

UCH-FC
B. Ambiental
C 355
C 1



**FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE PREGRADO**

**VARIACIÓN ALTITUDINAL EN LA ESTRATEGIA REPRODUCTIVA DE
OENOTHERA ACAULIS CAV. (ONAGRACEAE).**

**Seminario de Título Entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial
de los requisitos para optar al título de Biólogo con Mención en Medio Ambiente**

BENJAMÍN CASTRO LARRAÍN

**Dr. Cristian Villagra Gil
Director del Seminario de Título**

**Dra. Paola Jara-Arancio
Co-Directora del Seminario de Título**

**Madeleine Lamborot Chastia
Profesor Patrocinante**

**Agosto 2014
Santiago- Chile
ESCUELA DE PREGRADO – FACULTAD DE CIENCIAS**



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TITULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el Sr. **Benjamín Castro Larráin**

**“VARIACIÓN ALTITUDINAL EN LA ESTRATEGIA REPRODUCTIVA DE
OENOTHERA ACAULIS CAV. (ONAGRACEAE)”**

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

Director Seminario de Título

Dr. Cristian Villagra Gil

Co-Directora

Dra. Paola Jara-Arancio

Patrocinante

Madeleine Lamborot Chastia

Comisión de Evaluación

Presidenta Comisión

Dra. Mary Kalin

Evaluadora

Dra. Alejandra Álvarez Vásquez

Santiago, Agosto de 2014

Firma manuscrita en azul sobre una línea horizontal.

Firma manuscrita en azul sobre una línea horizontal.

Firma manuscrita en azul sobre una línea horizontal.



BIOGRAFÍA



Soy Benjamín Castro Larraín, nacido una mañana de invierno del año 1987. Con el tiempo mi familia fue creciendo y terminé en convertirme en el segundo de cinco hermanos. A pesar de no haber nacido en Ñuñoa, mi vida se ha construido en ese lugar, territorio en el cual está circunscrita mi historia ontogenética.

Mi formación académica se ha construido en dos partes. La primera corresponde a la etapa escolar, la cual transcurrió prácticamente en su totalidad en el Colegio Notre Dame. La segunda parte corresponde a mi formación universitaria de pregrado, donde me formé como biólogo ambiental en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile. Ambas etapas conectadas por el valor de la libertad en el aprendizaje y el amor por la naturaleza.

*"A traveller should be a botanist,
for in all views plants form the chief embellishment"*

Charles Darwin

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a mi familia: Soledad, Ricardo, Bernardita, María Jesús, María de los Ángeles, Joaquín y Ana, por darme el apoyo y ánimo para poder realizar mi seminario de título.

Agradezco a mis directores de seminario Cristian y Paola. Gracias por darme la libertad para desarrollar mi investigación, donde la creatividad, experimentación y aprendizaje constituyeron la columna vertebral de este proceso. Muchas gracias por la guía durante este periodo. Adicionalmente agradezco a la profesora Madeleine Lamborot por otorgarle el patrocinio institucional a este seminario.

Agradezco a mis revisores, Dra. Mary Kalin y Dra. Alejandra González. Muchas gracias por sus correcciones y comentarios que ayudaron a robustecer el contenido de este seminario.

Agradezco a aquellos amigos que me acompañaron a terreno en busca de muestras y a realizar experimentos. Para Alfredo Godoy, Constanza Galaz, Diego Soler, Francisca Ovalle, Juan Salazar, Gabriela Rozas, Daniela Córdova, Camila Ortega, Daniela Vera, Nicolás Kapstein, María Jesús Sánchez, Gonzalo Arriagada, Felipe Gianini, Stephanie Fischer, Diego Pacheco, Camila Cavieres, Rafael del Campo, Aldo Mori, Pedro Méndez y Cristian Villagra, el mayor de los agradecimientos.

Agradezco a Francly Carvajal y Juan Salazar por su ayuda y consejos en la fase de microscopía.

Agradezco al Instituto de Entomología de la Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación y al Laboratorio de Sistemática y Ecología Vegetal de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile por acogerme y otorgarme un espacio para poder realizar mi investigación, así como a las personas que le dan vida a estas instituciones.

Agradezco al Bioparque Puquén y a sus guardaparques, por facilitar mi trabajo en ese espacio.

Además agradezco a Javier Barrera por ayudarme en la redacción de una parte del texto y a Sebastián Silva por diseñar la presentación.

Agradezco especialmente a Claudia Scognamillo, Diego Soler y Stephanie Fischer ya que gracias a ellos, obtuve las fuerzas necesarias para terminar este trabajo.

Finalmente agradezco a los proyectos DIUMCE FIBE 08/12, Fondecyt de Iniciación N° 11100109, ICM P05-002 y PFB-23, por financiar esta investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

BIOGRAFÍA	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	V
ÍNDICE DE TABLAS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	XII
RESUMEN	XIII
ABSTRACT.....	XV
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA	9
ESPECIE DE ESTUDIO	9
SITIOS DE ESTUDIO	10
SISTEMA REPRODUCTIVO	12
DISEÑO FLORAL.....	14
RESULTADOS.....	17
SISTEMA REPRODUCTIVO	17
DISEÑO FLORAL.....	27

DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES.....	41
BIBLIOGRAFÍA.....	42

INDICE DE TABLAS

TABLA 1: RESULTADO DE LOS TRATAMIENTOS EN CUANTO A PRODUCCIÓN DE FRUTOS Y SEMILLAS EN POBLACIÓN LAGUNILLAS. FRUTOS: CANTIDAD TOTAL DE FRUTOS FORMADOS; N: CANTIDAD TOTAL DE FLORES POR TRATAMIENTO; SEMILLAS: PROMEDIO DE SEMILLAS FORMADAS POR FLOR TRATADA. DONDE, AA: AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA, PC: POLINIZACIÓN CRUZADA Y AM: AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL.	17
TABLA 2: RESULTADO DE LOS TRATAMIENTOS EN CUANTO A PRODUCCIÓN DE FRUTOS Y SEMILLAS EN POBLACIÓN FARELLONES. FRUTOS: CANTIDAD TOTAL DE FRUTOS FORMADOS; N: CANTIDAD TOTAL DE FLORES POR TRATAMIENTO; SEMILLAS: PROMEDIO DE SEMILLAS FORMADAS POR FLOR. DONDE, AA: AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA, PC: POLINIZACIÓN CRUZADA Y AM: AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL.	19
TABLA 3: RESULTADO DE LOS TRATAMIENTOS EN CUANTO A PRODUCCIÓN DE FRUTOS Y SEMILLAS EN POBLACIÓN MIRASOL. FRUTOS: CANTIDAD TOTAL DE FRUTOS FORMADOS; N: CANTIDAD TOTAL DE FLORES POR TRATAMIENTO; SEMILLAS: PROMEDIO DE SEMILLAS FORMADAS POR FLOR TRATADA. DONDE, AA: AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA, PC: POLINIZACIÓN CRUZADA Y AM: AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL.	21
TABLA 4: RESULTADO DE LOS TRATAMIENTOS EN CUANTO A PRODUCCIÓN DE FRUTOS Y SEMILLAS EN POBLACIÓN LOS MOLLES. FRUTOS: CANTIDAD TOTAL DE FRUTOS FORMADOS; N: CANTIDAD TOTAL DE FLORES POR TRATAMIENTO; SEMILLAS: PROMEDIO DE SEMILLAS FORMADAS POR FLOR TRATADA. DONDE, AA: AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA, PC: POLINIZACIÓN CRUZADA Y AM: AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL.	23
TABLA 5: RESULTADO DE LOS TRATAMIENTOS EN CUANTO A PRODUCCIÓN DE FRUTOS Y SEMILLAS EN POBLACIÓN LA BOCA. FRUTOS: CANTIDAD TOTAL DE FRUTOS FORMADOS;	

N: CANTIDAD TOTAL DE FLORES POR TRATAMIENTO; SEMILLAS: PROMEDIO DE SEMILLAS FORMADAS POR FLOR TRATADA. DONDE, AA: AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA, PC: POLINIZACIÓN CRUZADA Y AM: AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL 24

TABLA 6: ÍNDICES DE AUTOFERTILIDAD (IAF) Y AUTOINCOMPATIBILIDAD (IAI) PARA CADA POBLACIÓN DE ESTUDIO..... 26

TABLA 7: PROMEDIO DEL ÁREA DE LA COROLA FLORAL (CM²) POR POBLACIÓN DE ESTUDIO. 27

TABLA 8: PROMEDIO DE LA LONGITUD HIPANTIAL (MM) POR POBLACIÓN DE ESTUDIO. 29

TABLA 9: PROMEDIO DE LA HERCOGAMIA FLORAL (MM) POR POBLACIÓN DE ESTUDIO. 31

TABLA 10: RESULTADOS EN CUANTO AL PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE NÚMERO DE GRANOS POLEN POR ANTERA, NÚMERO DE ÓVULOS POR FLOR Y RAZÓN POLEN- ÓVULO POR POBLACIÓN DE ESTUDIO..... 33

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: HÁBITO Y FLORES DE <i>O. ACAULIS</i>	9
FIGURA 2: UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO EN CHILE CENTRAL (NARANJA) Y DE LAS POBLACIONES DE <i>O. ACAULIS</i> ESTUDIADAS EN LA ZONA COSTERA (CÍRCULO AZUL) Y ANDINA (CÍRCULO ROJO).	11
FIGURA 3: ESQUEMA DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE POLINIZACIÓN REALIZADOS EN ESTE ESTUDIO: AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA (AA), POLINIZACIÓN CRUZADA (PC) Y AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL (AM).....	13
FIGURA 4: PROMEDIO Y ZEE DE PRODUCCIÓN DE SEMILLAS POR FLOR POLINIZADA BAJO TRATAMIENTO DE AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA (AA), POLINIZACIÓN CRUZADA (PC) Y AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL (AM) EN POBLACIÓN LAGUNILLAS. RESULTADO DE TEST DE KRUSKAL-WALLIS ($H_{0,P}$) EN RECUADRO UBICADO EN LA ESQUINA SUPERIOR IZQUIERDA DE LA FIGURA.	18
FIGURA 5: PROMEDIO Y ZEE DE PRODUCCIÓN DE SEMILLAS POR FLOR POLINIZADA BAJO TRATAMIENTO DE AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA (AA), POLINIZACIÓN CRUZADA (PC) Y AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL (AM) EN POBLACIÓN FARELLONES. RESULTADO DE TEST DE KRUSKAL-WALLIS ($H_{0,P}$) EN RECUADRO UBICADO EN LA ESQUINA SUPERIOR IZQUIERDA DE LA FIGURA.	20
FIGURA 6: PROMEDIO Y ZEE DE PRODUCCIÓN DE SEMILLAS POR FLOR POLINIZADA BAJO TRATAMIENTO DE AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA (AA), POLINIZACIÓN CRUZADA (PC) Y AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL (AM) EN POBLACIÓN MIRASOL. RESULTADO DE TEST DE KRUSKAL-WALLIS ($H_{0,P}$) EN RECUADRO UBICADO EN LA ESQUINA SUPERIOR IZQUIERDA DE LA FIGURA. DIFERENCIAS ENTRE TRATAMIENTOS SON SEÑALADAS CON LETRAS DIFERENTES.	22
FIGURA 7: PROMEDIO Y 2 EE DE PRODUCCIÓN DE SEMILLAS POR FLOR POLINIZADA BAJO TRATAMIENTO DE AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA (AA), POLINIZACIÓN CRUZADA (PC) Y AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL (AM) EN POBLACIÓN LOS MOLLES. RESULTADO DE TEST DE ANOVA (F, P) EN RECUADRO UBICADO EN LA ESQUINA SUPERIOR IZQUIERDA DE LA FIGURA. DIFERENCIAS ENTRE TRATAMIENTOS SON SEÑALADAS CON LETRAS DIFERENTES.....	24

FIGURA 8: PROMEDIO Y 2EE DE PRODUCCIÓN DE SEMILLAS POR FLOR POLINIZADA BAJO TRATAMIENTO DE AUTOPOLINIZACIÓN AUTÓNOMA (AA), POLINIZACIÓN CRUZADA (PC) Y AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL (AM) EN POBLACIÓN LA BOCA. RESULTADO DE TEST DE ANOVA (F, P) EN RECUADRO UBICADO EN LA ESQUINA SUPERIOR IZQUIERDA DE LA FIGURA. DIFERENCIAS ENTRE TRATAMIENTOS SON SEÑALADAS CON LETRAS DIFERENTES.....	26
FIGURA 9: PROMEDIO DEL ÁREA DE LA COROLA FLORAL Y 2 EE POR CADA POBLACIÓN DE ESTUDIOS. COLORES EN BARRAS INDICAN DIFERENTES ZONAS GEOGRÁFICAS. RESULTADO DE TEST DE KRUSKAL-WALLIS (H_0, P) EN RECUADRO UBICADO EN LA ESQUINA SUPERIOR IZQUIERDA DE LA FIGURA. DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMIENTOS SON SEÑALADAS CON LETRAS DIFERENTES (PRUEBA DE MANN-WHITNEY, $\alpha=0,05$).....	29
FIGURA 10: PROMEDIO DE LA LONGITUD HIPANTIAL Y 2 EE POR CADA POBLACIÓN DE ESTUDIOS. COLORES EN BARRAS INDICAN DIFERENTES ZONAS GEOGRÁFICAS. RESULTADO DE TEST DE WELCH (F, P) EN RECUADRO UBICADO EN LA ESQUINA SUPERIOR IZQUIERDA DE LA FIGURA. DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMIENTOS SON SEÑALADAS CON LETRAS DIFERENTES (PRUEBA DE MANN-WHITNEY, $\alpha=0,05$).....	30
FIGURA 11: PROMEDIO DE LA HERCOGAMIA FLORAL Y 2EE POR CADA POBLACIÓN DE ESTUDIOS. COLORES EN BARRAS INDICAN DIFERENTES ZONAS GEOGRÁFICAS. RESULTADO DE TEST DE WELCH (F,P) EN RECUADRO UBICADO EN LA ESQUINA SUPERIOR IZQUIERDA DE LA FIGURA. DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMIENTOS SON SEÑALADAS CON LETRAS DIFERENTES (PRUEBA DE TUKEY, $\alpha=0,05$).	32
FIGURA 12: PROMEDIO Y 2EE DEL NÚMERO DE ÓVULOS POR FLOR POR CADA POBLACIÓN DE ESTUDIO. COLORES EN BARRAS INDICAN DIFERENTES ZONAS GEOGRÁFICAS. DIFERENCIAS ENTRE TRATAMIENTOS SON SEÑALADAS CON LETRAS DIFERENTES (PRUEBA DE MANN-WHITNEY, $\alpha=0,05$).....	34

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Autopolinización autónoma

AM: Autopolinización manual

ANOVA: Análisis de varianza

cm: Centímetros

cm²: Centímetros cuadrados

DE: Desviación estándar

EE: Error estándar

IAF: Índice de autofertilidad

IAI: Índice de autoincompatibilidad

mm: Milímetros

msnm: Metros sobre el nivel del mar

PC: Polinización cruzada

v/v: Dilución volumen por volumen

RESUMEN

La estrategia reproductiva en una planta corresponde a la combinación de una serie de adaptaciones que dan cuenta de los mecanismos y procesos por medio los cuales se realiza la reproducción sexual. El sistema reproductivo y los distintos rasgos del diseño floral generan una combinación de caracteres que puede variar espacialmente en un linaje por la disponibilidad de polinizadores y densidad poblacional. Se plantea, bajo una hipótesis de aseguramiento reproductivo, que las plantas que habitan en ambientes donde la polinización es impredecible, como en ecosistemas de montaña, modifican su estrategia ya sea aumentando la capacidad para autofertilizarse o incrementando las señales de atracción hacia los polinizadores.

Oenothera acaulis (Onagraceae) es una hierba perenne, endémica de Chile, que está descrita como una especie autoincompatible en términos reproductivos, cuya distribución altitudinal va desde los 0 a los 2600 msnm. Dentro de este rango se encuentra tanto en ambientes costeros templados y de montaña, este último con una mayor abundancia de potenciales polinizadores para esta especie. En este trabajo se realizó una comparación en la estrategia reproductiva que presenta esta especie entre los dos extremos de su distribución altitudinal: Costero y Andino. Para esto, se escogieron tres poblaciones costeras (Los Molles, Mirasol y La Boca) y dos andinas (Farellones y Lagunillas). Se comparó el sistema reproductivo entre poblaciones a través de la producción de frutos y semillas a partir de tratamientos de autopolinización autónoma, polinización cruzada y autopolinización manual. Además, se realizó la comparación en rasgos del diseño floral a través de la medición del tamaño floral, hercogamia y razón polen-óvulo. Los resultados determinaron que *O. acaulis* es

autocompatible y que la capacidad de autopolinización autónoma asociada a una reducción en la hercogamia es mayor en poblaciones costeras. Las diferencias encontradas en el tamaño floral fueron locales y no hubo variación interpoblacional a nivel de la razón polen-óvulo. En base a estos resultados se sugiere que *O. acaulis* presenta una estrategia reproductiva mixta, con un mayor nivel de autogamia en poblaciones costeras. Este patrón inverso a lo esperado puede deberse a un incremento en el ensamble de polinizadores específicos en poblaciones andinas, o a un efecto de la presión de herbivoría en poblaciones costeras.

Palabras clave: Sistema reproductivo, diseño floral, autopolinización autónoma, hercogamia.

ABSTRACT

A plant's reproductive strategy depends on its specific floral traits, resource allocation, the mating system and genetic mechanisms. The combination of these factors generates an assortment of mating strategies that may vary in a lineage because of differences in the availability of pollinators and population density. Under the hypothesis of reproductive assurance plants species inhabiting environments where pollinators are scarce (e.g. high mountain ecosystems) face at two alternative strategies: they may increase their capacity for self-fertilization or alternatively, augment the attractiveness of their floral signals and rewards for attracting pollen vectors and prolong their flower longevity.

Oenothera acaulis (Onagraceae) is a perennial plant species, endemic to Chile with a wide altitudinal distribution covering temperate coastal to high montane habitats (0 to 2600 msnm). I determined the breeding system in this species at the two extremes of its altitudinal distribution: the coastal and high montane zones. Three coastal populations (Los Molles, Mirasol and La Boca) and two Andean populations (Farellones and Lagunillas) were chosen. For two altitudinal zones I also compared flower size, herkogamy, and the pollen-ovule ratio. I found stronger autonomous self-pollination capacity linked to a reduced herkogamy in coastal populations. Flower size was not related to altitude and the pollen-ovule ratio was similar throughout. Results suggest that *O. acaulis* has a mixed reproductive strategy with a higher level of autogamy in coastal populations in comparison with Andean populations

Key Words: Mating system, floral design, autonomous self-pollination, herkogamy.

INTRODUCCIÓN

El origen de las angiospermas trae consigo importantes modificaciones en el ciclo de vida de las plantas. El gametofito queda reducido y es contenido por la fase esporofítica (Raven y col, 2005). Junto con esto, ocurre una diferenciación sexual entre micro y mega gametofito, los cuales son generados por órganos diferentes de la flor. La condición sésil de las plantas, presenta limitaciones a la reproducción sexual, debido a la separación espacial de los gametos (Barrett, 1998; Barrett, 2003). A partir de esta limitación, las plantas han desarrollado mecanismos de reproducción que consisten en una variedad de procesos y mecanismos que puedan asegurar la reproducción sexual. Las estrategias reproductivas en angiospermas consisten en la articulación de una serie de adaptaciones como lo son el sistema reproductivo, el diseño y el despliegue floral (Barrett y col, 2000).

Sistema reproductivo en plantas

El sistema reproductivo consiste en la forma en que las plantas transmiten sus genes desde una generación a otra, a través de un proceso de reproducción sexual (Barrett, 1998; Barrett, 2003). Dada la naturaleza cosexual en la mayoría de las plantas con flores, la fertilización puede ocurrir tanto por el traspaso de polen entre flores de plantas diferentes (*outcrossing*) o entre flores de la misma planta (*selfing*). Esta dualidad reproductiva ha sido un tema de profundo interés desde los tiempos de Charles Darwin. Actualmente sigue siendo la base de muchos estudios en biología

reproductiva de plantas (Barrett, 2010). La autopolinización como fenómeno, corresponde a una forma extrema de endogamia, denominada autogamia (Grant, 1989). Este proceso puede ocurrir en una flor previo a la antesis (cleistogamia), o posterior a ésta (casmogamia) (Lloyd y Schoen, 1992; Goodwillie y col, 2005). En plantas casmógamas, la autopolinización puede ocurrir de manera autónoma o mediada por un agente externo. La conservación de este tipo de sistema reproductivo en un linaje, puede traer consigo efectos deletéreos debido a la depresión por consanguinidad (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Lloyd, 1992). Las plantas han generado sistemas de incompatibilidad genética, que son mecanismos de origen genético que impiden la fertilización a nivel precigótico, impidiendo la formación y germinación del tubo polínico (Takayama y Isogai, 2005; Charlesworth y col, 2005). La fertilización cruzada o xenogamia, es un proceso que asociado a la incompatibilidad reproductiva favorece el intercambio genético entre individuos, que sin embargo, se encuentra limitado por variación en la disponibilidad de polinizadores.

Diseño y despliegue floral

El término diseño floral se refiere a las características individuales de una flor que incluyen el tamaño, estructura, condición sexual, color, fragancia, producción de néctar y nivel de hercogamia y dicogamia (Barrett, 1998; Barrett, 2003). Corresponde a la expresión fenotípica del sistema reproductivo en la planta y, que a la vez, define los mecanismos por medio éste se realiza. Esta relación suele expresarse en la asignación de recursos energéticos asociadas a los atributos florales que componen el diseño floral. En particular, atributos florales como el tamaño floral, la hercogamia, y la producción de gametos, constituyen rasgos importantes en la estrategia reproductiva. El término despliegue floral hace referencia a la disposición y arreglos que presentan

las flores dentro de una misma planta así como la cantidad total que se encuentra en antesis durante un determinado periodo de tiempo (Barrett, 2003). Al igual que en el caso del diseño floral, también existe una relación entre el grado de despliegue y la estrategia reproductiva que presentan el sistema. En particular especies que se reproducen mediante fertilización cruzada, por lo general, presentan despliegues florales grandes y una mayor longevidad flor (Arroyo y col, 2013). A diferencia de las especies autoincompatibles, las autógamas presentan flores de menor tamaño, con menor distancia antera-estigma y menor producción de gametos masculinos en comparación que las plantas xenógamas (Goodwillie y col, 2010). Dichas modificaciones estarían relacionadas con una disminución en la atracción (Bell, 1985; Molina-Montenegro y Cavieres, 2006), o especialización morfológica en relación a los polinizadores (Nilsson, 1988; Alexanderson y Johnson, 2001). En el caso de la hercogamia, la separación física en la posición de los órganos sexuales evitaría la interferencia sexual en el caso de plantas autoincompatibles y la autopolinización autónoma en plantas autocompatibles.

El número de granos de polen en relación al número de óvulos producidos en una flor constituye otro rasgo del diseño floral que está relacionado con el sistema reproductivo (Cruden, 1977). Esta métrica tiene sentido biológico en términos de la eficiencia en la polinización y asignación de recursos en la reproducción (Charnov, 1982), donde plantas xenógamos presentaría baja eficiencia en la polinización por lo que se beneficiaría de una mayor producción de gametos masculinos y se produciría una reducción en la formación de óvulos (Cruden, 1977; Cruden y Jensen, 1979; Siccard y Lenhard, 2011). En plantas altamente autógamos el fenómeno sería inverso.

Variación geográfica en los sistemas de reproducción

Las estrategias que poseen las plantas para reproducirse varían entre los diversos linajes (Moeller, 2012), donde los recursos disponibles (Carroll y col, 2001), la forma de vida (Aarssen, 2000; Snell y Aarssen, 2005) y las condiciones ambientales del hábitat son importantes variables que explican estas diferencias. Evolutivamente, la transición desde xenógamia hacia la autogamia corresponde a unos de los cambios más frecuentes en la historia de las angiospermas (Stebbins, 1950, Barrett, 2010). Una de las explicaciones que da cuenta de esto se basa en la hipótesis de aseguramiento reproductivo, donde la reproducción mediante autogamia presenta ventajas reproductivas en cuanto a la formación de frutos y/o semillas, en comparación a la fertilización cruzada en un contexto de escasez de polinizadores (Moeller, 2012) y baja densidad poblacional (Robledo-Arnuncio y col, 2004). Debido a lo anterior, ambientes con condiciones climáticas altamente variables o extremas (Lloyd, 1979; Evans y col, 2005), los márgenes del rango distribucional de las especies, ambientes ecológicamente aislados como islas (Barrett, 1996), ambientes alpinos (Jacquemyn y col, 2005; Etcheverry y col, 2008), algunos desiertos y sitios sometidos a perturbación humana favorecen la presencia de plantas autogamas sobre xenógamas (Eckert y col, 2009).

En plantas que presentan una estrategia reproductiva mixta (Goodwillie y col, 2005), se plantea que existe un aumento en el gasto de recursos en estructuras florales (Fabbro y Körner, 2004) que permitan intensificar las señales de atracción de polinizadores y promover la polinización cruzada en compensación a la escasa abundancia de polinizadores (Moeller, 2006). Esto se observa en una variación espacial de un rasgo que se intensifica a través de un gradiente desde un ambiente con mayor cantidad de

polinizadores hacia otro con menor abundancia. En algunos casos particulares, especies que habitan en ambientes extremos han desarrollado una morfología floral específica para la atracción de un determinado tipo de polinizador. Bajo la hipótesis de aseguramiento reproductivo, estas especies generan una estrategia de autopolinización autónoma tardía frente a un escenario donde la polinización es improbable (Kalisz y Vogler, 2003; Pérez y col, 2009). Alternativamente desarrollan flores más longevas para aumentar la posibilidad de visitas (Arroyo y col 2006; Arroyo y col 2013).

Biología reproductiva en *Oenothera*

El género *Oenothera* es representado por 145 especies distribuidas dentro de Norte y Sudamérica (Wagner y col, 2007). Presenta flores hermafroditas, por lo general actinomorfa, que presentan una antesis que en la mayoría de las especies no supera las 24 horas. Su floración es diurna o vespertina. Son polinizadas tanto por abejas (halictidos y *Bombus*), polillas, esfingidos, mariposas, sírfidos y picaflones (Raven, 1979; Wagner 2007), relación que varía espacialmente dentro de un mismo linaje (Artz y col, 2010). Respecto a su sistema reproductivo esto también es diverso, presentando varias transiciones desde un sistema de autoincompatible a uno con autocompatibilidad, cambio que ocurre incluso entre poblaciones de la misma especie (Theiss y col, 2010; Krakos, 2011). La variación geográfica del sistema reproductivo en *Oenothera* en un contexto evolutivo ha sido estudiada por Evans y colaboradores (2011), donde se encontró que la transición hacia la pérdida de la autoincompatibilidad se relaciona con características climáticas del ambiente como las temperaturas extremas en invierno y las precipitaciones en la temporada más seca del año.

Planteamiento del problema de estudio

Oenothera acaulis es una hierba perenne endémica de Chile. Al igual que mayoría de las especies del género *Oenothera* sección *Lavauxia* (Raguso y col, 2007) al cual pertenece, *O. acaulis* presenta antesis nocturna y una longevidad floral inferior a 24 hrs (Vergara y col, 2011). Dentro de su distribución en Chile central, se encuentra desde el litoral costero (0 msnm) hasta la cordillera de Los Andes (2600 msnm) (Navas, 1976).

Respecto al conocimiento actual de la biología reproductiva en esta especie, East (1940) afirma que *O. acaulis* corresponde a una especie autoincompatible, aunque señala que esta información no es concluyente. Posteriormente, Raven (1979) pone en duda esta información señalando la falta de estudios que la confirmen, sugiriendo que debió haber existido un error por parte de East en la identificación de los individuos de estudios. Otros autores (Wagner y col, 2007; Vergara y col, 2011) asumen autocompatibilidad en *O. acaulis* como un rasgo compartido por el resto de las especies de la sección *Lavauxia*. Sin embargo no hay estudios experimentales para avalar esta postura y rechazar lo publicado por East (1940).

En cuanto a la ecología de polinización, la riqueza y frecuencia de visitas de polinizadores es un factor importante en la determinación del sistema reproductivo. En un gradiente altitudinal la disponibilidad de polinizadores presenta variaciones que consisten, a nivel general, en una disminución en la riqueza de visitas desde zonas bajas a zonas altas (Arroyo y Squeo, 1990; Olesen y Jordano, 2002). Estas tendencias se han encontrado a distintas latitudes incluyendo ambientes de tipo mediterráneo (Blionis y Vokou, 2001, Gulías y Traveset, 2011). Además de cambios en la composición de polinizadores, en Chile central, con un clima mediterráneo, a nivel

comunitario, se ha encontrado una disminución en la frecuencia de visitas de polinizadores con respecto a la altura considerando los pisos vegetaciones desde el límite arbóreo hasta el límite superior de la vegetación altoandina (Arroyo y col, 1982). Este cambio se ha relacionado con la disminución de la temperatura ambiental (Arroyo y col, 1985). A pesar de estas tendencias, en *O. acaulis*, se ha registrado una frecuencia más baja de visitas de polinizadores en una población costera (Los Molles) en comparación con una población andina (Farellones) (Campos-Urrutia, 2010; Villagra, comunicación personal). Esta variación podría conllevar a modificaciones en la biología reproductiva de *O. acaulis* entre poblaciones ubicadas a diferentes niveles altitudinales en un sentido opuesto a lo que se ha encontrado en otros estudios.

En concordancia con los antecedentes expuestos, surge la siguiente interrogante: ¿Existe una diferencia altitudinal en la estrategia reproductiva que presenta *O. acaulis*, considerando el sistema reproductivo y el diseño floral?

Hipótesis

- *O. acaulis* presenta variación en su estrategia reproductiva considerando los extremos de su distribución altitudinal, con un aumento de la autogamia en la zona costera.

Objetivos

Objetivo general

Examinar el sistema reproductivo y diseño floral que presentan poblaciones de *O. acaulis* correspondientes a dos pisos altitudinales en Chile central.

Objetivos específicos

Para poblaciones de *O. acaulis* provenientes de la zona costera y zona andina:

- Comparar la producción de frutos y semillas bajo distintos tratamientos de polinización.
- Determinar los índices de autofertilidad y autoincompatibilidad.
- Comparar los atributos florales como la hercogamia, tamaño floral, razón de polen/óvulo.

METODOLOGÍA

Especie de estudio

Oenothera acaulis Cavanilles (Onagraceae), conocido comúnmente como Don Diego de la Noche, es una hierba perenne, hemicriptófito, muy polimorfa. Es pubescente o glanduloso-pubescente. Acaule durante los primeros años de vida con hojas y flores dispuestas en rosetas. Desarrolla tallos anuales decumbentes, de hasta 50 cm de longitud con hojas alternas y flores axilares solitarias. Generalmente presenta hojas lanceoladas, lobuladas irregularmente cuya longitud varía entre tres a 20 cm. Posee flores blancas que se tornan rosadas a rojizas en senescencia y un hipanto cuya longitud varía entre dos a 12 cm de longitud. Fruto en cápsula leñosa con semillas oscuras ovals (Navas, 1976; Villagrán y col, 2007) (Fig. 1).



Figura 1: Hábito y flores de *O. acaulis*.

O. acaulis es endémica de Chile, y se distribuye desde la IV Región hasta Chiloé, (Navas, 1976) y desde el litoral a la cordillera andina, hasta los 2600 msnm. En cuanto a sus relaciones filogenéticas, *O. acaulis* pertenece a la sección *Lavauxia*, grupo monofilético de distribución anfrotropical compuesto por cinco especies (Wagner y col, 2007).

Área de estudio

El área de estudio se encuentra en la zona de clima mediterráneo de Chile central, correspondiente a la zona extratropical de fotoperiodismo diario y estacional, con precipitaciones concentradas en el periodo frío del año y con sequía durante la estación más cálida. En la costa presenta mayor humedad y menor amplitud térmica producto de la influencia marítima en tanto que hacia los Andes aumentan las precipitaciones mostrando semejanzas climáticas con los valles presentes más al sur de la región (Di Castri y Hajek, 1975). En la costa, neblina es frecuente. Esta región se encuentra declarada como un hotspot de biodiversidad debido a su alto endemismo y alta perturbación antrópica (Arroyo, 1999; Myers y col, 2000) Se trabajó en dos áreas denominadas acá zona costera y zona andina.

Zona costera: Corresponde a una franja que va entre los 0 y 100 msnm. Presenta características marcadas de clima mediterráneo con alta influencia costera. Los promedios de temperatura van desde 18°C en verano y 11,5°C en invierno. Esta zona se caracteriza por su alta nubosidad invernal con un promedio de precipitaciones anual de 369,2 mm, el cual varía dependiendo de la influencia de El Niño Oscilación del Sur (ENOS) (Erikson y Högstedt, 2004). La floración de *O. acaulis* en este zona, se presenta desde el mes de Agosto hasta fines del verano (Villagrán y col, 2007).

Para este estudio, se escogieron tres poblaciones costeras: Los Molles ($32^{\circ}14'16''\text{S}$; $71^{\circ}31'16''\text{O}$), Mirasol ($33^{\circ}18'58.91''\text{S}$; $71^{\circ}38'40.51''\text{O}$) y La Boca ($33^{\circ}54'52.33''\text{S}$; $71^{\circ}50'44.87''\text{O}$) (Fig. 2).

Zona andina: Corresponde a una franja de vegetación entre los 2200 y 2400 msnm que se ubica sobre el límite arbóreo de *Kageneckia angustifolia*. Presenta precipitaciones durante el invierno en forma de nieve y algunas tormentas estivales en sitios más elevados en verano. La cobertura de nieve se mantiene entre tres y cinco meses dependiendo de la altitud y exposición. La temperatura promedio anual es cercana a los $6,5^{\circ}\text{C}$ (Cavieres y col, 2000). La floración de *O. acaulis* en la zona andina está restringida a los meses estivales con un máximo durante Diciembre y Enero.

En esta zona se escogieron dos poblaciones: Farellones ($33^{\circ}21'33.49''\text{S}$; $70^{\circ}17'58.60''\text{O}$) y Lagunillas ($33^{\circ}36'17.81''\text{S}$; $70^{\circ}17'15.45''\text{O}$) (Fig. 2).

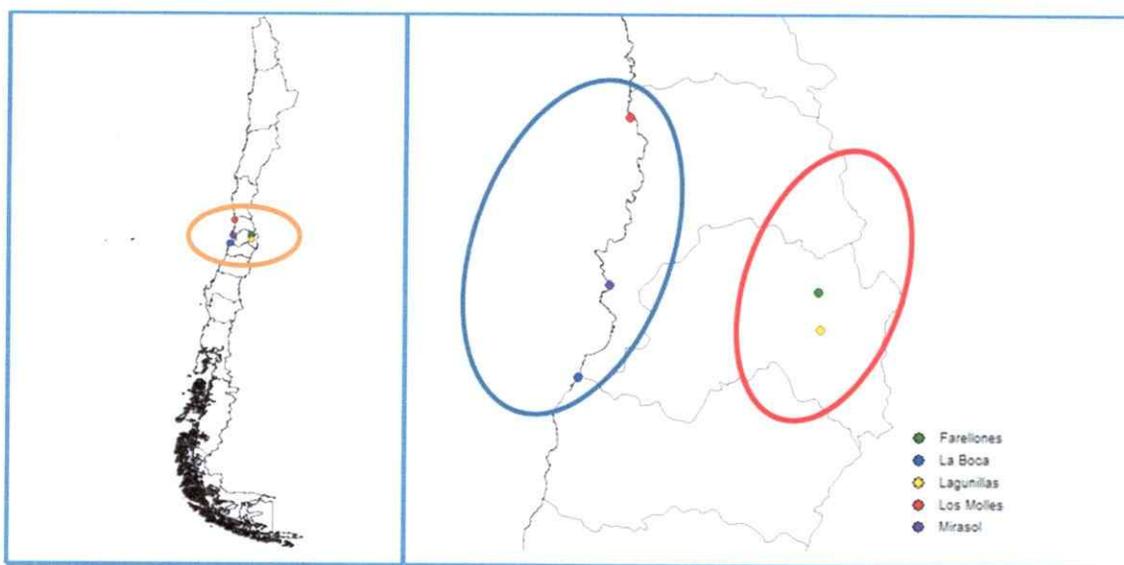


Figura 2: Ubicación del área de estudio en Chile central (naranja) y de las poblaciones de *O. acaulis* estudiadas en la zona costera (círculo azul) y andina (círculo rojo).

Sistema reproductivo

Para determinar el sistema reproductivo en *O. acaulis* se realizaron por cada población tres tratamientos de polinización:

Autopolinización autónoma (AA). En terreno se escogieron al azar 20 yemas florales maduras que pertenecieran a plantas distintas. Cada yema se cubrió con una bolsa de tul la cual se amarró, suavemente en el hipanto, con un alambre de cobre plastificado. Cada flor fue identificada con un hilo de color rosado el cual fue amarrado bajo el ovario. Las flores permanecieron embolsadas y se esperó a que fructificaran (Fig. 3).

Polinización cruzada (PC). En terreno se escogieron al azar 20 yemas florales maduras que pertenecieran a plantas distintas. Cada yema fue abierta con cuidado y se realizó la extracción de todos los estambres de la flor, con la precaución de no dejar excedente de polen dentro de ésta. Si en este procedimiento granos de polen entraban en contacto con el estigma o la flor presentaba rastros de autopolinización previa a la realización del tratamiento se descartaba esa yema y era remplazada por otra. Una vez que la flor fue emasculada, se cubrió con una bolsa de tul la cual se amarró, suavemente en el hipanto, con un alambre de cobre plastificado. Cada flor fue identificada con un hilo de color azul el cual fue amarrado bajo el ovario junto con una etiqueta. Las flores fueron polinizadas al amanecer a partir de polen de plantas que se encontrarán a una distancia igual o superior de cinco metros. Las flores fueron nuevamente embolsadas y se esperó a que fructificaran (Fig. 3).

Autopolinización manual (AM). En terreno se escogieron al azar 20 yemas florales maduras que pertenecieran a plantas distintas. Cada yema se cubrió con una bolsa de tul la cual se amarró, suavemente en el hipanto, con un alambre de cobre plastificado. Cada flor fue identificada con un hilo de color verde el cual fue amarrado bajo el ovario. Las flores que habían abierto fueron polinizadas al amanecer, cubriendo la totalidad del estigma con el polen producido por la misma flor. Las flores fueron nuevamente embolsadas y se esperó a que fructificaran (Fig. 3).

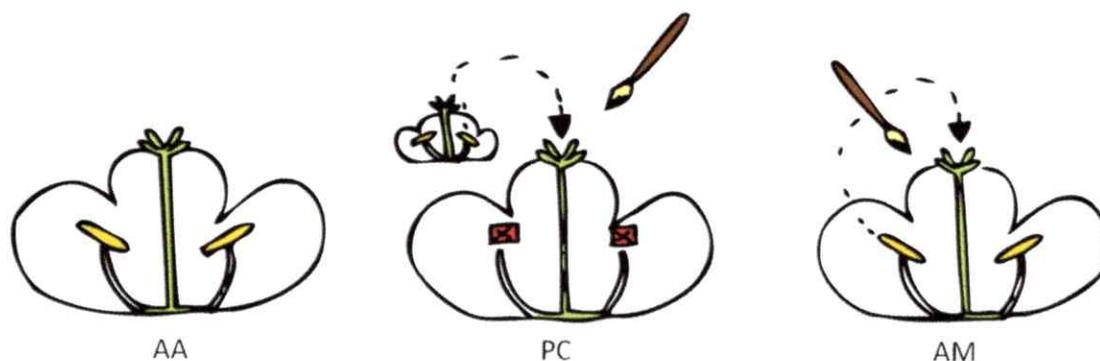


Figura 3: Esquema de los diferentes tratamientos de polinización realizados en este estudio: Autopolinización autónoma (AA), Polinización cruzada (PC) y Autopolinización manual (AM).

Frutos y semillas

Un mes después de realizados los diferentes tratamientos de polinización se recolectaron los frutos formados a partir de cada tratamiento. Los frutos se llevaron al laboratorio y fueron depositados en un vaso con agua durante 12 horas de manera individual, con la finalidad de permitir una apertura natural del fruto. Se contabilizaron la totalidad de semillas maduras en cada fruto.



Análisis de datos

Comparación intrapoblacional: Con el objeto de comparar la fructificación dentro de la misma población se realizó un test G con corrección de Yates para evaluar la dependencia entre la proporción de frutos formados y el tratamiento realizado. Además, se realizó una prueba ANOVA de una vía para comparar la proporción de semillas formadas por flor polinizada entre los distintos tratamientos realizados.

Comparación interpoblacional: Para realizar una comparación del sistema de reproducción entre los sitios de estudio se calculó el índice de auto fertilidad (IAF) y el índice de auto incompatibilidad (IAI).

El IAF considera la razón entre el promedio de semillas producidas por flor autopolinizada autónomamente y el promedio de semillas por flor bajo tratamiento de polinización cruzada. En tanto, que el IAI considera la razón entre el promedio de semillas producidas por flor polinizada entre tratamientos de autopolinización manual y polinización cruzada. En ambos índices se toma como supuesto que la máxima producción de semillas se alcanza mediante polinización cruzada (Lloyd y Schoen, 1992).

Diseño floral

Tamaño floral: Se recolectaron en terreno las corolas y hipantos de 30 flores por población provenientes de individuos diferentes. Las muestras fueron obtenidas al azar durante el periodo de antesis, cuidando que correspondieran a plantas distintas y no hubiera señal de senescencia. Las muestras fueron conservadas en alcohol y trasladadas al laboratorio para un posterior análisis. Cada corola fue fotografiada por separado junto con una medida de referencia. Se calculó digitalmente el área de la

corola con la ayuda del software Sigma Scan. Se midió la longitud de cada hipanto con un pie de metro digital. Por población se calculó un promedio para estos valores y se realizó una comparación entre localidades mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía.

Hercogamia: Se recolectaron en terreno un total de 30 flores de diferentes individuos por localidad de estudio. Las muestras fueron obtenidas al azar durante el periodo de anthesis, donde se realizó el corte a la altura del ovario o bajo éste. Las muestras fueron conservadas en alcohol y trasladadas al laboratorio para un posterior análisis.

En el laboratorio se midió por flor, la longitud de los filamentos y del estilo desde el punto de inserción del estambre al hipanto. Se calculó la hercogamia como la diferencia entre la longitud del estilo, considerada desde la inserción de los estambres y la longitud de los filamentos. A partir de los valores de hercogamia obtenidos se calculó un promedio por población. Se realizó una comparación estadística de estos promedios por medio de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía.

Razón polen-óvulo: Para la evaluación de la razón polen-óvulo se recolectaron en terreno un total de cinco yemas florales por cada localidad de estudio. Las yemas fueron cortadas en la sección inferior del ovario en la zona proximal de la flor. Éstas se abrieron para revisar que no existiera dehiscencia en las anteras de tal manera de evitar la pérdida de polen, para finalmente almacenarlas en un vial con etanol 70% (v/v) para su posterior análisis en el laboratorio.

Para realizar el conteo de polen se seleccionó al azar un estambre por yema. Cada estambre se colocó sobre un vidrio de reloj y se tiñó con azul de metileno durante cinco minutos. Posteriormente, el estambre se colocó sobre un porta objetos, donde se

extrajo el filamento dejando solamente la antera. Se colocó la muestra bajo un microscopio estereoscópico, donde con la ayuda de un par de alfileres entomológicos se procedió con la extracción del polen desde el interior de las tecas y posterior dispersión sobre el portaobjetos; con la finalidad de permitir la distinción individual de cada grano para su posterior conteo. Bajo el portaobjetos se colocó una cuadrícula de tal manera de fraccionar el área de estudio. Cada cuadro fue fotografiado en el microscopio estereoscópico. Finalmente en base a las fotografías obtenidas se realizó el conteo de los granos de polen contenidos en cada antera. Para realizar el conteo de óvulos se disectó el ovario bajo un microscopio estereoscópico contabilizando la totalidad de óvulos presente en cada lóculo. Se determinó la razón polen-óvulo a partir de los valores de polen por antera multiplicado por el número de anteras por flor, dividido por la cantidad de óvulos por flor, como un referente de la razón polen-óvulo total que hubiera significado medir la cantidad de granos de polen contenidos en las ocho anteras de la flor. Se calculó este cociente por individuo, promediando los individuos de una población. Para realizar una comparación de los promedios entre distintas poblaciones se realizó el test no paramétrico Kruskal-Wallis. Se utilizó esta medida como un referente de la razón polen-óvulo total.

RESULTADOS

Sistema reproductivo

Zona andina

Lagunillas

En la población de Lagunillas, la proporción de frutos formados fue 5,5% para el tratamiento de autopolinización autónoma, 93,7% para el tratamiento de polinización cruzada y 82,3% para el tratamiento de autopolinización (Tabla 1). La prueba de G con corrección de Yates, determinó que la producción de frutos es dependiente del tratamiento ($G=31,9$; $p<0,01$).

Tabla 1: Resultado de los tratamientos en cuanto a producción de frutos y semillas en la población Lagunillas. n: cantidad total de flores por tratamiento; Frutos: cantidad total de frutos formados; n: cantidad total de flores por tratamiento; Semillas: Promedio de semillas formadas por flor tratada. Donde, AA: autopolinización autónoma, PC: polinización cruzada y AM: autopolinización manual.

Tratamiento de polinización	n	Frutos	Semillas \pm DE	2 EE
AA	18	1	2,5 \pm 10,6	4,9
PC	16	15	53,3 \pm 28,5	14,2
AM	17	14	52,4 \pm 28,1	13,6

El test de Kruskal-Wallis, arrojó diferencias entre tratamientos ($H_c=26,4$; $p<0,001$). Para determinar si existían diferencias significativas entre tratamientos de polinización se utilizó la prueba de Mann-Whitney, que determinó que existen diferencias entre los tratamientos de autopolinización autónoma y polinización cruzada ($p<0,001$) y autopolinización autónoma y autopolinización manual ($p<0,001$). Los tratamientos de polinización cruzada y autopolinización manual no presentaron diferencias significativas en el número de semillas producidas por flor tratada (Fig.4).

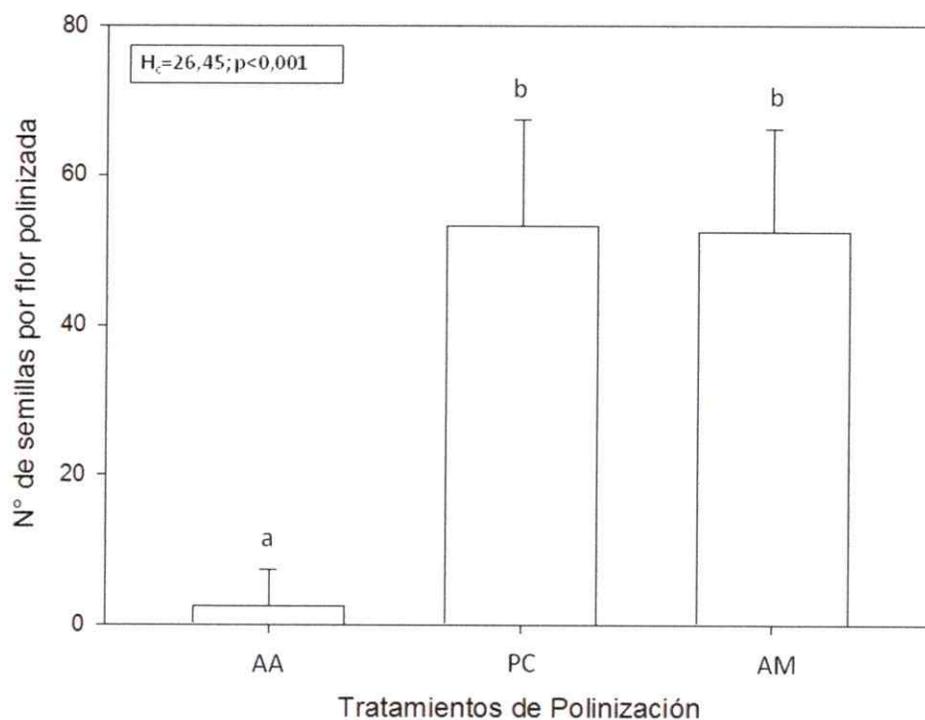


Figura 4: Promedio y 2EE de producción de semillas por flor polinizada bajo tratamiento de autopolinización autónoma (AA), polinización cruzada (PC) y autopolinización manual (AM) en población Lagunillas. Resultado de test de Kruskal-Wallis (H_c,p) en recuadro ubicado en la esquina superior izquierda de la figura.

Diferencias entre tratamientos son señaladas con letras diferentes (Prueba de Mann-Whitney, $\alpha=0,05$).

Farellones

En Farellones el porcentaje de frutos formados por tratamiento fue 38,8% por tratamiento de autopolinización autónoma, 83,3% por polinización cruzada y 84,6% por autopolinización manual (Tabla 2). Al realizar una prueba de G con corrección de Yates arrojó una dependencia entre el tratamiento de polinización y la cantidad de frutos formados ($G=10,46$, $p=0,02$).

Tabla 2: Resultado de los tratamientos en cuanto a producción de frutos y semillas en población Farellones. n: cantidad total de flores por tratamiento; Frutos: cantidad total de frutos formados; Semillas: Promedio de semillas formadas por flor. Donde, AA: autopolinización autónoma, PC: polinización cruzada y AM: autopolinización manual.

Tratamiento de polinización	N	Frutos	Semillas \pm DE	2 EE
AA	18	7	13,3 \pm 22,1	10,4
PC	18	15	40,6 \pm 22,3	10,5
AM	13	11	35,6 \pm 24,1	13,4

Se comparó la cantidad de semillas producidas por flor en los diferentes tratamientos mediante un test de Kruskal-Wallis, el cual arrojó diferencias entre tratamientos

($H_c=11,1$; $p=0,003$). Se realizó un test de Mann-Whitney para comparar los tratamientos y se encontraron diferencias entre los tratamientos de autopolinización autónoma y polinización cruzada ($p=0,006$) y entre autopolinización autónoma y autopolinización manual ($p=0,03$). El tratamiento de polinización cruzada y autopolinización manual no presentaron diferencias en el número de semillas producidas por flor tratada (Fig. 5).

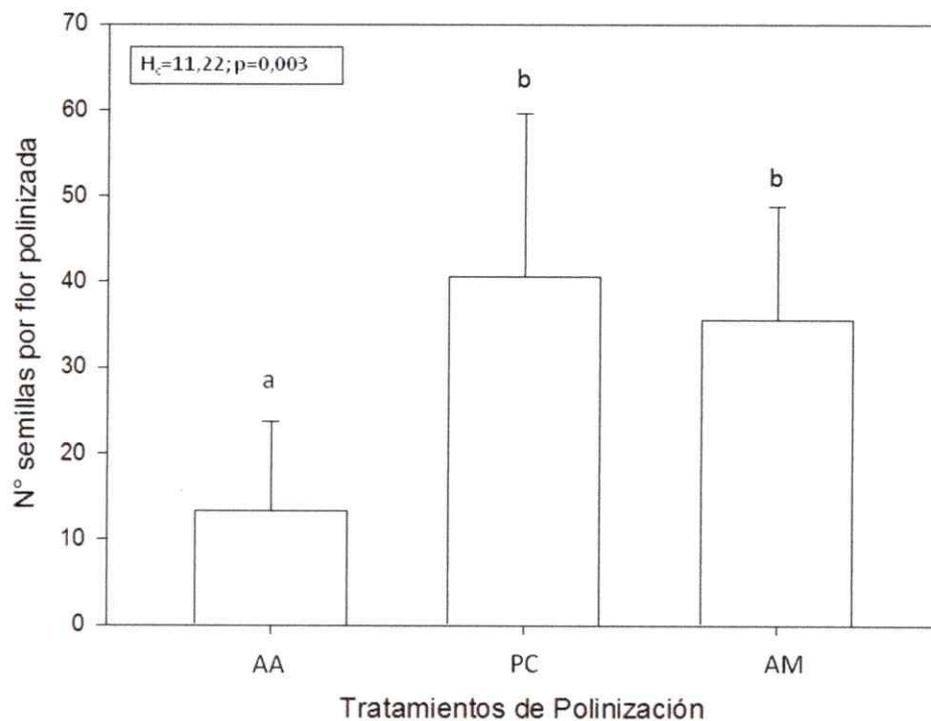


Figura 5: Promedio y 2EE de producción de semillas por flor polinizada bajo tratamiento de autopolinización autónoma (AA), polinización cruzada (PC) y autopolinización manual (AM) en población Farellones. Resultado de test de Kruskal-

Wallis ($H_{c,p}$) en recuadro ubicado en la esquina superior izquierda de la figura. Diferencias entre tratamientos son señaladas con letras diferentes (Prueba de Mann-Whitney, $\alpha=0,05$).

Zona costera

Mirasol

En la población de Mirasol el porcentaje de frutos producidos fue de 75% por tratamiento de autopolinización autónoma, 100% por tratamiento de polinización cruzada y 94,7% en tratamiento de autopolinización manual (Tabla 3). Al realizar una prueba de G, esta demostró que existe independencia entre cantidad de frutos formados y el tratamiento aplicado ($G=3,5$; $p=0,17$).

Tabla 3: Resultado de los tratamientos en cuanto a producción de frutos y semillas en población Mirasol. n: cantidad total de flores por tratamiento; Frutos: cantidad total de frutos formados; Semillas: Promedio de semillas formadas por flor tratada. Donde, AA: autopolinización autónoma, PC: polinización cruzada y AM: autopolinización manual.

Tratamiento de polinización	N	Frutos	Semillas \pm DE	2 EE
AA	16	12	26,1 \pm 20,3	10,2
PC	18	18	38,5 \pm 10,8	5,1
AM	19	18	44,0 \pm 27,8	12,8

Se comparó la cantidad de semillas producidas por flor en tratamiento mediante un test de Kruskal-Wallis, el cual no mostró diferencias entre tratamientos ($H_c=4,3$; $p=0,1$) (Fig. 6).

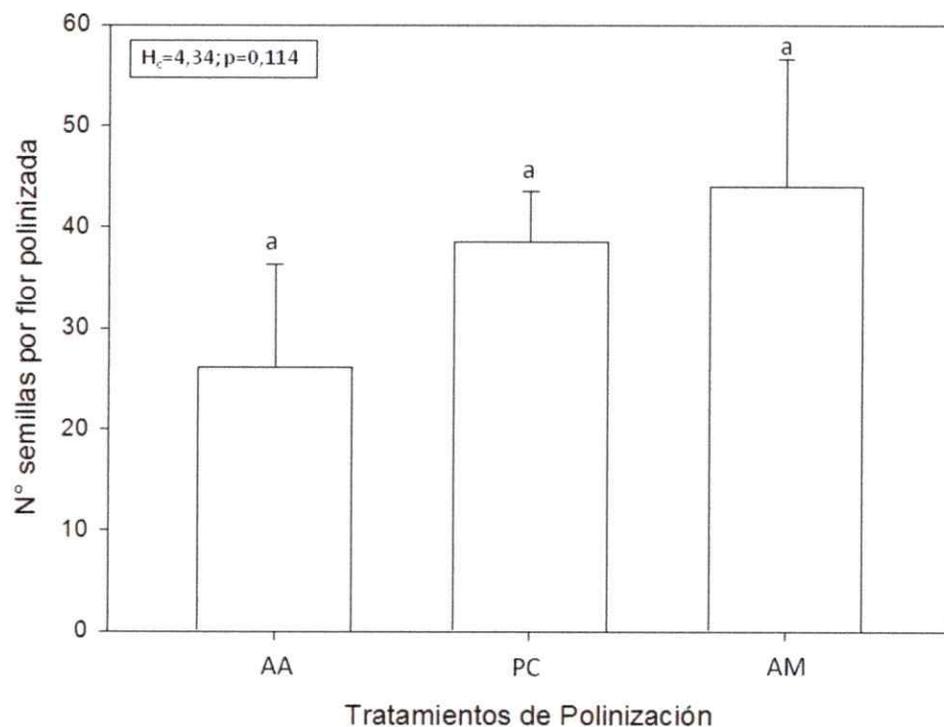


Figura 6: Promedio y 2EE de producción de semillas por flor polinizada bajo tratamiento de autopolinización autónoma (AA), polinización cruzada (PC) y autopolinización manual (AM) en población Mirasol. Resultado de test de Kruskal-Wallis (H_c, p) en recuadro ubicado en la esquina superior izquierda de la figura. Diferencias entre tratamientos son señaladas con letras diferentes.



Los Molles

En Los Molles, la producción de frutos por fue 77,7% en el tratamiento de autopolinización autónoma, 90,5% en tratamiento de polinización cruzada y 100% de frutos formados por autopolinización manual (Tabla 4). Al realizar una prueba de G se demostró que no existe una relación dependiente entre el porcentaje de frutos formados y el tratamiento de polinización ($G=3,3$, $p=0,2$).

Tabla 4: Resultado de los tratamientos en cuanto a producción de frutos y semillas en población Los Molles. n: cantidad total de flores por tratamiento; Frutos: cantidad total de frutos formados; Semillas: promedio de semillas formadas por flor tratada. Donde, AA: autopolinización autónoma, PC: polinización cruzada y AM: autopolinización manual.

Tratamiento de polinización	N	Frutos	Semillas \pm DE	2 EE
AA	18	14	44,1 \pm 29,9	14,1
PC	21	19	46,3 \pm 25,7	11,2
AM	21	21	61,6 \pm 21,2	9,3

Se comparó la cantidad de semillas producidas por flor por tratamiento mediante con ANOVA, el cual no mostró diferencias entre tratamientos ($F=2,806$; $p=0,068$) (Fig. 7).

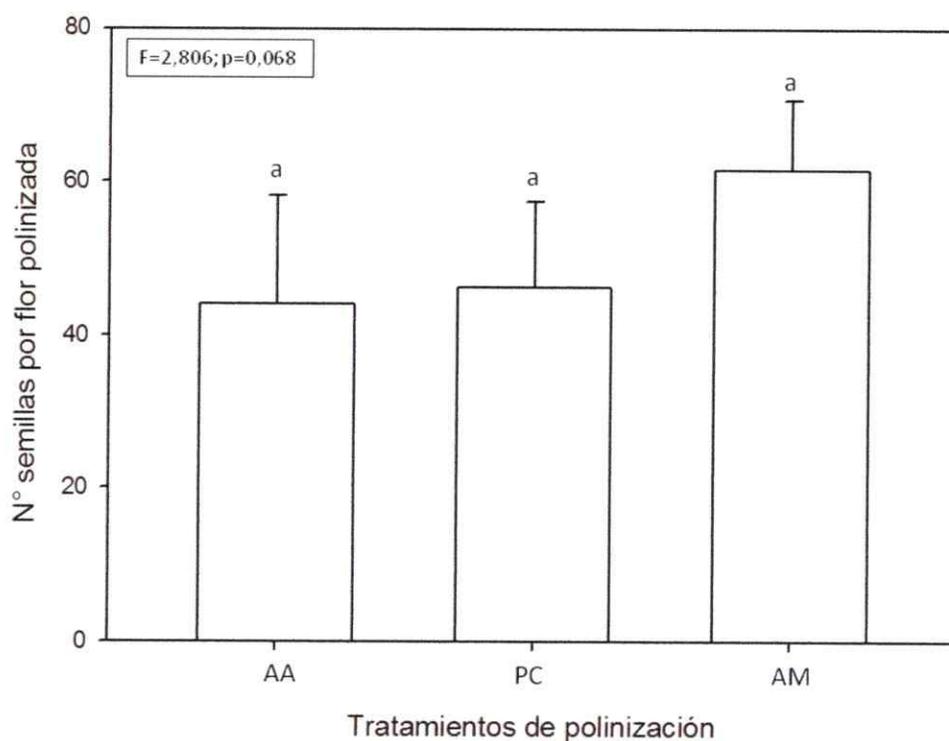


Figura 7: Promedio y 2 EE de producción de semillas por flor polinizada bajo tratamiento de autopolinización autónoma (AA), polinización cruzada (PC) y autopolinización manual (AM) en población Los Molles. Resultado de test de ANOVA (F, p) en recuadro ubicado en la esquina superior izquierda de la figura. Diferencias entre tratamientos son señaladas con letras diferentes.

La Boca

En la población de La Boca la producción de frutos por tratamiento fue 75% en autopolinización autónoma, 94,7% en polinización cruzada y 88,9% en autopolinización manual (Tabla 5). Al realizar una prueba de G, ésta señaló que existe independencia entre los tratamientos realizados y el porcentaje de frutos producidos ($G=1,4$; $p=0,49$).

Tabla 5: Resultado de los tratamientos en cuanto a producción de frutos y semillas en población La Boca. n: cantidad total de flores Frutos: cantidad total de frutos formados; Semillas: Promedio de semillas formadas por flor tratada. Donde, AA: autopolinización autónoma, PC: polinización cruzada y AM: autopolinización manual.

Tratamiento de polinización	N	Frutos	Semillas \pm DE	2 EE
AA	16	12	41,5 \pm 34,4	17,2
PC	19	18	54,4 \pm 24,6	11,3
AM	18	16	52,6 \pm 34,0	16,0

Se comparó la cantidad de semillas producidas por en los tratamientos con ANOVA, el cual no mostró diferencias entre tratamientos ($F=2,8$; $p=0,07$) (Fig. 8).

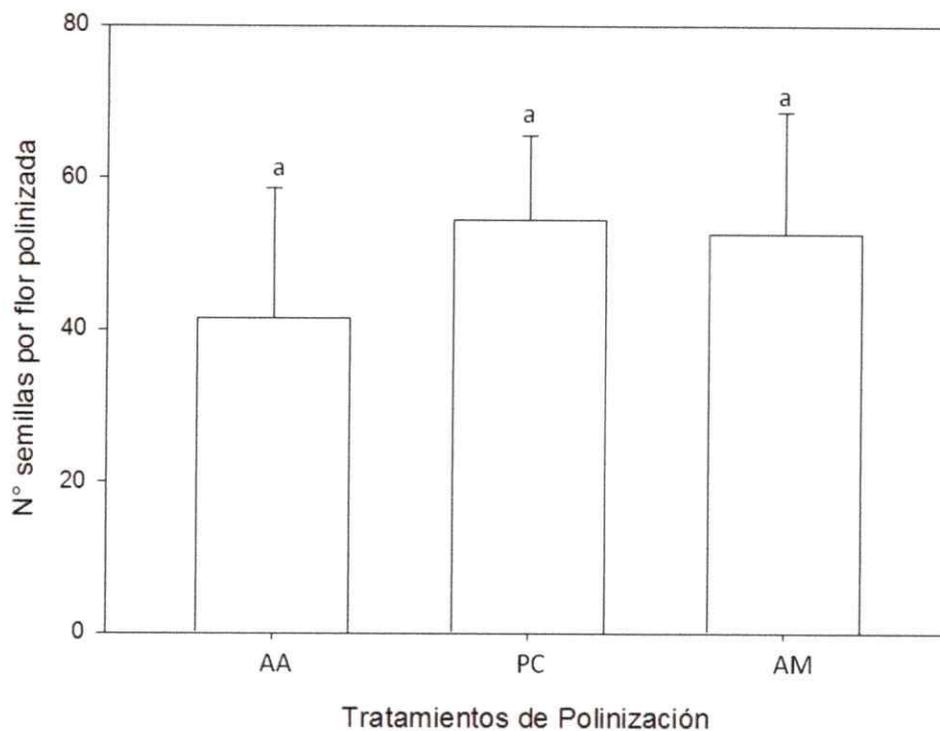


Figura 8: Promedio y 2EE de producción de semillas por flor polinizada bajo tratamiento de autopolinización autónoma (AA), polinización cruzada (PC) y autopolinización manual (AM) en población La Boca. Resultado de test de ANOVA (F, p) en recuadro ubicado en la esquina superior izquierda de la figura. Diferencias entre tratamientos son señaladas con letras diferentes.

Comparación interpoblacional y entre zonas de índices

Se calculó tanto el Índice de Autofertilidad como el de Autoincompatibilidad por cada población de estudio. Lloyd y Schoen (1992) proponen 0,75 como un valor crítico de IAI, donde sobre este se puede considerar que una especie o población es

autocompatible. En este estudio todas las poblaciones presentan un índice sobre ese valor, por lo tanto, todas ellas son autocompatibles. En tanto para el IAF, los autores proponen un valor crítico de 0,5 para discriminar entre grupos respecto a su capacidad para realizar polinización autónoma. Las poblaciones andinas (Farellones y Lagunillas) presentan un bajo valor de IAF, en comparación con las poblaciones costeras (Los Molles, Mirasol y La Boca) que presentan un valor sobre 0,5 (Tabla 6), lo que indica que existe la capacidad de autofecundarse sin la necesidad de un vector externo.

Tabla 6: Índices de autofertilidad (IAF) y autoincompatibilidad (IAI) para cada población de estudio.

Población		IAF	IAI
Zona	Farellones	0,31	0,88
andina	Lagunillas	0,04	0,98
Zona	Los Molles	0,95	1,33
costera	Mirasol	0,68	1,14
	La Boca	0,76	0,96

Diseño floral

Tamaño de la corola: Las corolas presentaban variación entre poblaciones, siendo la población de Lagunillas la que presentó flores con corolas más grandes y Los Molles la que tenía flores más pequeñas (Tabla 7). Por razones logísticas no se tomaron muestras provenientes de Mirasol. Se realizó un test de Kruskal-Wallis, el cual arrojó que existen diferencias significativas en el tamaño de corola entre localidades ($H_c=27,9$; $p<0,001$). Se realizó un test de Mann-Whitney post-hoc con corrección de

Bonferroni para evaluar diferencias entre localidades, en donde las flores de Lagunillas presentaban corolas de mayor área en comparación a Farellones ($p < 0,001$), Los Molles ($p = 0,048$) y La Boca ($p < 0,001$). El resto de las localidades no presentaron diferencias significativas (Fig. 7).

Tabla 7: Promedio del área de la corola floral (cm^2) por población de estudio.

	Población	Área Corola (cm^2) \pm DE
Zona andina	Farellones	24,1 \pm 9,6 (n=48)
	Lagunillas	37,3 \pm 11,8 (n=36)
Zona Costera	Los Molles	29,1 \pm 12,9 (n=30)
	La Boca	25,6 \pm 7,4 (n=58)

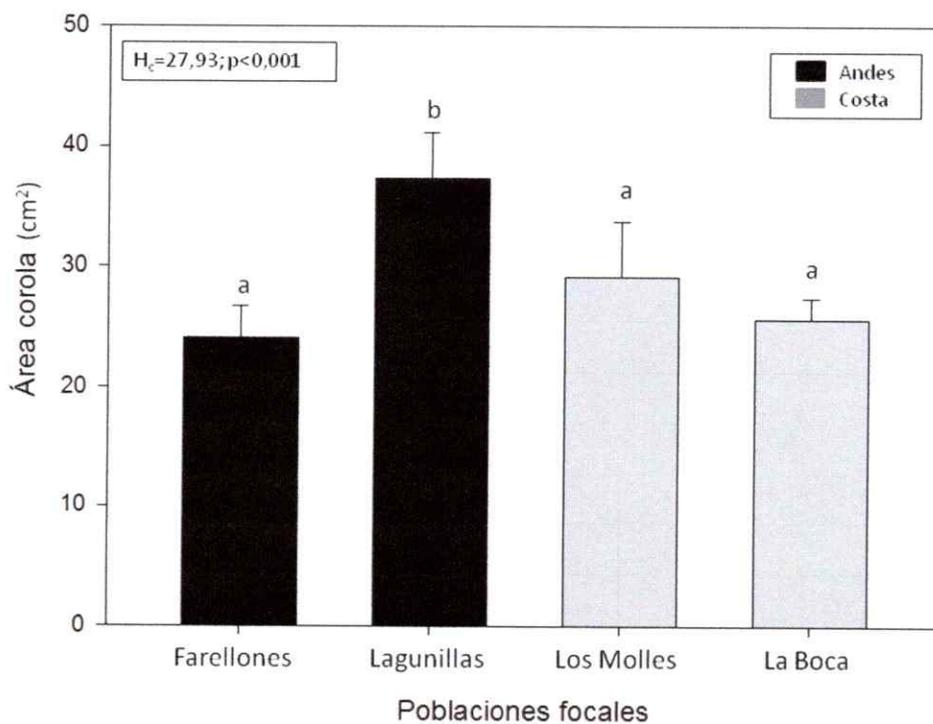


Figura 9: Promedio del área de la corola floral y 2 EE por cada población de estudios. Colores en barras indican diferentes zonas geográficas. Resultado de test de Kruskal-Wallis ($H_{c,p}$) en recuadro ubicado en la esquina superior izquierda de la figura. Diferencias significativas entre tratamientos son señaladas con letras diferentes (Prueba de Mann-Whitney, $\alpha=0,05$).

Longitud del hipanto: El largo del hipanto floral presentó variación siendo la población de La Boca ($\bar{x}=96,02$ mm) la que presentó una mayor longitud en el tubo floral y la población de Farellones la que presentaba hipantos más cortos (Tabla 8). No se tomaron datos de la población de Mirasol debido a razones logísticas. Para evaluar diferencias en la longitud del hipanto se realizó una transformación de datos de Box-Cox para que presentarán una distribución normal. Se realizó un test de Welch para muestras heterocedástica (Test de Levene $p=0,019$), el cual arrojó un nivel de significancia de $F=17,97(p<0,01)$. Para comparar entre localidades se realizó un test de Tukey, el cuál indicó que las flores de Farellones presentan hipantos de menor longitud en comparación con Lagunillas ($p<0,001$), La Boca ($p<0,001$) y Los Molles ($p=0,0012$). El resto de las poblaciones no presenta diferencias que sean significativas respecto al largo del hipanto (Fig. 10).

Tabla 8: Promedio de la longitud hipantial (mm) por población de estudio.

Poblaciones	Largo Hipanto (mm) \pm DE
Farellones	62,5 \pm 16,6 (n=40)
Lagunillas	86,6 \pm 19,3 (n=32)
Los Molles	84,2 \pm 32,0 (n=35)
La Boca	96,0 \pm 23,3 (n=28)

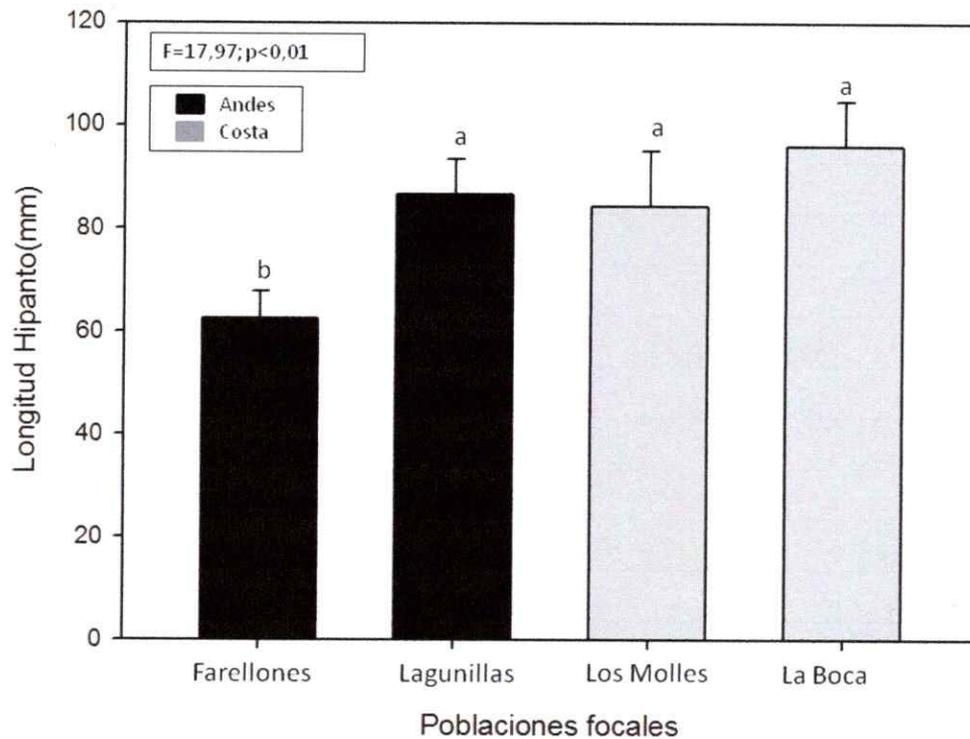


Figura 10: Promedio de la longitud hipantial y 2 EE por cada población de estudios. Colores en barras indican diferentes zonas geográficas. Resultado de test de Welch (F, p) en recuadro ubicado en la esquina superior izquierda de la figura. Diferencias significativas entre tratamientos son señaladas con letras diferentes (Prueba de Mann-Whitney, $\alpha=0,05$).

Hercogamia: El promedio de la hercogamia floral fue superior a 10 mm en las poblaciones andinas e inferior a 5mm en las poblaciones costeras. Por razones logísticas no se analizaron muestras provenientes de Mirasol (Tabla 9). Se realizó un

test de Welch, debido a que existía varianzas diferentes (Levene $p=0,019$), el cual indicó que existían diferencias significativas entre las poblaciones estudiadas ($F=36,9$; $p<0,001$). Se realizó un test de Tukey para discriminar entre localidades, donde no se encontró diferencias en la hercogamia entre la localidades de Farellones y Lagunillas ($p=0,3$) y Los Molles y la Boca ($p=0,09$). El resto de las comparaciones presentaba una diferencia significativa según el test realizado, donde la hercogamia de las flores costeras era menor que la de las flores andinas (Fig. 11).

Tabla 9: Promedio de la hercogamia floral (mm) por población de estudio.

	Población	Hercogamia (mm) \pm DE
Zona andina	Farellones	13,0 \pm 4,1 (n=40)
	Lagunillas	10,5 \pm 6,9; (n=32)
Zona costera	Los Molles	3,0 \pm 4,8 (n=35)
	La Boca	2,1 \pm 8,2 (n=28)

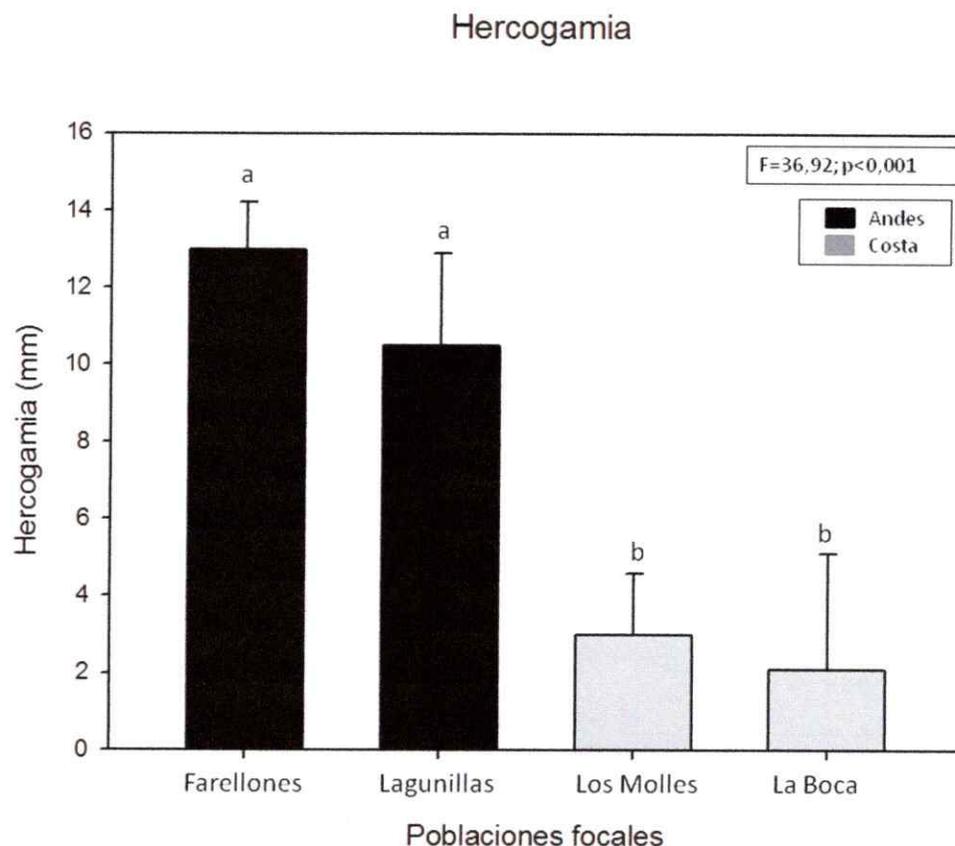


Figura 11: Promedio de la hercogamia floral y 2EE por cada población de estudios. Colores en barras indican diferentes zonas geográficas. Resultado de test de Welch (F,p) en recuadro ubicado en la esquina superior izquierda de la figura. Diferencias significativas entre tratamientos son señaladas con letras diferentes (Prueba de Tukey, $\alpha=0,05$).

Razón polen-óvulo: Los valores de la razón polen-óvulo para las localidades de estudio presentaron un rango de variación que se encontró entre los 12 a los 18 granos de polen por óvulo en la flor. (Tabla 10). Se comparó la razón entre las distintas localidades mediante un test de Kruskal-Wallis, el cual arrojó que existen diferencias

significativas entre las diferentes poblaciones. Sin embargo, al realizar la prueba de Mann-Whitney para comparación entre muestras pares con corrección de Bonferroni, no se encontraron resultados significativos.

Tabla 10: Promedio y desviación estándar de número de granos polen por antera, número de óvulos por flor y razón polen- óvulo por población de estudio.

	Población	Polen ± DE	Óvulo± DE	P/O± DE
Zona andina	Lagunillas	1934,2 ± 284,2 (n=5)	102,3 ± 17,2 (n=10)	12,5 ± 3,2 (n=5)
	Farellones	1735,2 ± 197,4 (n=5)	88,5 ± 12,6 (n=10)	18,2 ± 1,7 (n=5)
Zona costera	Mirasol	2359 ± 432,2 (n=5)	144,6 ± 18,6 (n=10)	16,62 ± 5,4 (n=5)
	Los Molles	1643,4 ± 475,9 (n=5)	128,1 ± 23,8 (n=10)	12,5 ± 3,2 (n=5)
	La Boca	2019,6 ± 240,6 (n=5)	132,2 ± 15,7 (n=10)	16,1 ± 1,5 (n=5)

Se comparó el número de granos de polen por antera entre los diferentes sitios mediante un análisis de Kruskal-Wallis el cual no fue significativo ($H_c=8,3$; $p=0,08$).

El número de óvulos por flor se comparó entre poblaciones por medio de un análisis de Kruskal-Wallis, encontrando diferencias entre los diferentes sitios ($H_c=29,2$; $p<0,001$). Al realizar la comparación de pares Mann-Whitney con corrección de Bonferroni solo se encuentran diferencias entre Farellones y Los Molles ($p=0,013$); Farellones y La Boca ($p=0,001$); Farellones y Mirasol ($p=0,0017$); Mirasol y Lagunillas ($p=0,009$) (Fig.12).

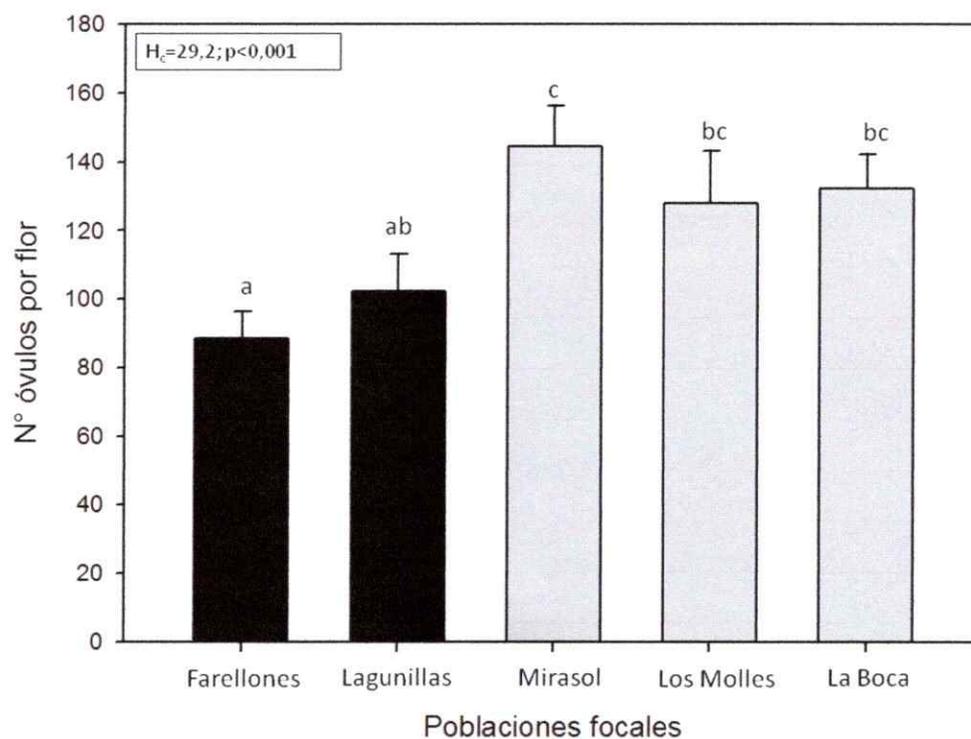


Figura 12: promedio y 2EE del número de óvulos por flor por cada población de estudio. Colores en barras indican diferentes zonas geográficas. Diferencias entre tratamientos son señaladas con letras diferentes (Prueba de Mann-Whitney, $\alpha=0,05$).

DISCUSIÓN

Los diferentes tratamientos de polinización realizados en las poblaciones de *O. acaulis* sugieren que esta especie es autocompatible, concordando con la predicción de Raven (1979) basado en los sistemas de reproducción conocidos para otras especies de la sección del género a la cual pertenece *O. acaulis*. Esta característica la comparten todas las especies de la sección *Lavauxia* (Raguso y col, 2007), salvo algunas excepciones de autoincompatibilidad presente en plantas de *O. acutissima* (Wagner y col, 2007). En *O. centauriifolia* no se tiene información al respecto. Al mismo tiempo, nuestros resultados refutan la presencia de un sistema autoincompatibilidad para esta especie como lo había planteado East (1940), confirmando la posición de Raven (1979) que probablemente se trata de un error de identificación.

La variación en el índice IAF entre poblaciones indica que existe una diferenciación en la capacidad intrínseca que presenta la flor para auto polinizarse, siendo alta en poblaciones costeras y baja en poblaciones andinas. Las diferencias en el nivel de autogamia autónoma son más notorias entre las poblaciones de los dos pisos altitudinales que dentro las zonas, generando una estrategia mixta (Vergara y col, 2011) que varía altitudinalmente y que solo estaría presente en el 8% de las especies de *Oenothera* (Raven, 1979). Como plantea Lloyd y Schoen (1992) está tipo de variación podría estar dada por alguna modificación en un atributo floral. En el caso de *O. acaulis* la diferencia es debida a la hercogamia floral que es menos desarrollada en las poblaciones costeras, siendo además la hercogamia el rasgo del diseño floral más

importante dentro de la estrategia reproductiva de *O. acaulis*. Los niveles de hercogamia encontrados en las poblaciones andinas se condicen con los presentados por otras especies de *Oenothera* autocompatibles con alto nivel de *outcrossing* como *O. acutissima* y *O. flava* subsp. *taraxacoides* (Raguso y col, 2007). La relación entre hercogamia y variación de la autopolinización autónoma entre poblaciones también se puede encontrar en otras especies como *Clarkia xantiana* (Moeller,2006), *Nicotiana glauca* (Schueller,2004) y *Aquilegia canadensis* (Herlihy y Eckert, 2004) que presentan un disminución en la distancia antera-estigma en poblaciones periféricas con respecto a sus rangos de distribución, lo cual es asociado directamente a un aumento en la capacidad de realizar autopolinización autónoma como mecanismo de aseguramiento reproductivo.

No obstante, la variación en la estrategia reproductiva a nivel altitudinal no se articula con todos los rasgos estudiados. Rasgos relacionados al tamaño floral como el área de la corola y el largo del hipanto presentan variación local. En tanto la relación polen óvulo sería un rasgo homogéneo en todas las poblaciones. Al realizar una comparación con otras especies de *Oenothera sect. Lavauxia*, se encontró que los valores de tamaño de corola para la mayoría de las poblaciones se asemejan a los que presenta *Oenothera triloba*, especie con sistema reproductivo mixto. El valor de tamaño de corola presente en Lagunillas se asemeja a los que presenta un población de *Oenothera flava* subsp. *taraxacoides*, ubicada en Nuevo México. Respecto a la longitud de los hipantos dentro del rango que presenta las poblaciones de *O. acaulis* podemos encontrar especies cleistogamas (*O. flava* subsp. *flava*), especies con sistema reproductivo mixto (*O. triloba*) y especies xenogamas autocompatibles (*O. acutissima*). Este amplio rango en la morfología floral, nos permite recalcar la presencia de un

sistema reproductivo mixto por parte de *O. acaulis*. En cuanto, a la relación polen:óvulo, los valores propuestos por Cruden (1977) para determinar el sistema reproductivo de las plantas a partir de esta relación, clasifican a *O. acaulis* como una especie autógama facultativa, categoría que podría estar subestimada dada las características del polen de *Oenothera* (Cruden y Jensen, 1979) pudiendo situarla en una categoría de xenogamia facultativa. A nivel de generación de gametos existe una leve diferencia en la producción de gametos femeninos, siendo mayor en poblaciones costeras que en andinas. En un escenario donde la polinización es escasa, tiende a existir un aumento en la asignación de recursos en la función femenina de la flor, generando un aumento en el número de óvulos (Burd y col, 2009), por lo que podríamos encontrar frente a un escenario donde existe un aumento en producción de óvulos relacionada posiblemente con una disminución en la frecuencia de visitas por polinizadores.

La variación en la estrategia reproductiva en *O. acaulis* desde un sistema con alta tasa de autofertilización en la zona costera hacia una disminución del *selfing* en la zona andina, abarcando una diferencia en altitud de más de 2000 metros, se ajusta a nuestras predicciones basadas en el conocimiento previo de los polinizadores. Sobre la biología de polinización de *O. acaulis* realizado en las poblaciones de Los Molles y Farellones, se han encontrado diferencias a nivel de riqueza de polinizadores, siendo mayor en las poblaciones andinas, con visitas florales por parte del picaflor *Patagona gigas* (Trochilidae, Apodiformes), el abejorro nativo *Bombus dahlbomii* (Apidae, Hymenoptera) y el esfingido *Hyles annei* (Sphingidae, Lepidoptera) (Campos-Urrutia, 2010). Comparativamente en la costa se ha encontrado escasas visitas por parte de *H. annei*, habiendo un aumento en la presencia de insectos larcenistas como *Blatta*

orientalis (Vergara y col, 2011). Un estudio realizado dentro del rango de distribución costero de *O. acaulis* no se detectaron visitas de polinizadores durante de investigación (Flores, 2013). A la luz de estos antecedentes, la variación que presenta la estrategia reproductiva puede estar fuertemente asociada a la disponibilidad de polinizadores específicos, la cual, en este caso, es mucho más alta en poblaciones andinas, patrón que también es posible de observar en otras especies mediterráneas como *Thymelaea velutina* (de la Bandera y Traveset, 2006).

En general la tendencia altitudinal en cuanto al sistema reproductivo encontrada en *O. acaulis* no es común. No obstante se ha encontrado también en *Eritrichium nanum*, una planta con distribución alpina (Wirth y col, 2010). Sin embargo, en esta especie dicha variación estaría explicada por el aumento en la geitonogamia a baja altura y no por la capacidad de autopolinización autónoma. En un estudio de limitación de polen en el desierto costero de la III Región de Chile, se encontró una alta proporción de plantas con capacidad de autogamia autónoma (González & Pérez 2010). Las zonas costeras de Chile, especialmente desde la IV hasta la I Región son áreas que típicamente están cubiertas por una neblina espesa que puede durar todo el día, condición que no es propicia para la actividad de la mayoría de los polinizadores. En cambio, el nivel de nubosidad es baja, y días con neblina son escasos, en la zona andina a la altitud de las poblaciones de *O. acaulis* estudiadas. El factor neblina podría explicar la adquisición de un menor nivel de hercogamia en las poblaciones costeras de *O. acaulis*, así permitiendo el aseguramiento reproductiva vía autogamia autónoma bajo condiciones que no son propicios para la polinización biótica. Por otra parte, la perturbación antrópica en los sitios costeros y una mayor fragmentación del hábitat podría ser un factor que estaría influyendo en el proceso reproductivo, produciendo un efecto

negativo en el tamaño de las poblaciones de polinizadores y en el despliegue floral (Moody-Weis y Heywood, 2001)

A nivel altitudinal existe una variación en las interacciones planta-insecto. Estas variaciones no solo afectan las relaciones de polinización, sino que también relaciones negativas para la planta como la herbivoría. Se plantea que a nivel general existe una disminución de la herbivoría a través de un gradiente altitudinal (Rasmann y col, 2013), patrón que se acentúa en la herbivoría generalista (Schneidel y col, 2003). Se ha planteado la existencia un efecto directo de la herbivoría sobre la estrategia reproductiva en plantas, donde se ha estudiado que existe un aumento en la tasa de *selfing* (Ivey y Carr, 2005), reducción en el tamaño floral (Steets y Ashman, 2004), disminución de la hercogamia (Kessler y Halitischke, 2009) aumento en el número de óvulos por flor (Jürgens y col, 2002; Kephart y col, 2006) y disminución de la polinización en plantas sometidas a una alta presión de herbivoría. Johnson y colaboradores (2009) demuestran que en el género *Oenothera*, especies con heterocigosidad translocacional permanente, como *O. acaulis*, son más susceptibles a la herbivoría que especies que no lo presentan.

Dado lo anterior, una explicación alternativa a las diferencias en el sistema de reproducción encontradas en *O. acaulis* en un gradiente altitudinal, como la variación en la tasa de autofertilización, el nivel de hercogamia y el número de óvulos, podría corresponder a efectos producto de la presión por herbivoría. Al respecto, en estudios realizados en *O. acaulis*, se encontró que gran parte de las visitas florales en poblaciones costeras correspondían a insectos florívoros

larcenistas (Campos.-Urrutia y col, 2010; Villagra, comunicación personal). Una investigación en desarrollo, encontró que existe una variación en la cantidad y largo de tricomas ubicados en los sépalos de *O. acaulis* entre poblaciones andinas y costeras, existiendo una mayor longitud y densidad a menores alturas (Galaz, 2014). La variación en la pubescencia en plantas puede asociarse a un tipo de adaptación de defensa mecánica contra herbívoros. Este tipo de mecanismo contra la herbivoría ya se ha reportado en otras especies como *Datura stramonium* (Solanaceae) (Valverde y col, 2001), *Brassica nigra* (Brassicaceae) (Traw y Dawson, 2002), *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae) (Wilkens y col, 1996). Estas observaciones respaldan la existencia de una mayor tasa de herbivoría y florivoría en poblaciones costeras. Además, de la presencia de cambios morfológicos asociados a la defensa contra herbívoros. Frente a este escenario, es posible plantearse la existencia de un efecto de la tasa de herbivoría sobre el sistema de reproducción de *O. acaulis*. Sin embargo, es necesario el desarrollo de nuevas investigaciones que puedan someter a prueba esta hipótesis.

CONCLUSIONES

- Existen diferencias en el sistema de reproducción de *O. acaulis* a nivel altitudinal, las cuales se expresan en un aumento en la tasa de autopolinización en poblaciones costeras asociado a una reducción en el nivel de hercogamia.
- El menor nivel de autogamia en poblaciones andinas podría estar explicada por un aumento en la riqueza y abundancia de polinizadores presentes en esa zona, en comparación con poblaciones costeras. Alternativamente la presión por herbivoría sería un factor que explicaría los cambios en las estrategias reproductivas observadas en *O. acaulis*, hipótesis que es necesaria evaluar a través de futuros estudios.

BIBLIOGRAFÍA

Alexandersson, R. y Johnson, S.D. 2002. Pollinator-mediated selection on flower-tube length in a hawkmoth-pollinated *Gladiolus* (Iridaceae). *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **269**: 631-636.

Arroyo, M.T.K., Primack, R. y Armesto, J.J. 1982. Community studies in pollination ecology in high temperate Andes of central Chile. I. Pollination mechanisms and altitudinal variation. *American Journal of Botany* **69**: 82 – 97.

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

Arroyo, M.T.K. y Squeo, F.A. 1990. Relationship between plant breeding systems and pollination. En S. Kawano(ed), *Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants*. Pp. 205-277. Academic Press. Londres.

Arroyo, M.T.K. 1999. Criterios e indicadores para la conservación de la biota en ecosistemas mediterráneos. *Revista Chilena de Historia Natural* **72**: 473-474.

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

Arroyo, M.T.K., Dudley, L.S., Jespersen, G., Pacheco, D.A. y Cavieres, L.A. 2013. Temperature-driven flower longevity in a high-alpine species of *Oxalis* influences reproductive assurance. *New Phytologist* **200**: 1260-1268.

Aarssen, L.W. 2000. Why are most selfers annuals? A new hypothesis for the fitness benefit of selfing. *Oikos* **89(3)**: 606-612.

- Artz, D.R., Villagra, C.A. y Raguso, R.A. 2010. Breeding system and spatiotemporal variation in the pollination biology of two subspecies of *Oenothera cespitosa* (Onagraceae). *American Journal of Botany* **97(9)**: 1–13.
- Barrett, S.C.H. 1996. The reproductive biology and genetics of island plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* **351**: 725-733.
- Barrett, S.C.H. 1998. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science* **3(9)**: 335-341.
- Barrett, S.C.H., Baker, A.M. y Jesson, L.K. 2000. Mating strategies in monocotyledons. En: K.L. Wilson y D. Morrison (eds.), *Systematics and Evolutions of Monocots*. pp 258-269. CSIRO Publishing, Melbourne.
- Barrett, S.C.H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* **358**: 991- 1004.
- Barrett, S.C.H. 2010. Understanding plant reproductive diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences* **365(1537)**: 99–109.
- Bell, G. 1985. On the function of flowers. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **224(1235)**: 223-265.
- Blionis, G.J. y Vokou, D. 2001. Pollination ecology of *Campanula* species on Mt Olympos, Greece. *Ecography* **24(3)**: 287-297.
- Bussell, J.B., Waycott, M., Chapill, J.A. y James, S.H. 2002. Molecular phylogenetic analysis of the evolution of complex of hybridity in *Isotoma petraea*. *Evolution* **56(6)**: 1296- 1302.
- Burd, M., Ashman, T., Campbell, D.R., Dudash, M.R., Johnston, M.O., Knight, T.M., Mazer, S.J., Mitchell, R.J., Steets, J.A. y Vamosi, J.C. 2009. Ovule number per flower in a world of unpredictable pollination. *American Journal of Botany* **96(6)**: 1159-1167.

- Campos-Urrutia, F., Domínguez, D., Torres-Araneda, A., Arroyo, M.T.K. y Villagra, C.A. 2010. Mecanismos de reproducción en *Oenothera acaulis* (Onagraceae): autopolinización y reproducción cruzada. X Congreso Latinoamericano de Botánico. La Serena, Chile.
- Carroll, A.B., Pallardy, S.G. y Galen, C. 2001. Drought stress, plant water status, and floral traits expression in fireweed *Epilobium angustifolium* (Onagraceae). *American Journal of Botany* **88**(3): 438- 446.
- Cavieres, L.A., Peñaloza, A. y Arroyo, M.T.K. 2000. Altitudinal vegetation belts in the high-Andes of Chile (33°S). *Revista Chilena de Historia Natural* **73**(2): 331-344.
- Charlesworth, D., y Charlesworth, B. 1979. The evolutionary genetics of sexual systems in flowering plants. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, **205**(1161): 513-530.
- Charlesworth, D. y Charlesworth, B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**: 237-268.
- Charlesworth, D., Vekemen, X., Castric, V. y Glémin, S. 2005. Plant self-incompatibility systems: a molecular evolutionary perspective. *New Phytologist* **168**: 61-69.
- Charnov, E.L. 1982. The theory of sex allocation. *Monographs in population biology*. **18**:1.
- Cruden, R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* **31**(1): 32-46.
- Cruden, R.W. y Jensen, K.G. 1979. Viscin threads, pollination efficiency and low pollen-ovule ratios. *American Journal of Botany* **66**(8): 875- 879.
- de la Bandera, M.C. y Traveset, A. Breeding system and spacial variation in the pollination biology of the heterocarpic *Thymelaea velutina* (Thymelaeaceae). *Plant Systematics and Evolution* **257**: 9-23.
- Di Castri y Hajek, E.R. 1975. *Bioclimatología de Chile*. Ediciones de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 170 pp.

Eckert, C.G., Kalisz, S., Geber, M.A., Sargent, R., Elle, E., Cheptou, P.O., Goodwillie, C., Johnston, M.O., Kelly, J.K., Moeller, D.A., Porcher, E., Ree, R.H., Vallejo-Marín, M. y Winn, A.A. 2009. Plant mating systems in a changing world. *Trends in Ecology and Evolution* **25(1)**: 35-43.

East, E.M. 1940. The distribution of self-sterility in the flowering plants. *Proceedings of the American Philosophical Society* **82**: 449- 518.

Etcheverry, A.V., Alemán, M.M. y Figueroa-Fleming, T. 2008. Flower morphology, pollination biology and mating system of the complex flower of *Vigna caracalla* (Fabaceae: Papilionoidae). *Annals of Botany* **102(3)**: 305-316.

Erikson, I. y Högstedt. 2004. Landslide hazard assessment and landslide precipitation relationship in Valparaíso, central Chile. Earth Sciences Centre, Gothenburg University, Suecia. 87pp.

Evans, M.E.K., Hearn, D.J., Hahn, W.J., Spangle, J.M. y Venable, D.L. 2005. Climate and life-history evolution in evening primroses (*Oenothera*, Onagraceae): A phylogenetic comparative analysis. *Evolution* **59(9)**: 1914-1927.

Evans, M.E.K., Hearn, D.J., Theiss, K.W., Cranston, K., Holsinger, K.E. y Donoghue, M.J. 2011. Extreme environments select for reproductive assurance: evidence from evening primroses (*Oenothera*). *New Phytologist* **191(2)**: 555- 563.

Fabbro, T. y Körner, C. 2004. Altitudinal differences in flower traits and reproductive allocation. *Flora- Morphology, Distribution, Functional Ecology of plants* **199(1)**: 70-81.

Flores, M.F. 2013. Detectando causas de asociación fenotipo-fitness en una especie autocompatible: selección, alometría y error estadístico tipo I. Tesis de Magister, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago. 63 pp.

González, A. y Pérez, M.F. 2010. Pollen limitation and reproductive assurance in the flora of the Coastal Atacama Desert. *International Journal of Plant Sciences* **171**: 607-614.

Goodwillie, C., Kalisz, S. y Eckert, C.G. 2005. The evolutionary enigma of mixed mating system in plants: Occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **36**: 47-79.

Goodwillie, C., Sargent, R.D., Eckert, C.G., Elle, E., Geber, M.A., Johnston, M.O., Kalisz, S., Moeller, D.A., Ree, R.H., Vallejo-Marín, M. y Winn, A.A. 2010. Correlated evolution of mating system and floral display traits in flowering plants and its implications for the distribution of mating system variation. *New Phytologist* **185**: 311-321.

Grant, V. 1989. *Especiación vegetal*. 587 pp. Editorial Limus, México.

Gulías, J y Traveset, A. 2011. Altitudinal variation in the reproductive performance of the Mediterranean shrub *Rhamnus lycioides* L. *Journal of Plant Ecology* **5(3)**: 330-336

Herlihy, C.R. y Eckert, C.G. 2004. Experimental dissection of inbreeding and its adaptative significance in a flowering plant, *Aquilegia Canadensis* (Ranunculaceae). *Evolution* **58(12)**: 2693- 2703.

Jacquemyn, H., Micheneu, C., Roberts, D.L. y Pailier, T. 2005. Elevational gradients of species diversity, breeding system and floral traits of orchid species on Reunion Island. *Journal of Biogeography* **32(10)**: 1751-1761.

Johnson, M.T.J., Smith, S.D. y Rausher, M.D. 2009. Plant sex and evolution of plant defenses against herbivores. *Proceedings of the National Academy of Science* **106(43)**: 18079-18084.

Jürgens, A., Witt, T. y Gottsberger, G. 2002. Pollen grain numbers, ovule numbers and pollen-ovule ratios in Caryophylloideae: correlation with breeding system, pollination, life form, style number, and sexual system. *Sexual Plant Reproduction* **14(5)**: 279- 289.

Kalisz, S. y Vogler, D.W. 2003. Benefits of autonomous selfing under unpredictable pollinators environments. *Ecology* **84(11)**: 2928-2942.

Kephart, S., Reynolds, R.J., Rutter, M.T., Fenster, C.B. y Dudash, M.R. 2006. Pollination and seed predation by moths on *Silene* and allied Caryophyllaceae:

evaluating a model system to study the evolution of mutualisms. *New Phytologist* **169(4)**: 667-680.

Kessler, A. y Halitschke, R. 2009. Testing the potential for conflicting selection on floral chemical traits by pollinators and herbivores: predictions and case study. *Functional Ecology* **23(5)**: 901-912.

Krakos, K.N. 2011. The evolution and reproductive ecology of *Oenothera* (Onagraceae). PhD dissertation Graduate School of Arts and Sciences of Washington University, St Louis, Missouri.

Levin, D.A. 2002. The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford University Press. Nueva York. 86-97 pp.

Lloyd, D.G. 1979. Some reproductive factors affecting selection of self-fertilization in plants. *American Naturalist* **113(1)**: 67-79.

Lloyd, D.G. 1992. Self and cross- fertilization in plants II. The selection of self-fertilization. *International Journal of Plant Sciences* **153(3)**: 370-380.

Lloyd, D.G. y Schoen, D.J. 1992. Self- and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences* **153(3)**: 358-369.

Moeller, D.A. 2006. Geographic structure of pollinator communities, reproductive assurance, and the evolution of self-pollination. *Ecology* **87(6)**: 1510-1522.

Moeller, D.A., Geber, M.A., Eckhart, V.M. y Tiffin, P. 2012. Reduced pollinator service and the elevated pollen limitation at the geographic range limit of annual plant. *Ecology* **93(5)**: 1036-1048.

Molina-Montenegro, M.A. y Cavieres, L.A. 2006. Effect of density and flower size on the reproductive success of *Nothoscordum graminum* (Alliaceae). *Gayana Botánica* **63(1)**: 93-98.

Moody-Weis, J.M. y Heywood, J.S. 2001. Pollination limitation to reproductive success in the Missouri evening primrose, *Oenothera macrocarpa* (Onagraceae). *American Journal of Botany* **88(9)**: 1615- 1622.

- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B. y Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853-858.
- Navas, L. 1976. Flora de la cuenca de Santiago de Chile, Volumen 2. Editorial Andrés Bello, Santiago, Chile. 559 pp.
- Nilsson, L.A. 1988. The evolution of flowers with deep corolla tubes. *Nature* **334** (6178): 147-149.
- Olesen, J.M. y Jordano, P. 2002. Geographic patterns in plant-pollinator mutualistic networks. *Ecology* **83**(9): 2416- 2424.
- Pérez, F., Arroyo, M.T.K. y Armesto, J.J. 2009. Evolution of autonomous selfing accompanies increased specialization in the pollination system of *Schizanthus* (Solanales). *American Journal of Botany* **96**: 1168-1176.
- Raguso, R.A., Kelber, A., Pfaff, M., Levin, R.A. y McDade, L.A. 2007. Floral biology of North american *Oenothera* sect. *Lavauxia* (Onagraceae): Advertisements, rewards, and extreme variation in floral depth. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **91**(1): 236-257.
- Rasman, S., Pellissier, L., Defosse, E., Jactel, H. y Kunstler, G. 2013. Climate-driven change in plant-insect interactions along elevation gradients. *Functional Ecology* **28**: 46-54.
- Raven, P.H. 1979. A survey of reproductive biology in Onagraceae. *New Zealand Journal of Botany* **17**(4): 575- 593.
- Raven PH, Evert RF & Eichhorn, S.E. 2005. *Biology of Plants*. WH Freeman, Nueva York. 686 pp.
- Robledo- Amuncio, J.J. y Gil, L. 2004. Patterns of pollen dispersal in a small population of *Pinus sylvestris* L. revealed by total-exclusion paternity analysis. *Heredity* **94**(1): 13-22.
- Scheidel, U., Röhl, S. y Bruehlheide, H. 2003. Altitudinal gradients of generalist and specialist herbivory on three montane Asteraceae. *Acta Oecologica* **24**: 275-283.

- Schueller, K. 2004. Self-pollination in island and mainland populations of the introduced hummingbird-pollinated plant, *Nicotiana glauca* (Solanaceae). *American Journal of Botany* **91(5)**: 672-681.
- Siccard, A. y Lenhard, M. 2011. The selfing syndrome: a model for studying the genetic and evolutionary basis of morphological adaptation in plants. *Annals of Botany* **107**: 1433-1443.
- Snell, R. y Aarssen, L.W. 2005. Life history traits in selfing versus outcrossing annuals: exploring the time-limitation hypothesis of the fitness benefit of self-pollination. *BMC Ecology* **5**: 2.
- Stebbins, C.L. 1950. *Variation and Evolution in Plants*. Columbia University Press. Nueva York, Estados Unidos. 643 pp.
- Steets, J.A. y Asman, T. 2004. Herbivory alters the expression of a mixed-mating system. *American Journal of Botany* **91(7)**: 1046-1051..
- Takayama, S. y Isogai, A. 2005. Self-incompatibility in plants. *Annual Review of Plant Biology* **56**: 467-489.
- Theiss, K.E., Holsinger, K.E. y Evans, M.E.K. 2010. Breeding system variation in 10 evening primroses (*Oenothera* sections *Anogra* and *Kleina*; Onagraceae). *American Journal of Botany* **97(6)**: 1031- 1039.
- Traw, M.B. y Dawson, T.E. 2002. Differential induction of trichomes by three herbivores of black mustard. *Oecologia* **131**: 526- 532.
- Valverde, P.L., Fornoni, J. y Núñez-Farfán J. Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium*. *Journal of Evolutionary Biology* **14**: 424-432.
- Vergara, R.C., Torres-Araneda, A., Villagra, D.A., Raguso, R.A., Arroyo, M.T.K. y Villagra, C.A. 2011. Are eavesdroppers multimodal? Sensory exploitation of floral signals by a non-native cockroach *Blatta orientalis*. *Current Zoology* **57(2)**: 162-174.

Villagrán, C., Marticorena, C. y Armesto, J.J. 2007. Flora de las plantas vasculares de Zapallar: Revisión ampliada e ilustrada de la obra de Federico Johow. pp 294-295. Editorial Punta Ángeles/Fondo Editorial UMCE, Chile.

Wagner, W.L., Hoch, P.C. y Raven, P.H. 2007. Revised classification of the Onagraceae. *Systematic Botany Monographs* **83**: 1-240.

Wilkens, R.T., Shea, G.O., Halbreich, S. y Stamp, N.E. 1996. Resource availability and the trichome defenses of tomato plants. *Oecologia* **106**: 181-191.

Wirth, L.R., Graf, R., Gugerli, F., Landergott, U. y Holderegger, R. 2010. Lower selfing rate at higher altitudes in the alpine plant *Eritrichium nanum* (Boraginaceae). *American Journal of Botany* **97(5)**: 889-901.