: flores con guías (FCG, no manipuladas, control); flores sin guías (FSG, flores a las que se les cubrieron las guías) y control-control (CC, flores a las que se les cubrieron los tépalos nectaríferos con otros tépalos nectaríferos, evitando el posible efecto del doble pétalo). La eficiencia de polinización fue evaluada en función de la frecuencia de las visitas, la cantidad de polen depositado en los estigmas y la cantidad de néctar acumulado en las flores visitadas. Nuestros resultados demostraron que la ausencia de las guías de néctar afectó de manera significativa la eficiencia de visitas de los polinizadores ($\chi^2 = 18.97$; gl: 2; $p << 0.004$), la cantidad de granos de polen depositados sobre los estigmas ($F = 19.39$; gl: 2; $p << 0.0001$) y el volumen de néctar acumulado ($F = 12.87$; gl: 2; $p << 0.005$). Las FSG fueron menos visitadas, obtuvieron menor cantidad de granos de polen por estigma y presentaron mayor volumen de néctar acumulado, a diferencia de las FCG y CC. Cerca del 90% de todas las visitas florales fueron realizadas por las especies *Bombus ruderathus* (84.11%) y *B. dahlbomii* (8.41%), consideradas especies con alto desarrollo sensorial, que responden a los patrones de las guías de néctar en las flores. Proponemos que la ausencia de las guías de néctar de las flores de *A. aurea*, eliminó los patrones de orientación que servía a los visitantes para indicar el acceso a la recompensa, y en consecuencia afectó su polinización.

Palabras clave. *Alstroemeria*, guías de néctar, polinización.

INTRODUCCIÓN

Muchos de los estudios sobre la biología reproductiva en plantas se han caracterizado por enfocar las relaciones adaptativas que existen entre las características florales y la especificidad de sus visitantes (McCall & Primak, 1992; Anderson, 1994; Herrera, 1996; Ashman, 2000; Fenster et al., 2004). La mayoría de esas investigaciones establecieron importantes conclusiones sobre como ciertas características morfológicas de las flores juegan un importantísimo papel en la atracción de los polinizadores y la exclusión de visitantes poco eficientes (Herrera, 1996; Galen, 1999; Fenster et al., 2004). Algunos de los estudios sobre las interacciones entre flores y polinizadores, se basan en la manipulación de características morfológicas y fenotipos florales, para crear diferencias que sean detectables por los polinizadores. De esta manera, se evalúa la respuesta etológica de éstos y la incidencia sobre la polinización de las flores (Waser & Price, 1985; Anderson, 1994; Fenster et al., 2004).

La corola representa una de las estructuras florales sobre la cual recae gran parte del despliegue visual y la atracción de los polinizadores (Faegri & van der Pijl, 1979; Raven et al., 1992). Esta atracción es mediada muchas veces por la presencia de líneas o manchas de colores, llamadas guías de néctar o de alimento, que sirven como señales visuales que le indican a los visitantes florales donde está ubicada la recompensa. Muchas de estas guías presentan colores contrastantes con el de la corola y muchas veces visibles al ojo humano; sin embargo, otras presentan pigmentos con patrones cercanos a la región ultravioleta del espectro de luz solar (Jones & Buchmann, 1974; Gronquist et al., 2001).

La presencia de guías de néctar puede ser vista como una respuesta evolutiva a las presiones selectivas que han tenido las flores sobre sus polinizadores y viceversa, para maximizar y hacer más eficiente la transferencia de polen (Waser & Price, 1985). Esto nos lleva a suponer que las guías de néctar podrían ser una buena característica para evaluar la respuesta de atracción de polinizadores. En este sentido, la forma, el tamaño y el patrón que presenten estas guías podrían ser potencialmente importantes para muchos insectos polinizadores, que dependen de su visión para la orientación y el forrajeo en las flores (Jones & Buch-

mann, 1974; Waser & Price, 1985; Medel et al., 2003). Sin embargo, pocos son los trabajos que examinan el papel funcional de las guías de néctar en la polinización de las flores en poblaciones naturales (Waser & Price, 1985; Medel et al., 2003). Por lo tanto, este estudio fue diseñado para evaluar el efecto que la manipulación de guías de néctar tiene sobre la preferencia de los polinizadores de *Alstroemeria aurea* Graham. Específicamente nos preguntamos: ¿son las guías de néctar una señal realmente detectable por los polinizadores? y ¿qué impacto tienen la presencia de las guías de néctar sobre la eficiencia de polinización en *A. aurea*? Se espera que las flores con guías de néctar presenten una mayor tasa de visitas de polinizadores, y en consecuencia una mayor cantidad de polen depositado en los estigmas y menor cantidad de néctar acumulado post-vista, que aquellas flores que carezcan de estas guías.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especie vegetal y área de estudio

Alstroemeria aurea Graham (Alstroemeriaceae) es una planta herbácea, xenógama y autoincompatible de los bosques templados del sur de Sudamérica. Presenta propagación vegetativa por rizomas y reproducción sexual por semillas, la floración ocurre durante la primavera austral (Aizen & Raffaele, 1998; Aizen, 2001). Presenta una inflorescencia terminal de tipo umbeliforme, compuesta por uno a tres verticilos de dos a ocho flores cada uno, que abren sucesivamente después del marchitamiento de las flores del verticilo anterior. Las flores son perfectas y protándricas, las del mismo verticilo abren y cambian de fase estaminada a pistilada sincrónicamente, permaneciendo abiertas entre 8 y 10 días (Aizen & Raffaele, 1998; Aizen, 2001). Son flores grandes (mayores de 5 cm), zigomorfas y vistosas, de color amarillo o anaranjado. Las anteras dehiscentes ocupan una posición central en la flor y depositan el polen sobre el dorso del polinizador. El principal sistema de polinización es la melitofilia (polinización por abejas) y el néctar es la recompensa ofrecida, producido en la base de los dos tépalos nectaríferos, los cuales presentan guías de néctar rojizas (Aizen & Basilo, 1998). *Alstroemeria aurea* es una especie

xenógama y autocompatible, polinizada principalmente por la especie *Bombus dahlbomii* (Apidae), un abejorro solitario nativo de los bosques de Sudamérica (Aizen & Basilo, 1998).

El estudio fue realizado en febrero de 2006, en una densa población de *A. aurea* (aproximadamente 80% de los individuos estaba en floración), ubicada en el Valle del Challhuaco, Parque Nacional Nahuel Hualpi de la ciudad de San Carlos de Bariloche, Argentina (41° 8' S, 71° 19' O, 1250 m s.m.). Esta población se presenta dominante en un bosque de la especie leñosa *Nothofagus pumilio* (Poepp. & Endl.) Krasser (Aizen, 2001).

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño de bloques al azar, con seis repeticiones para los tres tratamientos. Para cada tratamiento se registraron las visitas de los polinizadores, en intervalos continuos de 15 minutos, desde las 8:00 am hasta las 5:00 pm. Además, se observó el comportamiento de los agentes visitantes. Solamente las flores abiertas, en antesis y en fase estaminada del primer verticilo de la inflorescencia de *A. aurea*, fueron utilizadas para nuestro experimento, ya que las flores de los otros verticilos se encontraban sin desarrollar. Las flores viejas o en fase pistilada fueron descartadas. Tres flores por verticilo fueron sometidas "in situ" a los siguientes tratamientos experimentales (Fig. 1):

1. Flores con guías (FCG): corresponde a la flor intacta con sus guías de néctar sin manipulación. Control.

2. Flores sin guías (FSG): los tépalos nectaríferos fueron cubiertos con tépalos que no presentaban guías. Estos últimos se obtuvieron al dividir a la mitad uno de los tépalos más externos sin guías, de otras flores de *A. aurea*. Cada mitad se adhirió correctamente a los tépalos nectaríferos mediante una leve humectación.

3. Control-control (CC): se colocaron tépalos nectaríferos sobre los tépalos nectaríferos, adheridos de igual forma que en el tratamiento anterior. Se realizó con la finalidad de evitar el efecto del doble tépalo adherido (tratamiento 2, FSG), y así asegurar que la respuesta observada, es debida solamente a la presencia o no de las guías de néctar.

Para medir la eficacia de polinización en las flores sometidas a estos tratamientos se utilizaron las siguientes variables:

Frecuencia de visitas. Se observó y registró el número de visitas de los diferentes insectos (el visitante se posaba y entraba en la flor forrajeando activamente en busca de néctar). Además, se identificaron los diferentes visitantes florales.

Cantidad de granos de polen depositados sobre los estigmas. Luego del período de observación se escindieron las cabezas de los estigmas de las flores, se tiñeron con azul de toluidina y se observaron con microscopio. Se contabilizaron y promediaron los granos de polen depositados para cada tratamiento.

Volumen de néctar. Se extrajo el néctar de las flores post-visita, con capilares de 5 µml. Posteriormente, fueron promediados los volúmenes para determinar la cantidad de néctar acumulado por tratamiento.



Fig. 1. Flores de *Alstroemeria aurea* sometidas a los tratamientos "in situ". **1**, flores con guía (FCG). **2**, flores sin guías (FSG). **3**, control-control (CC).

Análisis de los resultados

Para determinar la diferencia de las frecuencias de visita entre los tratamientos se realizó una prueba χ^2 para independencia. La cantidad de granos de polen depositados en los estigmas y la cantidad de néctar acumulado fueron sometidas a una prueba t de Student. Se utilizó el programa estadístico Statistix 7.0

RESULTADOS

Se realizaron un total de 150 observaciones "in situ" (aproximadamente 50 por cada tratamiento). Nuestros resultados indican que la ausencia de las guías de néctar (FSG) influyó la frecuencia de visita de los polinizadores, la cantidad de granos de polen depositados sobre los estigmas y el volumen de néctar acumulado en las flores de *A. aurea*.

La frecuencia de visita de polinizadores a las flores fue significativamente dependiente del tratamiento ($\chi^2 = 18.97$; gl: 2; $p << 0.004$). Se observó que el tratamiento FSG presentó una menor frecuencia de visitas con respecto a los tratamientos FCG y CC (Fig. 2), los cuales presentaron igual frecuencia de visita. Además, no se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de visitas entre FCG y CC ($\chi^2 = 2.90$; gl: 1 $p << 0.504$), lo cual indica que la presencia

del doble tépalo no interfirió en la respuesta observada en los polinizadores en las flores tratadas de *A. aurea*.

Se encontró una diferencia significativa entre tratamientos en número medio de granos de polen depositados sobre los estigmas ($F = 19.39$; gl: 2; $p << 0.0001$). El polen depositado en los estigmas mostró una tendencia igual a la que se presentó en la frecuencia de visitas de los polinizadores. El número promedio de granos de polen depositados fue menor en FSG que en las flores sometidas a los otros tratamientos (Fig. 3). Contrariamente, se observó que el volumen de néctar promedio remanente (Fig. 4) fue significativamente mayor en flores sin guía que en aquellas que sí las tenían ($F = 12.87$; gl: 2; $p << 0.025$). En este sentido, se observó que una mayor cantidad de néctar tendía a acumularse en las flores que eran menos visitadas.

Se registraron 107 visitas de los polinizadores para todos los tratamientos, de éstas el 84,11% fueron realizadas por la especie *Bombus rudertus*, mientras que la especie nativa, *B. dahlbomii* registró un 8,41%, el resto de los visitantes presentaron una baja tasa de visitas (Halictidae 3,74% y Diptera 3,74%) (Fig. 5).

En general, la disminución de la frecuencia de visitas de los polinizadores en FSG, afectó la cantidad de polen depositado sobre los estigmas y la cantidad de néctar acumulado en las flores de *A. aurea*.

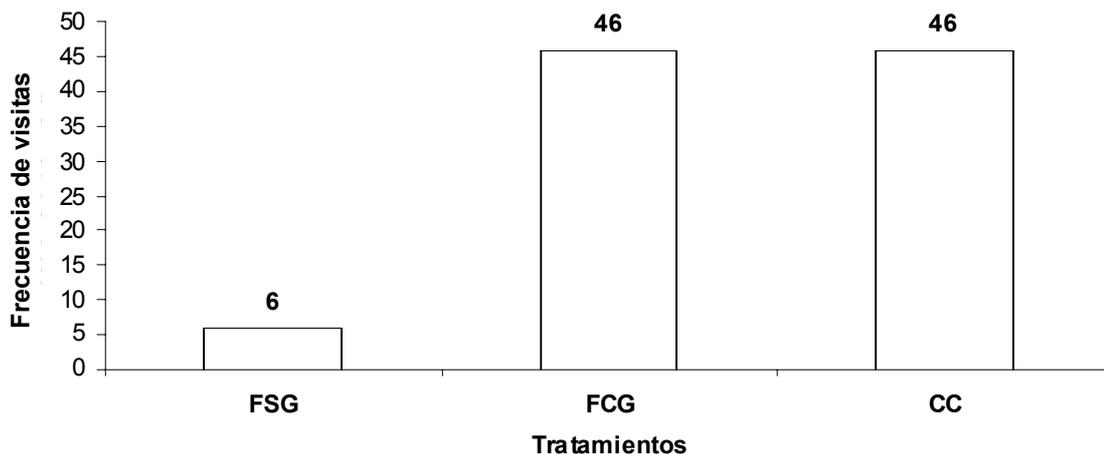


Fig. 2. Frecuencia de visitas a las flores de *Alstromeria aurea* para cada tratamiento

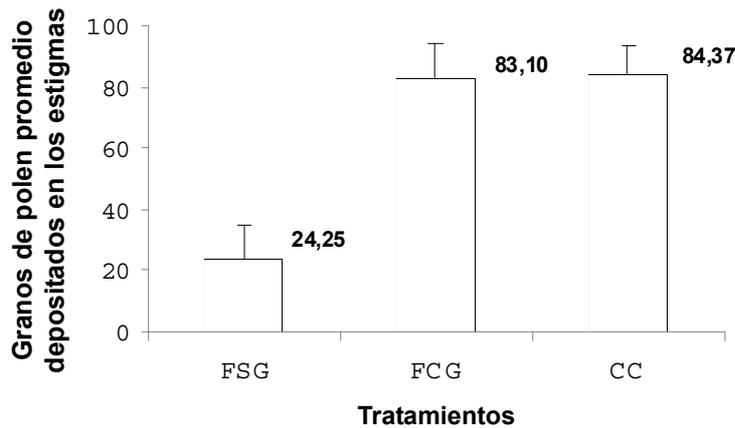


Fig. 3. Granos de polen promedio depositados en los estigmas de las flores de *Alstromeria aurea* para cada tratamiento.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados experimentales fueron fuertemente consistentes con las premisas de que las guías de néctar son, en efecto, necesarias para los polinizadores y que su ausencia afecta la eficiencia de polinización de las flores de *A. aurea*.

Se han establecido convincentes conclusiones acerca de los valores adaptativos y evolutivos que las características florales han tenido en la interacción de las plantas con sus polinizadores (McCall & Primak, 1992; Herrera, 1996; Schemske & Bradshaw, 1999; Ramírez, 2003; Fenster et al., 2004). Estos estudios han relacionado la respuesta de los polinizadores con ciertas características florales como la forma y el tamaño de la corola (Dafni & Kevan, 1997; Neal et al., 1998; Galen, 1999), el color (Spaethe et al., 2001), la presencia y posición de los estambres y anteras (Jones & Buchmann, 1974) y la fenología (Augspurger, 1980; Menzel & Shmida, 1993), entre otras. Todos estos trabajos han planteado la importancia de la interacción planta-polinizador desde dos aspectos fundamentales: 1) el papel que tienen las características florales en la atracción de los polinizadores y 2) el impacto (real y potencial) que pueden tener los polinizadores en la evolución y selección adaptativa de los caracteres florales; ambas en un contexto espacio-temporal (Herrera, 1996; Medel et al., 2003).

Por otro lado, pocos trabajos han demostrado

que los cambios en las características florales han tenido poca o ninguna influencia sobre la eficiencia en la transferencia de polen. Wilson (1995) modificó la forma de las flores de varias especies del género *Impatiens*, polinizadas por abejorros y encontró que no hubo efecto entre el polen removido desde las anteras o el polen depositado sobre los estigmas entre las flores modificadas y no modificadas. Anderson (1994) al remover el pétalo estandarte de las flores de *Nemophilla menziesii* previo a la antesis, encontró que no se produjo un efecto significativo en la eficiencia de polinización, ni en la producción de semillas por flores. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta investigación apoyan la hipótesis que ciertas características florales pueden influir en el comportamiento selectivo de los polinizadores.

Las guías de néctar resultaron ser una buena característica para estudiar la eficiencia de polinización en *A. aurea*, lo cual ha sido planteado por otros autores en otras especies. Waser & Price (1985) encontraron en la especie *Delphinium nelsonii* Greene, una hierba de montaña con dos morfos, uno con guías y otro albino o sin guías (poco frecuente), que al pintar las guías sobre este último disminuía el rechazo por parte de los polinizadores, argumentando que ahora los albinos estaban provistos de contraste que era detectado por los polinizadores. Medel et al. (2003) evaluaron la forma y el tamaño de las guías de néctar en la especie andina *Minimus luteus* y concluyeron que

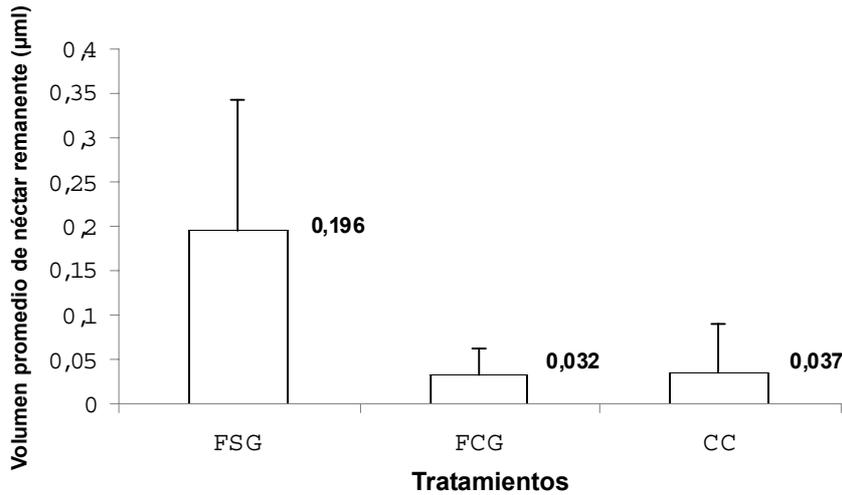


Fig. 4. Volumen de néctar promedio acumulado en las flores de *Alstromeria aurea* sometidas a cada tratamiento.

la alta variación en la forma de las guías que presentaba esta especie, era promovida por la divergencia en la selección mediada por polinizadores. El predominio de las guías de néctar puede reflejar, por un lado, una estrategia evolutiva común a la preferencia de los polinizadores por flores cuyas

recompensas están localizadas y son eficientemente extraídas y por otro, la influencia que estas señales pueden tener en el comportamiento de los polinizadores para incrementar la eficiencia del forrajeo y de la polinización (Waser & Price, 1985; Fenster et al., 2004).

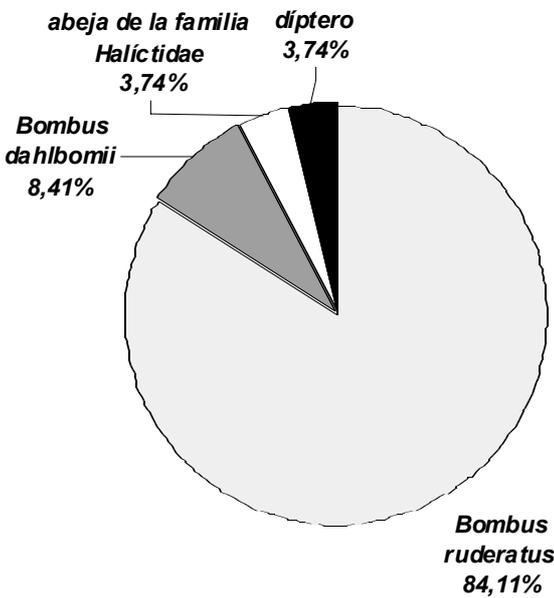


Fig. 5. Insectos visitantes de las flores de *Alstromeria aurea*.

Las investigaciones experimentales sobre manipulación de las características morfológicas florales se han planteado para: 1) entender los mecanismos selectivos que fundamentan el origen y mantenimiento de las características florales por parte de los agentes visitantes, 2) contrastar los estados naturales de la característica floral frente a los manipulados y medir la respuesta en la selección y 3) cuantificar el rol que los polinizadores pueden tener frente a la característica floral (Anderson, 1994; Herrera, 1996; Ashman, 2000; Fenster et al., 2004). Al manipular las flores de *A. aurea* "in situ", observamos que la eliminación de las guías de néctar condujo a una disminución de la eficiencia de polinización, cuantificada como una disminución en la frecuencia de visitas de los polinizadores. De igual forma, la cantidad de granos de polen depositados en el estigma disminuyó y una mayor cantidad de néctar tendió a acumularse como consecuencia de la menor tasa de visitas.

Se ha planteado que las guías de néctar suelen estar asociadas a flores con simetría bilateral, esto sugiere que tales flores requieren de polinizadores

con una alta percepción sensorial, como las abejas grandes (Neal et al., 1998; Ramírez, 2003). En nuestro estudio, las flores zigomorfas tratadas y no tratadas de *A. aurea* fueron visitadas por varios grupos de insectos; sin embargo, más del 90% del total de visitas, fueron realizadas por especies de abejorros del género *Bombus*. Las especies *Bombus ruderathus* y *B. dahlbomii*, forrajearon activamente en busca de néctar y depositaron granos de polen sobre el estigma, de las flores que presentaron guías de néctar. En este sentido, se entiende que las guías de néctar son parte del conjunto visual de las flores, siendo significativas e importantes para los grupos de polinizadores. Proponemos que la ausencia de las guías de néctar de las flores de *A. aurea*, eliminó los patrones de orientación que les servían a los polinizadores visitantes para indicarles el acceso a la recompensa, y en consecuencia afectó la polinización de esta especie.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a los profesores, en especial a Marcelo Aizen y a los compañeros del curso de postgrado: "Ecología de Polinización", auspiciado por la Universidad Nacional del Comahue, Centro Regional Universitario de Bariloche. A los evaluadores anónimos del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- Aizen, M. A. 1997. Influence of local floral density and sex ratio on pollen receipt and seed output: empirical and experimental results in dichogamous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Oecologia* 111: 404-412.
- Aizen, M. A. 2001. Flower sex ratio, pollinator abundance, and the seasonal pollination dynamics of a protandrous plant. *Ecology* 82: 127-144.
- Aizen, M. A. & A. Basilio. 1998. Sex differential nectar secretion in protandrous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae): is production altered by pollen removal and receipt? *Ame. J. Bot.* 85: 245-252.
- Aizen, M. A., & E. Raffaele. 1998. Flowering shoot defoliation affects pollen grain size and postpollination pollen performance in *Alstroemeria aurea*. *Ecology* 79: 2133-2142.
- Anderson, S. 1994. Floral stability, pollination efficiency, and experimental manipulation of the corolla phenotype in *Nemophilla menziesii* (Hydrophyllaceae). *Ame. J. Bot.* 81: 1397-1402.
- Ashman, T-L. 2000. Pollinator selectivity and its implications for the evolution of dioecy and sexual dimorphism. *Ecology* 81: 2577-2591.
- Augsburger, C. K. 1980. Mass flowering of a tropical shrub (*Hybanthus prunifolius*) influence on pollinator attraction and movement. *Evolution* 34: 475-488.
- Dafni, A. & P. G. Kevan. 1997. Flower size and shape implications in pollination. *Isr. J. Pl. Sci.* 45: 201-211.
- Dukas, R. & L. A. Real. 1991. Learning foraging tasks by bees: a comparison between solitary and social species. *Anim. Behav.* 42: 169-176.
- Faegri, K. & L. van der Pijil. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon
- Fenster, C. B., W. S. Armbruster, P. Wilson, M. R. Dudash, & J. D. Thomson. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35: 375-403.
- Galen, C. 1993. Why do flowers vary? *BioScience* 49: 631-640.
- Gould, J. L. 1985. How bees remember flower shapes. *Science* 227: 1492-1494.
- Gronquist, M.; A. Bezzerides, A. Attygalle, J. Meinwald, M. Eisner, & T. Eisner. 2001. Attractive and defensive function of the ultraviolet pigments of a flower (*Hypericum calycinum*). *PNAS* 98: 13745-13750.
- Herrera, C. 1996. Floral traits and plant adaptation to insect pollinators: a devil's advocate approach, en D. G. Lloyd & S.C.H. Barrett (eds.), *Floral Biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants*, pp. 65-87. New York: Chapman & Hall.
- Jones, C. E. & S. L. Buchmann. 1974. Ultraviolet floral patterns as functional orientation cues in Hymenopterous pollination systems. *Anim. Behav.* 22: 481-485.
- McCall, C. & R. B. Primak. 1992. Influence of flower characteristics, weather, time of day, and season on insect visitation rates in three plant communities. *Ame. J. Bot.* 79: 434-442.
- Medel, R., C. Botto-Mahan & M. Kalin-Arroyo. 2003. Pollinator-mediated selection on the nectar-guide phenotype in the Andean Monkey flower. *Ecology* 84: 1721-1732.
- Menzel, R. & A. Shmida. 1993. The ecology of flower colours and the natural colours vision of insect pollinators: the Israeli flora as a study case. *Biol. Rev.* 68: 81-120.
- Momose, K., T. Yumoto, T. Nagamitsu, M. Kato, H. Nagamasu, S. Sakai, R. D. Harrison, T. Itioka, A. A. Hamid, & T. Inoue. 1998. Pollination biology in a lowland dipterocarp forest in Sarawak, Malaysia. I. Characteristics of the plant-pollinator community in lowland dipterocarp forest. *Ame. J. Bot.* 85: 1477-1501.
- Neal, P. R., A. Dafni, & M. Giurfa. 1998. Floral symmetry and its role in plant-pollinator systems: terminology, distribution, and hypotheses. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29: 345-373.
- Ramírez, N. 2003. Floral specialization and pollination: a quantitative analysis and comparison of the Leppik and van der Pijl classification systems. *Taxon* 52: 687-700.
- Raven, P. H., R. F. Evert, & S. E. Eichhorn. 1992. *Biología de las Plantas*. Barcelona: Editorial Reverté, S.A..
- Schemske, D. W. & H. D. Bradshaw. 1999. Pollinator preference and the evolution of floral traits in monkeyflowers (*Mimulus*). *PNAS* 96: 11910-11915.
- Spaethe, J., J. Tautz, & L. Chittka. 2001. Visual constraints in foraging bumblebees: flower size and color affect search time and flight behaviour. *PNAS* 98: 3898-3903.
- Waser, N. M. & M. V. Price. 1985. The effect of nectar guides on pollinator preference: experimental studies with a montane herb. *Oecologia* 67: 121-126.
- Wilson, P. 1995. Selection for pollination success and the mechanical of *Impatiens* flowers around bumblebee bodies. *Biol. J. Linnean Soc.* 55: 355-383.