

**Selección fenotípica sobre rasgos ecofisiológicos en la
especie invasora *Eschscholzia californica* Cham.
(Papaveraceae) en un gradiente altitudinal en Chile
central**

Tesis

**Entregada A La
Universidad De Chile
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar Al Grado De**

Magíster en Ciencias Biológicas

Facultad De Ciencias

Por

Nicolás Robinson Sáez Pinilla

Noviembre, 2018

Director de Tesis Dr. Ramiro Bustamante, Dra. Maureen Murúa

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGÍSTER

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

Nicolás Robinson Sáez Pinilla

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de tesis rendido el día 2 de octubre de 2018

Director de Tesis:

Dr. Ramiro Bustamante

.....

Co-directora de Tesis:

Dra. Maureen Murúa

.....

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dra. Alejandra González

.....

Dr. Gastón Carvallo

.....

Dedal de Oro

La hierba ingenua y rampante

Va caminando y sin miedo

Por cerros, calles y ruedos

Invade a sus habitantes

Con su amarillo radiante

Llama mucho la atención

Y le rompe el corazón

Saber que no es querida

Cuando supo que su vida

Llegó desde otra región.

- Ramiro O. Bustamante



Mi nombre es Nicolás Sáez, orgullosamente oriundo de la comuna de El Bosque donde nació, me crié y estudié. Baterista de una banda fallida de punk rock, corredor y ciclista frustrado, militante del Movimiento Político Socialismo y Libertad y licenciado en Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Durante mi paso por la PUC y al terminar mi licenciatura tuve la suerte de trabajar algunos años en el laboratorio de la Dra. Fernanda Pérez, en donde conocí a un gran grupo de investigadoras e investigadores, con quienes realicé mis primeras investigaciones en ecología vegetal. Actualmente, estoy finalizando el Magíster en Ciencias Biológicas en la Universidad de Chile, que comencé el año 2016, curso un Diplomado en Políticas Públicas en Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable, me desempeñé como técnico en el Laboratorio de Ecología Geográfica y formo parte de los miembros fundadores de la reciente ONG de educación ambiental Lamara.

Agradecimientos

Agradezco a mi madre por la paciencia y el apoyo en todo lo que he decidido realizar.

A mis tutores Dr. Ramiro Bustamante y Dra. Maureen Murúa y al Laboratorio de Ecología Geográfica, quienes me han guiado y acompañado durante este proceso y, por tanto, forman parte del resultado final.

A mis compañeras y compañeros del Laboratorio de Diversidad y Ecología Evolutiva en Plantas con quienes comencé en esto de la investigación, ayudándome a crecer científica y humanamente.

Al instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB)

Al proyecto FONDECYT regular N° 1140009

Índice de materias

Índice de materias.....	iv
Lista de tablas.....	v
Lista de figuras.....	vi
Lista de abreviaturas.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUCCION.....	1
MATERIALES Y METODOS.....	7
RESULTADOS.....	15
DISCUSION.....	23
CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFIA.....	29
ANEXOS.....	36

Lista de tablas

Tabla 1. Resumen de los caracteres de *E. californica* entre sitios en estudio. Los valores corresponden al promedio de cada rasgo y entre paréntesis se indica el error estándar. Diferencias significativas se indican con asterisco. • $p < 0,1$; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.
..... 15

Tabla 2. Análisis de covarianza del impacto de los caracteres sobre la medida de adecuación biológica femenina para *E. californica*. Se muestra grados de libertad (df), suma de cuadrados (SS) y valor de F. Valores significativos se indican con asterisco. • $P < 0,1$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.
..... 22

Lista de figuras

Figura 1. Diferenciales de selección a través del componente femenino de la adecuación biológica en *E. californica* para cinco rasgos en dos altitudes. Barras de error indican ± 1 error estándar obtenido mediante un Bootstrap con 10000 repeticiones. **A** Diferenciales estandarizados de selección lineal (S'), **B** Diferenciales estandarizados de selección no lineal (C'). Se indica la significancia con un asterisco. • $p < 0.1$; * $p < 0,05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 18

Figura 2. Gradientes de selección a través del componente femenino de la adecuación biológica en *E. californica* para cinco rasgos en dos altitudes. Barras de error indican ± 1 error estándar obtenido mediante un Bootstrap con 10000 repeticiones. **A** Gradientes estandarizados de selección lineal (β_i'), **B** Gradientes estandarizados de selección no lineal (γ_{ii}'). Se indica la significancia con un asterisco. • $p < 0.1$; * $p < 0,05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 19

Figura 3. Regresiones de spline cúbicos mostrando la relación entre rasgos que presentaron algún coeficiente no lineal de selección y la adecuación biológica relativa (Wrel) para el Sitio 1. Área sombreada representa el intervalo de confianza (95%), correspondiente a ± 1 error estándar. El intervalo de confianza se estimó mediante un Bootstrap de 5000 iteraciones. 20

Figura 4. Regresiones de spline cúbicos mostrando la relación entre rasgos que presentaron algún coeficiente no lineal de selección y la adecuación biológica relativa (Wrel) para el Sitio 2. Área sombreada representa el intervalo de confianza (95%), correspondiente a ± 1 error estándar. El intervalo de confianza se estimó mediante un Bootstrap de 5000 iteraciones. 21

El análisis de covarianza (ANCOVA) no muestra relación significativa del sitio con la relación entre

los rasgos estudiados y la adecuación biológica (Tabla 2). Dando cuenta que la altitud no tendría un efecto significativo en la relación entre cada rasgo y la adecuación biológica. 21

Lista de abreviaturas

SS: Tamaño de estomas

SD: Densidad estomática

LMA: Masa de hoja por área

g_{wmax} : Conductancia estomática máxima

W: Medida de la adecuación biológica individual

\bar{W} : Media de la adecuación biológica de una población

Wrel: Medida de fitness relativo

S': Diferencial de selección lineal estandarizado

C': Diferencial de selección no lineal estandarizado

β' : Gradiente de selección lineal estandarizado

γ_{ii}' : Gradiente de selección no lineal estandarizado

γ_{ij}' : Gradiente de selección correlacional estandarizado

L: Largo de estoma

I: Profundidad del poro estomático

a_{max} : Área máxima del poro estomático

RESUMEN

Diversos estudios han dado cuenta de la variación de una serie de rasgos que podrían permitir a las especies invasoras mejorar su desempeño en zonas de mayor altitud. Para esta variación se reconoce que la plasticidad fenotípica tendría gran relevancia. Sin embargo, recientemente se ha propuesto que la adaptación por selección natural podría ser tan importante como la plasticidad fenotípica, incluso más relevante para especies capaces de colonizar mayores altitudes, particularmente en los límites del rango altitudinal. En este trabajo se estudió el rol que podría tener la selección para la variación de rasgos ecofisiológicos en la planta invasora *Eschscholzia californica*, en un gradiente altitudinal. Se estudiaron dos sitios en la Cordillera de los Andes en Chile central, a 1180 (Sitio 1) y 2220 msnm (Sitio 2). Se observó mayor conductancia estomática máxima y densidad estomática, y menor tamaño de estomas a mayor altitud. En cuanto al análisis de selección fenotípica, la mayoría de los rasgos estudiados mostraron algún coeficiente de selección significativos en alguno de los sitios. Sin embargo, el análisis de covarianza sugiere que no habría un efecto del sitio sobre la relación entre los rasgos y la adecuación biológica. Por tanto, si bien ciertos rasgos estarían siendo blancos de selección estos no se verían afectados de manera significativa por el gradiente altitudinal en estudio. Estos resultados sugieren que la variación por selección en rasgos ecofisiológicos podría cumplir un rol en el proceso de invasión de *E. californica*. Este estudio representa un aporte a la comprensión del rol que podrían representar los caracteres ecofisiológicos y su potencial valor adaptativo para procesos de invasión de especies en Chile.

ABSTRACT

Several studies have reported the variation of a series of traits that could allow invasive species to improve their performance in higher altitude areas. For this variation it is recognized that the phenotypic plasticity would have great relevance. However, it has recently been proposed that adaptation by natural selection could be as important as phenotypic plasticity, even more relevant for species capable of colonizing higher altitudes, particularly in the altitudinal range limits. In this work we studied the role that selection could have for the variation of ecophysiological traits in the invasive plant *Eschscholzia californica*, in an altitudinal gradient. Two sites were studied in the Cordillera de los Andes in central Chile, at 1180 (Site 1) and 2220 masl (Site 2). Higher stomatal conductance and stomatal density and smaller stomatal size at higher altitude were observed. Regarding phenotypic selection analysis, most of the traits studied showed some significant coefficient of selection in some of the sites. However, the analysis of covariance suggests that there would be no effect of the site on the relationship between traits and biological fitness. Therefore, although certain traits would be targets of selection, these would not be significantly affected by the altitudinal gradient under study. These results suggest that variation by selection in ecophysiological traits could play a role in the invasion process of *E. californica*. This study represents a contribution to the understanding of the role that the ecophysiological characters could represent and their potential adaptive value for species invasion processes in Chile.

INTRODUCCION

Las invasiones biológicas representan una amenaza para la biodiversidad (Drake et al. 1989; Vitousek et al. 1996; Wilcove *et al.* 1998) y son consideradas como uno de los mayores componentes del cambio global (Sala *et al.* 2000). Por tanto, determinar qué factores podrían permitir y facilitar la colonización exitosa y posterior dispersión de plantas invasoras en nuevos hábitats constituye un foco central en ecología de invasiones.

Particularmente, los ecosistemas de montaña han sido considerados ambientes resistentes a la colonización de plantas exóticas, debido a que para ello deben establecerse bajo condiciones usualmente catalogadas como extremas: bajas temperaturas, alta radiación solar, fuertes vientos, substratos inestables, cortas épocas de crecimiento y reproducción (Billings y Mooney 1968; Körner 2003). Sin embargo, a nivel global, al año 2016 se habían registrado al menos 200 especies de plantas exóticas por sobre el límite arbóreo, dando cuenta que, si bien ciertos procesos y características de estos ambientes podrían dificultar la exitosa colonización de plantas invasoras, estas de igual forma serían capaces de establecerse en estos ambientes (Alexander et al. 2016).

En general, se reconoce que las condiciones climáticas pueden ejercer fuertes presiones selectivas sobre la historia de vida y fisiología de las plantas (Linhart y Grant 1996). Particularmente sobre gradientes altitudinales en hábitats a gran altitud, se ha observado convergencia de rasgos morfológicos y fisiológicos entre especies de plantas poco emparentadas, lo que sugiere que estos ambientes representarían presiones selectivas similares

(Clausen et al. 1940; Ackerly y Reich 1999; Swenson y Enquist 2007; Read *et al.* 2014). En cuanto a las especies de plantas invasoras, diversos estudios han observado variación en una serie de caracteres que les permitirían establecerse en zonas de mayor altitud (e.g., Alexander *et al.* 2009; Leger *et al.* 2009; Monty y Mahy 2009). Por ejemplo, Alexander *et al.* (2009) en un estudio sobre ocho especies de herbáceas observaron que a mayor altitud los individuos presentan menor altura y menor número de flores, pero mayor tamaño de semillas. Además, plantean la necesidad de comenzar a evaluar los mecanismos detrás de estas variaciones en gradientes altitudinales.

Uno de los mecanismos frecuentemente invocado para explicar la variación fenotípica en especies de plantas invasoras es la plasticidad fenotípica (Richards *et al.* 2006; Davidson *et al.* 2011). Sin embargo, estudios recientes proponen que la selección natural también podría estar ejerciendo un efecto significativo en el éxito invasivo de estas especies (Buswell *et al.* 2011; Si *et al.* 2014; Oduor *et al.* 2016), particularmente en aquellas capaces de colonizar mayores altitudes (e.g., Monty y Mahy 2009), en especial en los límites del rango altitudinal (Haider *et al.* 2012). Becker et al. (2005) propone que esto podría explicarse en parte por la vía de introducción de las plantas exóticas hacia mayores altitudes, las que principalmente llegarían a estos ambientes desde zonas bajas del rango invadido, las que a su vez habrían sido transportadas desde zonas bajas del rango nativo, por tanto no poseerían “adaptaciones específicas” para enfrentar ambientes a mayor altitud.

Los gradientes altitudinales pueden representar fuertes restricciones fisiológicas para el establecimiento de especies exóticas hacia mayores altitudes. Es probable que los rasgos ecofisiológicos, aquellos asociados a la obtención y utilización de recursos, influyan en la adecuación biológica y, por tanto, experimenten evolución adaptativa (Ackerly et al. 2000).

Rasgos ecofisiológicos como la masa de hoja por área (LMA) y la conductancia estomática se ha visto varían sobre gradientes altitudinales. Körner *et al.* (1986) en un estudio sobre especies nativas pertenecientes a tres grupos funcionales de plantas, observaron que tanto la conductancia estomática máxima como la masa de hoja por área (LMA) incrementan con la altitud. Si bien estudios recientes proponen una serie de factores ambientales que podrían estar influenciando tanto al LMA (Wright *et al.* 2004; Poorter *et al.* 2009; Read *et al.* 2014), como rasgos estomáticos, entre ellos la conductancia estomática (Yang *et al.* 2014), existiría una tendencia de ambos a aumentar a mayor altitud.

Por un lado, la conductancia estomática constituye el principal control para el intercambio gaseoso, permitiendo optimizar la captación de carbono respecto a la pérdida de agua (Cowan 1977; Farquhar *et al.* 1980), con consecuencias directas para el metabolismo de la hoja y el balance energético (Schulze *et al.* 1994). A mayor altitud un aumento en la conductancia estomática implicaría una mayor capacidad fotosintética, lo cual podría favorecer individuos en ambientes con menor época de crecimiento y reproducción (Woodward 1986; Schulze *et al.* 1994). Por otra parte, la masa de hoja por área (LMA), que representa la relación entre el costo de biomasa invertida por unidad de área para intercepción de la luz (Gutschick y Wiegand 1988), ha sido identificado como un elemento clave dentro del “*leaf economics spectrum*” por su capacidad de reflejar la estrategia ecológica de una planta (Reich *et al.* 1999; Wright *et al.* 2004). Basándose en las predicciones de la teoría del “*leaf economics spectrum*”, particularmente en gradientes altitudinales, las condiciones ambientales extremas y menor disponibilidad de nutrientes a mayor altitud podrían promover especies tolerantes al estrés que tenderían a invertir más carbón por unidad de hoja (Körner *et al.* 1989; Körner 2012), favoreciéndose mayores valores de LMA. Por otro lado, factores climáticos como mayor radiación solar (Wright

et al. 2004) y menor temperatura media anual (Read *et al.* 2014) podrían favorecer mayores valores de LMA a mayor altitud. Por tanto, las condiciones hacia mayores altitudes podrían favorecer mayores valores tanto de LMA como de conductancia estomática.

Desafortunadamente, son escasos los estudios tendientes a detectar potenciales blancos de selección sobre caracteres ecofisiológicos (Arntz y Delph 2001; Buswell *et al.* 2011) y menos aún en especies invasoras. No obstante, quienes han indagado en ello han reportado cambios evolutivos en al menos un set de rasgos asociados a fisiología (e.g., Maron *et al.* 2007; Etterson *et al.* 2008; Buswell *et al.* 2011). Buswell *et al.* (2011) observó para ocho de 23 especies invasoras variaciones en caracteres como altura de la planta, LMA, área y forma de hoja, desde el momento de su introducción, sugiriendo que la rápida evolución en especies de plantas invasoras sería más común y de una magnitud mucho mayor de lo que se pensaba anteriormente.

En este trabajo se estudió a la especie *Eschscholzia californica* Cham. (Papaveraceae), una herbácea nativa de la costa oeste de Norteamérica, la cual ha invadido una serie de ambientes mediterráneos alrededor del mundo (Stebbins 1965), incluido Chile (Arroyo *et al.* 2000; Leger and Rice 2003). En los últimos años una serie de estudios han caracterizado la variación de rasgos morfológicos de esta especie en gradientes latitudinales (Frías *et al.* 1975; Leger y Rice 2007; Zamorano y Bustamante 2017) y altitudinales (Leger y Rice 2007; Castillo *et al.* 2013; Bustamante *et al.* 2018). Estos estudios han encontrado diferencias significativas para algunos rasgos a diferentes altitudes en Chile central, observándose menor número de flores, mayor número de hojas, mayor biomasa vegetativa y menor tamaño total de la planta a mayor altitud (Bustamante *et al.* 2018). Además, argumentan que, debido al alto costo en reproducción

a gran altitud, habría alcanzado su límite altitudinal y estaría bajo fuertes restricciones fisiológicas (Bustamante *et al.* 2018). Estos antecedentes hacen pensar que los rasgos fisiológicos podrían estar jugando un rol fundamental para el éxito invasivo de esta especie en estos ambientes extremos.

En este trabajo se evaluó el rol potencial de la selección fenotípica sobre diferentes rasgos ecofisiológicos en *Eschscholzia californica* en dos altitudes contrastantes en la Cordillera de los Andes, zona central de Chile. Todo esto bajo la hipótesis de que los individuos de *E. californica* que habitan a mayor altitud presentarían selección sobre mayores valores de *LMA* y *g_{wmax}*.

Hipótesis de trabajo

Es esperable que la variación en las condiciones climáticas presentes a lo largo de un gradiente altitudinal, caracterizado por menor temperatura, mayor radiación solar y menor época de crecimiento hacia mayores altitudes, genere presiones selectivas diferenciales que conduzcan a regímenes selectivos diferentes sobre los caracteres fisiológicos de *Eschscholzia californica*.

Particularmente, dado que el valor de LMA varía positivamente con la radiación solar y negativamente con la temperatura media anual, es esperable que a mayor altitud se observe selección fenotípica actuando sobre individuos que presenten mayores valores de LMA.

Por otro lado, debido a que la conductancia estomática máxima (g_{wmax}) permite una mayor capacidad fotosintética y, por tanto, mejorar el desempeño durante una menor época de crecimiento, es esperable que a mayor altitud se observe selección fenotípica actuando sobre individuos que presenten mayores valores de g_{wmax} .

Objetivos

Objetivo general

- I. Determinar el rol potencial de la selección fenotípica sobre diferentes caracteres fisiológicos en *Eschscholzia californica* en un gradiente altitudinal.

Objetivos específicos

- I. Caracterizar la variabilidad de los rasgos fisiológicos a dos altitudes.
- II. Cuantificar el éxito reproductivo de las plantas a dos altitudes.
- III. Estimar los coeficientes de selección fenotípica en rasgos fisiológicos a dos altitudes.

MATERIALES Y METODOS

Sitio de estudio

Este estudio se realizó en el gradiente altitudinal que va desde Santiago hacia la localidad de Farellones, Cordillera de los Andes de Chile central. Se seleccionaron dos sitios a dos altitudes diferentes. Este gradiente altitudinal presenta una pendiente empinada con una tasa de enfriamiento adiabático de $6^{\circ} \text{C Km}^{-1}$ (Cavieres y Arroyo 1999). En cuanto a la vegetación, esta se encuentra dominada por *Acacia caven*, *Baccharis linearis*, *Colliguaja odorifera* (1000 a 1500 m) y *Kagenekia oblonga* (2000 m) (Bustamante *et al.* 2018). El Sitio 1 ($33^{\circ}22'11.61''\text{S}$; $70^{\circ}23'55.83''\text{O}$) ubicado a 1180 msnm, se caracteriza por una temperatura media anual de $10,4^{\circ}\text{C}$ y precipitación media anual de 510 mm. Mientras que, el Sitio 2 ($33^{\circ}21'28.76''\text{S}$; $70^{\circ}19'29.27''\text{O}$) ubicado a 2220 msnm, presenta una temperatura media anual de $8,5^{\circ}\text{C}$ y precipitación media anual de 495 mm (Peña-Gómez y Bustamante 2012). La obtención de datos se llevó a cabo durante el verano de 2017. Se seleccionaron de manera aleatoria 87 plantas en el Sitio 1 y 78 en el Sitio 2, a las cuales se les cuantificó diferentes caracteres morfológicos y fisiológicos, así como el número de semillas para estimar la adecuación biológica.

Modelo de estudio

Para este estudio se seleccionó la planta *Eschscholzia californica* (Cham.) Papaveraceae, una hierba perenne, auto-incompatible y con polinización mediada por insectos de diferentes órdenes y por viento (Cook 1962; Nakamura 1994). Las flores carecen de néctar y presentan una corola de 16 a 76 mm de diámetro, con un estilo filiforme y numerosos estambres, las cuales se

cierran durante la noche y en días nublados o con lluvia (Villagrán et al. 2007). Su fruto es una vaina con dehiscencia explosiva, generando una dispersión balística de sus semillas de hasta máximo 2 m de distancia desde la planta. Es una de las pocas especies de plantas vasculares (Baskin and Baskin 2014) que posee semillas con fotoblastismo negativo (Goldthwaite *et al.* 1971; Castillo *et al.* 2013). Ha sido descrita como invasora en una serie de ambientes Mediterráneos (Stebbins 1965; Cook 1962; Arroyo et al. 2000; Leger and Rice 2003), entre ellos Chile, donde su introducción data de principios del siglo XIX al interior de jardines botánicos para luego establecerse principalmente en ambientes abiertos y perturbados (Cook 1962; Frías *et al.* 1975). En su rango nativo esta especie se desarrolla desde los 0 a los 2000 msnm. Probablemente su capacidad para desarrollarse sobre diferentes tipos de suelo (Cook 1965) y colonizar diversas condiciones ambientales (Leger and Rice 2007), le ha permitido extenderse en Chile sobre un amplio rango de distribución, entre las latitudes 30° y 38° S y desde los 0 a los 2200 msnm (Arroyo et al. 2000; Peña-Gómez y Bustamante 2012). Estudios recientes indican que presenta la potencialidad de expandir aún más su rango de distribución (Peña-Gómez *et al.* 2014), aunque en Chile central estaría en un equilibrio demográfico en su límite altitudinal (Peña-Gómez y Bustamante 2012).

En Chile, esta especie ha sido ampliamente estudiada (Frías *et al.* 1975; Leger and Rice 2003, 2007; Leger y Forister 2005; Peña-Gómez y Bustamante 2012; Castillo *et al.* 2013; Peña-Gómez *et al.* 2014; Anic *et al.* 2015; de Armas-Ricard *et al.* 2016; Zamorano y Bustamante 2017; Bustamante *et al.* 2018). Los individuos de *E. californica* presentan semillas de entre 1.4 y 1.8 mg, produciendo entre 25 y 107 semillas por fruto (Zamorano y Bustamante 2017). Particularmente sobre gradientes altitudinales, se ha observado variación en diversos rasgos. Se ha visto que a mayor altitud, entre 1000 y 2000 msnm, los individuos presentan menor altura y

número de flores, mayor número de hojas y mayor biomasa floral y vegetativa (Bustamante et al. 2018). Por otro lado, los resultados de un estudio sobre la diversidad y estructura genética en poblaciones a lo largo de gradientes altitudinales en Chile central, sugiere que no habría limitación a la dispersión a grandes altitudes (Bustamante *et al.* 2018). En cuanto a estudios que comparan rangos nativos e invadidos, se ha observado que individuos introducidos en Chile presentan un mayor tamaño y fecundidad que aquellos presentes en poblaciones nativas, lo cual podría estar explicado por la liberación de competencia en el lugar de introducción (Leger y Rice 2003). Además, Leger y Rice (2007) al comparar rasgos de poblaciones del rango nativo e introducido con gradientes climáticos, concluyen que algunos rasgos morfológicos, reproductivos y fenológicos serían adaptativos y habrían evolucionado desde la introducción de esta especie al país.

Medición de rasgos fisiológicos

Se cuantificó un conjunto de caracteres asociados a la fisiología de la planta; masa de hoja por área (LMA), densidad (SD) y tamaño (SS) de estomas y conductancia estomática máxima (g_{wmax}). Adicionalmente, para cada individuo se estimó el *output* reproductivo corregido por la biomasa vegetativa como componente femenino de la adecuación biológica.

Para estimar la masa de hoja por área (LMA), *in situ* se fotografiaron dos hojas recién colectadas por individuo, a las cuales luego se les calculó el área mediante el software ImageJ (disponible en <https://imagej.nih.gov/ij/>). Posteriormente, las hojas colectadas fueron secadas en estufa a 70°C por 72 horas hasta peso constante para el cálculo de la biomasa (g). Finalmente, el LMA se calculó como la razón entre el peso seco de la hoja (g) y el área de hoja fresca (m²).

Para estimar los rasgos estomáticos por individuo, se colectaron seis hojas por planta, tres para determinar el número de estomas de la cara adaxial y tres para la cara abaxial. A cada hoja se le aplicó una capa de esmalte de uña (Hilu y Randall 1984), sobre la cara abaxial o adaxial. Luego, el esmalte se retiró con un trozo de cinta adhesiva, se colocó sobre un portaobjeto y se observó mediante un microscopio Carl Zeiss modelo AXIO Lab.A1 con un aumento de 400x, para luego tomar fotos de dos campos visuales con una cámara digital Nikon Rebel EOS T3 con objetivo zoom EF-S 18-55mm f/3.5-5.6 III acoplada al microscopio. En caso de no poder obtener imágenes de una de las hojas, se sacaron tres fotos por cada una de las otras dos, para finalmente, en cualquiera de los dos casos, obtener seis campos visuales por individuo. Para medir el número de estomas y su largo (L) se usó el software ImageJ (disponible en <https://imagej.nih.gov/ij/>). La densidad estomática (SD) se calculó como el número de estomas por mm² y el tamaño de los estomas (SS) en μm² con la ecuación $SS = 0,25 L^2$. La conductancia estomática máxima (g_{wmax}) en mol s⁻¹ m⁻² se estimó mediante la ecuación propuesta por Franks and Farquhar (2001) que relaciona la densidad estomática y la profundidad y tamaño de los estomas.

$$g_{wmax} = \frac{d}{v} \cdot SD \cdot a_{max} / \left(l + \frac{\pi}{2} \sqrt{a_{max}/\pi} \right)$$

, donde d corresponde a la difusividad del vapor de agua en el aire a 25°C (0,0000249 m² s⁻¹) y v corresponde al volumen molar del aire (0,0224 m³ mol⁻¹), ambos valores constantes. SD corresponde a la densidad estomática (m⁻²), a_{max} corresponde al área máxima del poro estomático (m²); calculado como $a_{max} = SS \cdot 0,4$ y l corresponde a la profundidad del poro (m); calculado como $l = 0,125 L$.

Finalmente se determinó el componente femenino de la adecuación biológica individual como el número promedio de semillas por individuo dividido por la biomasa vegetativa individual. Donde el número promedio de semillas se estimó como el promedio de semillas de entre 2 a 4 frutos multiplicado por el número total de frutos por planta.

Análisis estadísticos

Para evaluar si existían diferencias significativas para cada rasgo entre poblaciones se llevó a cabo una prueba de t para dos grupos independientes cuando los datos eran paramétricos o la prueba U de Mann-Whitney con corrección de continuidad cuando los datos no cumplían alguno de los supuestos de normalidad y/o homocedasticidad de varianza. Ambos análisis fueron realizados en el programa R v1.1.447 (RStudio Team 2016).

Análisis selección fenotípica

Una metodología ampliamente utilizada en estudios de selección fenotípica es la propuesta por Lande y Arnold (1983). Esta metodología se basa en regresiones múltiples del fitness relativo sobre los caracteres observados, lo cual permite analizar las fuerzas de selección sobre los rasgos, estimando el efecto de estos sobre el fitness de un individuo. Pese a la aparente simplicidad, la violación de algunos supuestos puede entorpecer y viciar de manera importante el análisis (Lande y Arnold 1983; Mitchell-Olds y Shaw 1987) y la interpretación de algunos coeficientes puede ser errada sin el uso de herramientas que permitan una representación gráfica de la relación entre el fenotipo y la adecuación biológica relativa (Schluter 1988). Morrissey y Sakrejda (2013) desarrollaron una nueva aproximación que permite calcular los coeficientes de selección

a partir de la caracterización de la función de fitness basada en un modelo aditivo generalizado (GAM).

Para determinar la magnitud, dirección y forma de la selección actuando sobre los rasgos asociados a fisiología, se estimaron los coeficientes de selección fenotípica mediante la aproximación desarrollada por Morrissey y Sakrejda (2013). Adicionalmente, para explorar la relación entre cada rasgo y la adecuación biológica relativa de la especie se construyeron gráficos de regresiones semi-paramétricas basadas en splines cúbicos utilizando la metodología planteada por Schluter (1988). Además, se estimó la oportunidad de selección para cada sitio como la varianza de la adecuación biológica relativa que representa el límite superior de la fuerza de selección (Brodie et al. 1995). Estos análisis se llevaron a cabo para cada sitio de manera independiente. El análisis incluyó los rasgos altura de la planta, SD abaxial y adaxial, LMA y g_{wmax} , los cuales fueron estandarizados (i.e., promedio = 0 y desviación estándar = 1), restando el promedio del rasgo a cada valor y dividiendo por la desviación estándar. Esto permite estimar los coeficientes de selección en unidades de desviación estándar, lo cual permite comparar la magnitud de la selección entre rasgos o entre poblaciones (Lande y Arnold 1983). Finalmente, los coeficientes de selección fueron calculados a partir de la adecuación biológica relativa (W_{rel}) calculada como la razón entre la adecuación biológica individual (W) y la media de la adecuación biológica de la población (\bar{W}). Siguiendo la propuesta de Moran (2003) todos los valores de P se reportan sin realizar ajuste de Bonferroni (e.g., Nguyen et al. 2016).

a) Diferenciales estandarizados de selección

Para determinar la selección total actuando sobre cada rasgo particular, en cada población, incluyendo selección directa (relación directa entre un rasgo y el fitness) e indirecta (cambio

resultante de correlaciones con otros rasgos que afectan el fitness), se estimaron los diferenciales de selección. La estimación del diferencial estandarizado de selección lineal (S') y no lineal (C') se realizó mediante la función *moments.differentials()* del paquete de R “*gsg*” (Morrissey and Sakrejda 2013). Esta función permite calcular los diferenciales estandarizados directamente de las diferencias en los momentos fenotípicos, antes y después de la selección. El cálculo se basa en la diferencia entre los momentos ponderados por el fitness (medias, varianzas, covarianzas) de la distribución fenotípica y los momentos no ponderados.

b) Gradientes estandarizados de selección

Para describir la fuerza directa de la selección actuando sobre un rasgo, excluyendo la selección indirecta, se cuantificaron los gradientes de selección para cada población. La estimación de los gradientes de selección lineal (β_i), no lineal (γ_{ii}) y correlacional (γ_{ij}) se realizó mediante la función *gam.gradients()* del paquete de R “*gsg*” (Morrissey y Sakrejda 2013). Esta función permite calcular los gradientes estandarizados de selección lineal (β_i) y no lineal (γ_{ii}), como la primera y segunda derivada parcial, respectivamente, de la función de fitness obtenida desde un modelo aditivo generalizado (GAM). El gradiente correlacional (γ_{ij}) fue estimado a partir de la interacción de pares de rasgos con el fitness relativo. La función GAM de la cual se estiman los gradientes de selección se generó con una estructura de error de tipo *Gamma* y una función link de tipo “*log*”, además de un factor de “suavidad” (s) que permite generar una función suavizada. Los valores de significancia para los gradientes de selección fueron calculados mediante un Bootstrap de caso con 10.000 repeticiones. Al calcular los gradientes de selección desde un modelo aditivo generalizado (GAM), se “relajan” los supuestos de multicolinealidad y normalidad de los residuales del modelo, problemas ampliamente discutidos en la aproximación clásica de Lande y

Arnold (1983) y reconocidos tanto por sus autores como por trabajos posteriores (e.g., Mitchell-Olds y Shaw 1987).

c) Gráficos de función de fitness

Finalmente, para complementar la información que entregan los coeficientes de selección, se construyeron gráficos de regresiones semiparamétricas basadas en splines para poder examinar visualmente la relación entre cada rasgo y el fitness relativo. Estas funciones se extrajeron del modelo aditivo generalizado construido para la estimación de los gradientes de selección y se generaron mediante la función de R *plot.gam()* que permite graficar una función GAM.

Todas las estimaciones tanto de diferenciales como de gradientes de selección y gráficos de función fitness fueron realizados con el paquete “*gsg*” en el software R v1.1.447 (RStudio Team 2016).

d) ANCOVA

Finalmente, para determinar diferencias significativas en los coeficientes de selección entre sitios se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA). Para ello se utilizó el fitness relativo como variable respuesta, los caracteres como variables independientes y el sitio como covariable. Se incluyeron los rasgos que presentaron algún coeficiente de selección significativo en alguno de los sitios, incluyendo las relaciones lineales y no lineales y su respectiva interacción en el mismo modelo de ANCOVA.

RESULTADOS

Caracterización de la variabilidad de rasgos

Respecto a los rasgos estudiados, se observó que los individuos presentes en el Sitio 2, a mayor altitud, presentan de manera significativa un tamaño de estomas (SS) 12% menor en la cara abaxial ($W = 4828,5$ $p < 0,001$) y 17% menor en la cara adaxial ($W = 5506$ $p < 0,001$), una densidad estomática (SD) 22% mayor en la cara abaxial ($W = 1650,5$ $p < 0,001$) y 26% mayor en la cara adaxial ($t = -7,989$ $df = 167$ $p < 0,001$) y una conductancia estomática máxima (g_{wmax}) 16% mayor ($t = -6,682$ $df = 167$ $p < 0,001$) respecto a aquellos individuos presentes en el Sitio 1, a menor altitud. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas para el LMA ($W = 2952$ $p = 0,055$) entre sitios (Tabla 1; Anexo 1).

Tabla 1. Resumen de los caracteres de *E. californica* entre sitios en estudio. Los valores corresponden al promedio de cada rasgo y entre paréntesis se indica el error estándar. Diferencias significativas se indican con asterisco. • $p < 0,1$; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Rasgo	1180 msnm	2220 msnm
SS abaxial (μm^2) ***	136,1 (± 3)	120,3 ($\pm 2,5$)
SS adaxial (μm^2) ***	146,1 (± 3)	121,3 ($\pm 2,3$)
SD abaxial (estomas/ mm^2) ***	153,6 ($\pm 2,9$)	187,6 (± 4)
SD adaxial (estomas/ mm^2) ***	146,7 ($\pm 3,2$)	184,5 ($\pm 3,4$)
LMA (g/m^2) •	41,4 ($\pm 0,7$)	43,1 ($\pm 0,5$)
g_{wmax} ($\text{mol}/\text{s} \cdot \text{m}^2$) ***	1,92 ($\pm 0,02$)	2,22 ($\pm 0,03$)

Análisis de selección fenotípica

Se observó una oportunidad de selección 39% menor hacia mayor altitud. Mientras que en el Sitio 1, ubicado a 1180 msnm, esta fue de $0,498 \pm 0,037$, en el Sitio 2, ubicado a 2220 msnm, fue de $0,305 \pm 0,024$.

El análisis de selección fenotípica mostró coeficientes de selección significativos para todos los rasgos en al menos uno de los sitios (Figura 1 y 2). En el Sitio 1 se observaron coeficientes significativos sobre SD abaxial y g_{wmax} mientras que en el Sitio 2 se observaron sobre SD abaxial, SD adaxial, LMA y g_{wmax} . No se observaron gradientes de selección correlacional significativos sobre ninguno de los rasgos. Los valores de los coeficientes de selección, así como el error estándar y el valor de significancia asociado a cada uno de ellos se muestran en el Anexo 2 para cada uno de los sitios.

En cuanto a la densidad estomática (SD) se observaron coeficientes de selección significativos en ambos sitios. Para el Sitio 1, ubicado a 1180 msnm, se observó un gradiente no lineal significativo sobre SD abaxial ($\gamma_{ii}' = 0,0001$ $p = 0,0258$). Lo cual sugiere una selección directa de tipo disruptiva de baja intensidad actuando sobre este rasgo en la cara abaxial. Al observar la representación gráfica se observa mayor intensidad a menores valores del rasgo, pero con un gran intervalo de confianza, probablemente por la baja cantidad de datos extremos de la relación, luego hacia mayores valores se presenta un leve aumento de la adecuación biológica seguido de una disminución. Esto podría deberse a la baja intensidad del coeficiente de selección observado en el Sitio 1. Por otro lado, en el Sitio 2, ubicado a 2220 msnm, se observó para SD abaxial un diferencial no lineal ($C' = -0,1346$, $p = 0,0144$) y un gradiente de selección no lineal significativo ($\gamma_{ii}' = 0,0074$ $p = 0,0392$) y para SD adaxial solo un diferencial no lineal significativo

($C' = -0,1424$, $p = 0,0208$). Lo cual sugiere una selección directa de tipo estabilizadora actuando sobre este rasgo en ambas caras de la hoja y, además, una selección directa de tipo disruptiva de baja intensidad actuando sobre la cara abaxial, favoreciendo valores extremos del rasgo. Sin embargo, la representación gráfica muestra una mayor adecuación biológica para valores intermedios-bajos del rasgo, seguido de un suave descenso que se mantiene relativamente constante hacia mayores valores, en ambas caras (Figura 4A y B).

Por otro lado, para el rasgo LMA en el Sitio 1 se observó un diferencial de selección lineal ($S' = 0,133$, $p = 0,0484$) y un gradiente de selección no lineal significativos ($\gamma_{ii}' = 0,0188$, $p = 0,003$). Esto sugiere una selección total de tipo direccional positiva, favoreciendo mayores valores del rasgo y una selección directa de tipo disruptiva de menor intensidad. Al examinar la representación gráfica (Figura 3B), se observa de manera general una selección direccional positiva. Particularmente, desde menores hacia mayores valores del rasgo, primero un leve descenso en la adecuación biológica para luego ir aumentando paulatinamente. Mientras que en el Sitio 2 solo se observó un gradiente de selección no lineal significativo ($\gamma_{ii}' = 0,0012$, $p = 0,0102$). Por otro lado, para el Sitio 2 la representación gráfica no muestra una relación clara entre el rasgo y la adecuación biológica, la cual aumenta para valores bajos, intermedios y altos del rasgo (Figura 4C), lo cual podría explicar en parte la baja intensidad de la selección disruptiva que estaría actuando sobre este rasgo.

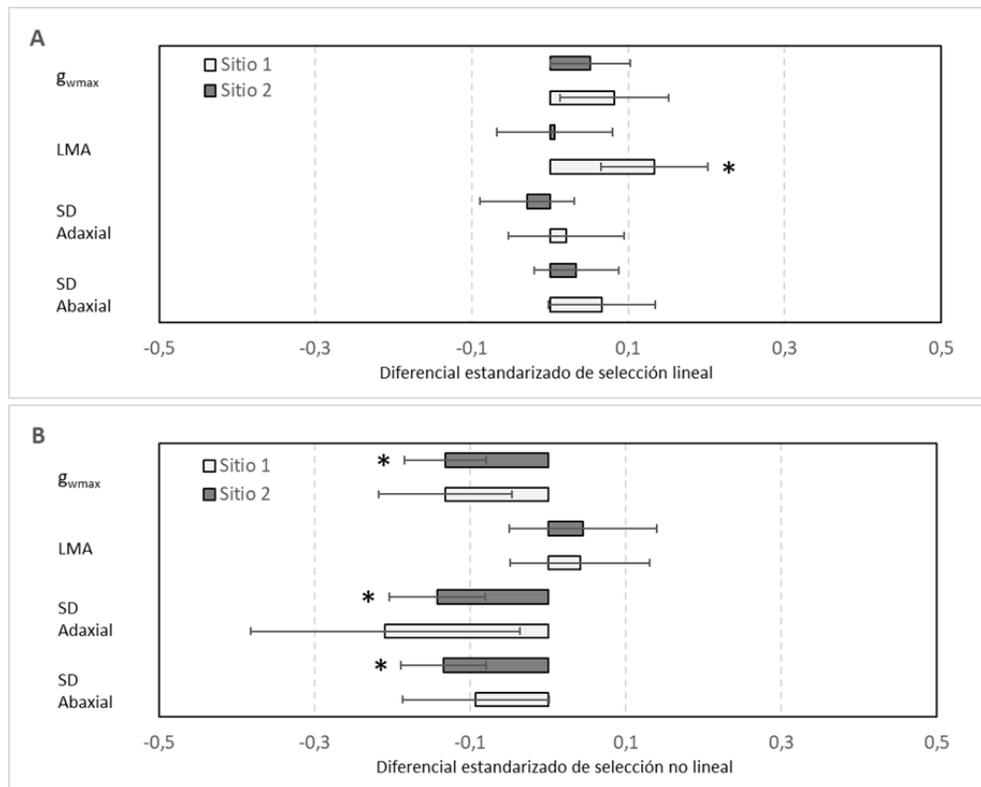


Figura 1. Diferenciales de selección a través del componente femenino de la adecuación biológica en *E. californica* para cinco rasgos en dos altitudes. Barras de error indican ± 1 error estándar obtenido mediante un Bootstrap con 10000 repeticiones. **A** Diferenciales estandarizados de selección lineal (S'), **B** Diferenciales estandarizados de selección no lineal (C'). Se indica la significancia con un asterisco. • $p < 0.1$; * $p < 0,05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

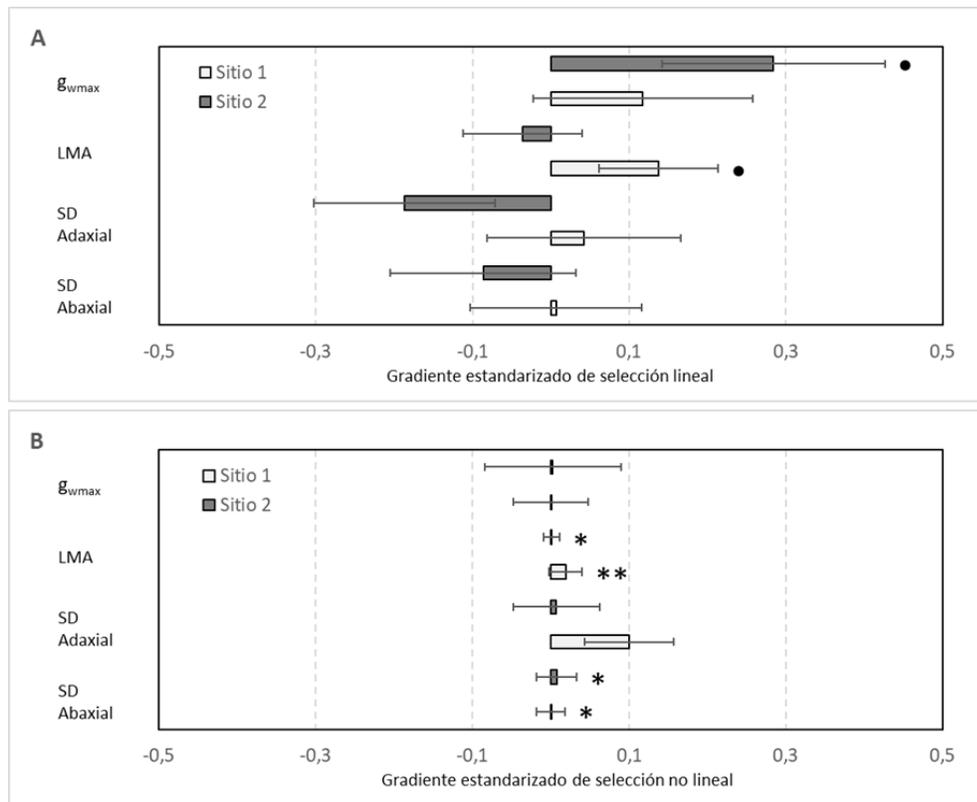


Figura 2. Gradientes de selección a través del componente femenino de la adecuación biológica en *E. californica* para cinco rasgos en dos altitudes. Barras de error indican ± 1 error estándar obtenido mediante un Bootstrap con 10000 repeticiones. **A** Gradientes estandarizados de selección lineal (β_i'), **B** Gradientes estandarizados de selección no lineal (γ_{ii}'). Se indica la significancia con un asterisco. • $p < 0.1$; * $p < 0,05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Para g_{wmax} en el Sitio 2 solo se observó un diferencial de selección no lineal ($C' = -0,1329$, $p = 0,0092$). Esto sugiere una selección total de tipo estabilizadora actuando sobre este rasgo en el Sitio 2, sin embargo, al observar la representación gráfica (Figura 4D) se observa una relación direccional positiva. Esto podría ser producto del gradiente lineal de selección que, si bien en el

análisis resultó marginalmente significativo ($y_{ii}' = 0,2843$, $p = 0,0542$), podría afectar de manera relevante la relación de este rasgo con la adecuación biológica.

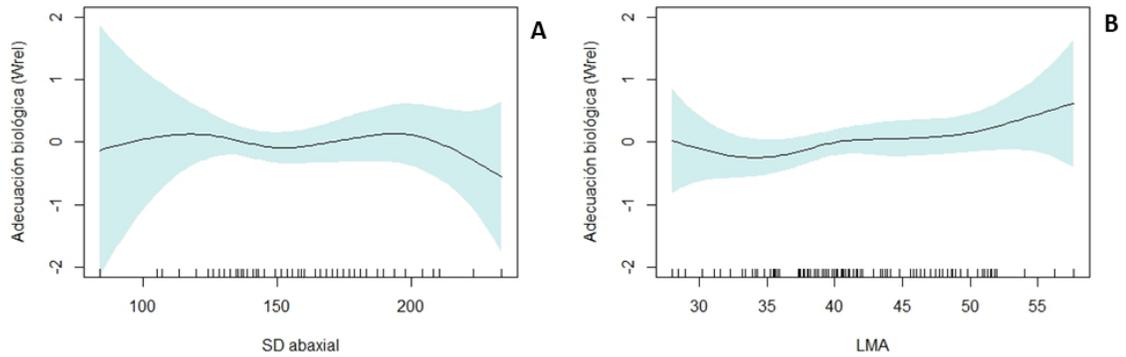


Figura 3. Regresiones de spline cúbicas mostrando la relación entre rasgos que presentaron algún coeficiente no lineal de selección y la adecuación biológica relativa (Wrel) para el Sitio 1. Área sombreada representa el intervalo de confianza (95%), correspondiente a ± 1 error estándar. El intervalo de confianza se estimó mediante un Bootstrap de 5000 iteraciones.

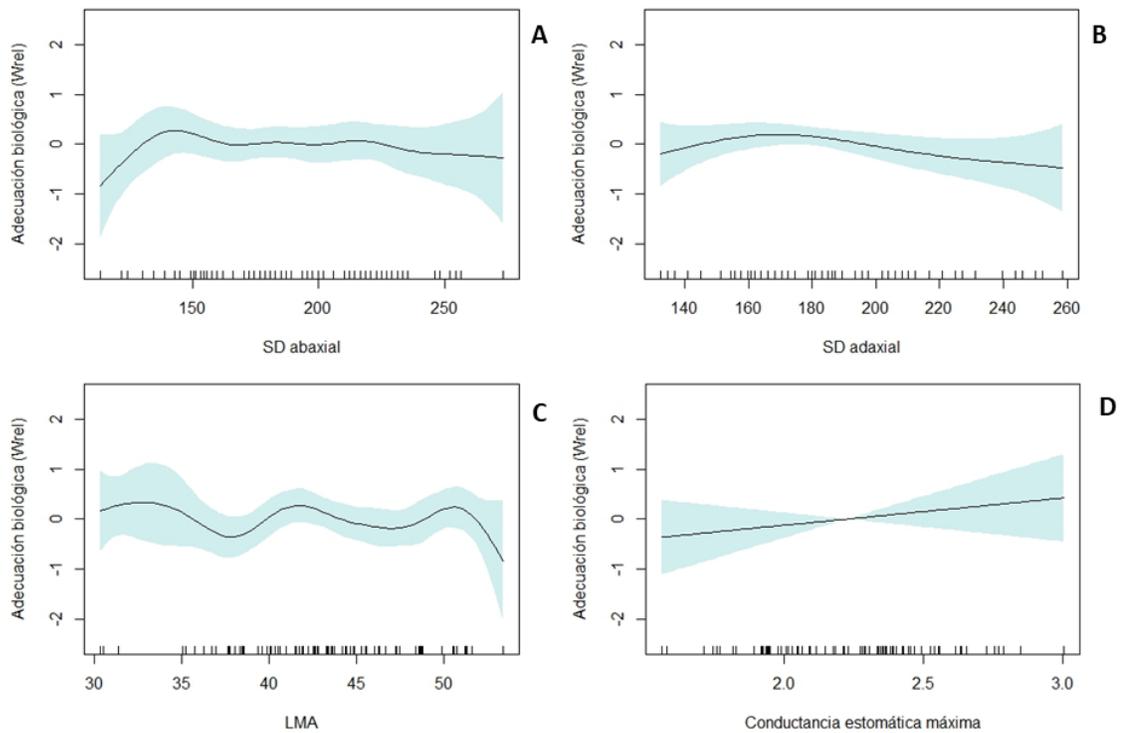


Figura 4. Regresiones de spline cúbicas mostrando la relación entre rasgos que presentaron algún coeficiente no lineal de selección y la adecuación biológica relativa (Wrel) para el Sitio 2. Área sombreada representa el intervalo de confianza (95%), correspondiente a ± 1 error estándar. El intervalo de confianza se estimó mediante un Bootstrap de 5000 iteraciones.

El análisis de covarianza (ANCOVA) no mostró una relación significativa del sitio con la relación entre los rasgos estudiados y la adecuación biológica (Tabla 2). Dando cuenta que la altitud no tendría un efecto significativo en la relación entre cada rasgo y la adecuación biológica de *E. californica*.

Tabla 2. Análisis de covarianza del impacto de los caracteres sobre la medida de adecuación biológica femenina para *E. californica*. Se muestra grados de libertad (df), suma de cuadrados (SS) y valor de F. Valores significativos se indican con asterisco. • P < 0,1, * P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001.

Fuente	df	SS	F
Sitio	1	15641	0,796
LMA	1	49573	2,524
g_{wmax}	1	18868	0,961
SD Abaxial ²	1	1693	0,086
SD Adaxial ²	1	90211	4,594 *
LMA ²	1	4649	0,237
g_{wmax}^2	1	38153	1,943
Sitio:LMA	1	198	0,01
Sitio: g_{wmax}	1	270	0,014
Sitio:SD Abaxial ²	1	4720	0,240
Sitio:SD Adaxial ²	1	991	0,05
Sitio:LMA ²	1	28536	1,453
Sitio: g_{wmax}^2	1	37236	1,896
Error	153		

DISCUSION

El objetivo de este estudio fue evaluar el rol de la selección sobre rasgos ecofisiológicos en la especie invasora *Eschscholzia californica*. Para esto se estudiaron dos poblaciones ubicadas a 1180 (Sitio 1) y 2220 msnm (Sitio 2). Se compararon rasgos ecofisiológicos de la planta entre sitios y posteriormente sobre cada uno de los sitios se llevó a cabo un análisis de selección fenotípica, estudiando la magnitud, dirección y forma de la selección actuando sobre cada uno de los caracteres.

Los resultados muestran diferencias significativas entre sitios en el valor promedio para la mayoría de los rasgos estudiados (Tabla 1). Se observó a mayor altitud mayor densidad estomática (SD) y conductancia estomática máxima (g_{wmax}) y menor tamaño de estomas (SS), mientras que para el LMA no se observaron diferencias.

En términos generales se reconoce que los gradientes altitudinales serían relevantes para la variación de rasgos estomáticos (Körner 2003; Hovenden y Vander Schoor 2006). Probablemente mayor SD a mayor altitud podría deberse a una menor restricción estomática a la pérdida de vapor (Körner *et al.* 1989). Sin embargo, estas diferencias podrían explicarse por uno o más factores no excluyentes (Beerling and Kelly 1996) tales como, temperatura, radiación solar (Yang *et al.* 2014) o concentración de CO₂ (Kouwenberg *et al.* 2007). Adicionalmente, debido a que se ha observado menor variabilidad intraespecífica para SS que para SD, junto a una mayor respuesta de SD frente a factores abióticos (Kumekawa *et al.* 2013; Bucher *et al.* 2016;

Römermann *et al.* 2016), la disminución de SS hacia mayor altitud, podría ser consecuencia del aumento en SD, producto del trade-off entre ambos (Hetherington and Woodward 2003).

El promedio mayor de g_{wmax} observado en el Sitio 2, a mayor altitud, resulta consistente con estudios anteriores (Woodward 1986). Mayores valores de g_{wmax} podrían tener relación con estrategias de historia de vida en donde especies que necesiten realizar su ciclo de vida durante una menor época de crecimiento a mayor altitud aumentarían la conductancia estomática, rasgo que se ha asociado a una mayor capacidad fotosintética (Woodward 1986; Schulze *et al.* 1994).

En cuanto al análisis de selección fenotípica, se destacan dos resultados. Primero, la mayoría de los rasgos analizados mostraron algún coeficiente de selección significativo en alguno de los sitios (Figura 1 y 2). Segundo, el análisis de covarianza (ANCOVA) sugiere que no habría un efecto del sitio sobre la relación entre los rasgos y la adecuación biológica. Por tanto, si bien se sugiere que ciertos rasgos serían blancos de selección, estos no se verían afectados de manera significativa por el gradiente altitudinal en estudio.

De manera general, en el Sitio 1 se observó selección direccional positiva actuando sobre LMA, por tanto, a mayores valores del rasgo los individuos presentarían una mayor adecuación biológica. En el Sitio 2 la selección que estaría actuando es de tipo estabilizadora sobre SD y de tipo estabilizadora y direccional positiva sobre g_{wmax} . Esto sugiere selección sobre valores intermedios de SD y valores altos de g_{wmax} .

De manera mas detallada, se ha visto que el LMA varia con una serie de factores climáticos. Mayores valores de LMA se han asociado a mayor radiación solar (Wright *et al.* 2004), mayor concentración de CO₂, menor disponibilidad de agua y menor temperatura (Poorter *et al.*

2009). Debido a que radiación solar y temperatura debiesen favorecer mayores valores de LMA principalmente en el Sitio 2, donde la selección es de muy baja intensidad en comparación al Sitio 1, es probable que factores como disponibilidad de agua y concentración de CO₂ estén afectando en mayor medida a este rasgo en *E. californica*.

Por otro lado, en el Sitio 2, a mayor altitud, se observó de manera general selección estabilizadora sobre SD en ambas caras de la hoja y selección estabilizadora y direccional positiva sobre g_{wmax} . Favoreciendo así, valores intermedios de SD y principalmente valores mayores de g_{wmax} . Sobre gradientes altitudinales se ha visto que factores como la temperatura, la presión de CO₂ y la radiación solar afectan la SD (Yang et al. 2014). A mayor altitud mientras una menor presión de CO₂ favorecerían una mayor SD, mayor radiación solar y menor temperatura favorecerían una disminución de este rasgo. Es probable que la selección estabilizadora sobre SD a mayor altitud este condicionada por estos factores ambientales. Por otro lado, cabe recordar que g_{wmax} , fue estimada a partir de la densidad de estomas y la profundidad y área del poro (Franks and Farquhar 2001), por tanto integra los rasgos SD y SS, donde mayor SD y/o menor SS conlleva una mayor g_{wmax} . De esta forma, este rasgo también podría verse afectado por los factores climáticos mencionados anteriormente. Finalmente, se ha observado una relación negativa entre LMA y fotosíntesis neta (Reich et al. 1997). Por tanto, en el Sitio 2, ubicado a mayor altitud, donde las condiciones ambientales podrían estar favoreciendo principalmente mayores valores de g_{wmax} , favoreciendo mayores tasas fotosintéticas (Woodward et al. 1987) los individuos presentarían valores menores de LMA o este rasgo no sería relevante bajo esas condiciones y, por tanto, no afectaría a la adecuación biológica de manera significativa.

Finalmente, si bien de baja intensidad, se detectó selección directa actuando sobre SD abaxial y no sobre SD adaxial en ambos sitios. Esto podría indicar que la selección tendría la potencialidad de actuar de manera diferencial sobre rasgos estomáticos según la cara de la hoja (e.g., Körner *et al.* 1989; Woodward 1986; Bucher *et al.* 2017).

La menor oportunidad de selección observada en el Sitio 2, a mayor altitud, podría ser producto de una colonización que ocurrió de manera direccional desde zonas bajas hacia zonas altas, como en el esquema propuesto por Becker *et al.* (2005). También podría deberse en parte a un “filtrado ecológico direccional” (Alexander *et al.* 2011) a través del gradiente altitudinal, producto de este modo de colonización a través del gradiente. Pese a este contexto, fue posible observar más potenciales blancos de selección a mayor altitud, concluyendo que el descenso en la oportunidad de selección observada en el sitio a mayor altitud no estaría limitando en gran medida la potencial selección sobre estos rasgos. Además, un estudio anterior observó que la diversidad genética de *E. californica* a lo largo del gradiente altitudinal estudiado se mantiene relativamente constante (Bustamante *et al.* 2018), lo cual favorecería la variabilidad a través del gradiente, y la oportunidad de selección sobre este.

Esta investigación representa una de las primeras aproximaciones al estudio de la selección fenotípica actuando sobre caracteres asociados a fisiología de una especie de gran invasividad en nuestro país. Lamentablemente, en esta oportunidad ha sido posible muestrear en solo dos puntos del gradiente altitudinal y durante solo un año, lo cual genera ciertas restricciones para predecir el futuro de estas poblaciones en cuanto a los patrones de selección observados, como la detección de selección correlacional, que podría responder a dinámicas selectivas interanuales (Benitez-Vieyra *et al.* 2012). Adicionalmente, es posible que la ausencia

de otros caracteres relevantes para la fisiología de la planta (e.g., uso eficiente del agua (WUE), tasa fotosintética, entre otros) o fuertemente correlacionados con los incluidos (Westoby 1998; Arntz y Delph 2001; Wright et al. 2004) haya impedido la detección de más blancos selectivos. Futuros estudios debiesen incorporar mayor número de poblaciones que caractericen de manera más acuciosa el gradiente altitudinal, así como también otros caracteres que pudiesen estar favoreciendo la invasibilidad de *E. californica* en los ambientes naturales.

CONCLUSIONES

A pesar de que este estudio se llevó a cabo durante solo un año, sin capturar los posibles cambios en las dinámicas de selección interanuales, el análisis de selección fenotípica nos sugiere blancos de selección sobre *Eschscholzia californica* sobre este gradiente altitudinal. Sin embargo, el análisis de covarianza nos indica que no habría un efecto del sitio sobre la relación entre los rasgos y la adecuación biológica, por lo que no podríamos hablar de regímenes selectivos diferenciales entre los 1180 y 2220 msnm, rechazando nuestra hipótesis inicial.

Por otro lado, si bien se observó variación significativa en SD, SS y g_{wmax} entre sitios, la selección estaría actuando sobre LMA a menor altitud y, principalmente, sobre SD y g_{wmax} a mayor altitud. Además, la dirección de la selección sería lineal positiva solo para LMA y g_{wmax} , en el Sitio 1 y 2, respectivamente, y no a mayor altitud para ambos como se planteó en la hipótesis inicial.

Son escasos los trabajos que han estudiado la variación producto de selección en rasgos ecofisiológicos en especies invasoras, más aún sobre gradientes altitudinales. Este estudio es un aporte para la comprensión sobre la relevancia que podrían presentar estos caracteres y su potencial valor adaptativo para procesos de invasión de *E. californica* en gradientes altitudinales.

BIBLIOGRAFIA

Ackerly DD, Reich PB. 1999. Convergence and correlations among leaf size and function in seed plants: a comparative test using independent contrasts. *American Journal of Botany* **86**: 1272–1281.

Alexander JM, Edwards PJ, Poll M, Parks CG, Dietz H. 2009. Establishment of parallel altitudinal clines in traits of native and introduced forbs. *Ecology* **90**: 612–622.

Alexander JM, Kueffer C, Daehler CC, et al. 2011. Assembly of nonnative floras along elevational gradients explained by directional ecological filtering. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**: 656–661.

Anic V, Henríquez CA, Abades SR, Bustamante RO. 2015. Number of conspecifics and reproduction in the invasive plant *Eschscholzia californica* (Papaveraceae): Is there a pollinator-mediated Allee effect? *Plant Biology* **17**: 720–727.

de Armas-Ricard M, Orlando J, Bustamante R, Carú M. 2016. Microbial communities of bulk and *Eschscholzia californica* rhizosphere soils at two altitudes in Central Chile. *Journal of soil science and plant nutrition* **16**: 1–13.

Arntz MA, Delph LF. 2001. Pattern and process: evidence for the evolution of photosynthetic traits in natural populations. *Oecologia* **127**: 455–467.

Baskin CC, Baskin JM. 2014. *Seeds Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego: Academic Press.

Becker T, Dietz H, Billeter R, Buschmann H, Edwards PJ. 2005. Altitudinal distribution of alien plant species in the Swiss Alps. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **7**: 173–

183.

Beerling DJ, Kelly CK. 1996. Evolutionary comparative analyses of the relationship between leaf structure and function. *New Phytologist* **134**: 35–51.

Benitez-Vieyra S, Glinos E, Medina AM, Cocucci AA. 2012. Temporal variation in the selection on floral traits in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology* **26**: 1451–1468.

Billings WD, Mooney HA. 1968. The ecology of arctic and alpine plants. *Biological Reviews* **43**: 481–529.

Bucher SF, Auerswald K, Grün-Wenzel C, Higgins SI, Garcia Jorge J, Römermann C. 2017. Stomatal traits relate to habitat preferences of herbaceous species in a temperate climate. *Flora* **229**: 107–115.

Bucher SF, Auerswald K, Tautenhahn S, et al. 2016. Inter- and intraspecific variation in stomatal pore area index along elevational gradients and its relation to leaf functional traits. *Plant Ecology* **217**: 229–240.

Bustamante RO, Duran AP, Peña-Gómez FT, Véliz D. 2018. Genetic and phenotypic variation, dispersal limitation and reproductive success in the invasive herb *Eschscholzia californica* along an elevation gradient in central Chile. *Plant Ecology and Diversity* **00**: 1–11.

Buswell JM, Moles AT, Hartley S. 2011. Is rapid evolution common in introduced plant species? *Journal of Ecology* **99**: 214–224.

Castillo ML, Bustamante RO, Peña-Gómez FT, et al. 2013. Negative photoblastism in the invasive specie *Eschscholzia californica* Cham. (Papaveraceae): Patterns of altitudinal variation in native and invasive range. *Gayana. Botánica* **70**: 331–337.

Cook SA. 1962. Genetic system, variation, and adaptation in *Eschscholzia californica*. *Evolution* **16**: 278–299.

- Cook SA. 1965.** Population regulation of *Eschscholzia californica* by competition and edaphic conditions. *Journal of Ecology* **53**: 759–769.
- Cowan IR. 1977.** Stomatal Behaviour and Environment. *Advances in Botanical Research* **4**: 117–228.
- Davidson AM, Jennions M, Nicotra AB. 2011.** Do invasive species show higher phenotypic plasticity than native species and, if so, is it adaptive? A meta-analysis. *Ecology Letters* **14**: 419–431.
- Etterson JR, Delf DE, Craig TP, Ando Y, Ohgushi T. 2008.** Parallel patterns of clinal variation in *Solidago altissima* in its native range in central USA and its invasive range in Japan. *Botany* **86**: 91–97.
- Farquhar GD, Schulze ED, Küppers M. 1980.** Responses to humidity by stomata of *Nicotiana glauca* L. and *Corylus avellana* L. are consistent with the optimization of carbon dioxide uptake with respect to water loss. *Australian Journal of Plant Physiology* **7**: 315–327.
- Franks PJ, Farquhar GD. 2001.** The effect of exogenous abscisic acid on stomatal development, stomatal mechanics, and leaf gas exchange in *Tradescantia virginiana*. *Plant Physiology* **125**: 935–942.
- Frías D, Godoy R, Iturra P, et al. 1975.** Polymorphism and geographic variation of flower color in Chilean populations of *Eschscholzia californica*. *Plant Systematics and Evolution* **123**: 185–198.
- Goldthwaite J, Bristol C, Gentile C, Klein M. 1971.** Light-suppressed germination of California poppy seed. *CANADIAN JOURNAL OF BOTANY* **49**: 1655–1659.
- Haider S, Kueffer C, Edwards PJ, Alexander JM. 2012.** Genetically based differentiation in growth of multiple non-native plant species along a steep environmental gradient. *Oecologia*

170: 89–99.

Hetherington AM, Woodward FI. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* **424**: 901–908.

Hilu KW, Randall JL. 1984. Convenient method for studying grass leaf epidermis. *Taxon* **33**: 413–415.

Hovenden MJ, Vander Schoor JK. 2006. The response of leaf morphology to irradiance depends on altitude of origin in *Nothofagus cunninghamii*. *New Phytologist* **169**: 291–297.

Körner C. 2003. *Alpine Plant Life*. Berlin (Germany): Springer-Verlag.

Körner C. 2012. *Alpine Treelines: Functional Ecology of the Global High Elevation Tree Limits*. New York: Springer-Verlag.

Körner C, Bannister P, Mark AF. 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. *Oecologia* **69**: 577–588.

Körner C, Neumayer M, Menendez-Riedl SP, Smeets-Scheel A. 1989. Functional morphology of mountain plants. *Flora* **182**: 353–383.

Kouwenberg LLR, Kurschner WM, McElwain JC. 2007. Stomatal frequency change over altitudinal gradients: prospects for paleoaltimetry. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* **66**: 215–241.

Kumekawa Y, Miyata H, Ohga K, et al. 2013. Comparative analyses of stomatal size and density among ecotypes of *Aster hispidus* (Asteraceae). *American Journal of Plant Sciences* **4**: 524–527.

Lande R, Arnold SJ. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* **37**: 1210–1226.

Leger EA, Espeland EK, Merrill KR, Meyer SE. 2009. Genetic variation and local adaptation at a cheatgrass (*Bromus tectorum*) invasion edge in western Nevada. *Molecular Ecology* **18**: 4366–

4379.

Leger EA, Forister ML. 2005. Increased resistance to generalist herbivores in invasive populations of the California poppy (*Eschscholzia californica*). *Diversity and Distributions* **11**: 311–317.

Leger EA, Rice KJ. 2003. Invasive California poppies (*Eschscholzia californica* Cham.) grow larger than native individuals under reduced competition. *Ecology Letters* **6**: 257–264.

Leger EA, Rice KJ. 2007. Assessing the speed and predictability of local adaptation in invasive California poppies (*Eschscholzia californica*). *Journal of Evolutionary Biology* **20**: 1090–1103.

Linhart YB, Grant MC. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**: 237–277.

Maron JL, Elmendorf SC, Vilà M. 2007. Contrasting plant physiological adaptation to climate in the native and introduced range of *Hypericum perforatum*. *Evolution* **61**: 1912–1924.

Mitchell-olds T, Shaw RG. 1987. Regression analysis of natural selection: statistical inference and biological interpretation. *Evolution* **41**: 1149–1161.

Monty A, Mahy G. 2009. Clinal differentiation during invasion: *Senecio inaequidens* (Asteraceae) along altitudinal gradients in Europe. *Oecologia* **159**: 305–315.

Morrissey MB, Sakrejsda K. 2013. Unification of regression-based methods for the analysis of natural selection. *Evolution* **67**: 2094–2100.

Oduor AMO, Leimu R, van Kleunen M. 2016. Invasive plant species are locally adapted just as frequently and at least as strongly as native plant species. *Journal of Ecology* **104**: 957–968.

Peña-Gómez FT, Bustamante RO. 2012. Life history variation and demography of the invasive plant *Eschscholzia californica* Cham. (Papaveraceae), in two altitudinal extremes, Central Chile. *Gayana. Botánica* **69**: 113–122.

- Peña-Gómez FT, Guerrero PC, Bizama G, Duarte M, Bustamante RO. 2014.** Climatic niche conservatism and biogeographical non-equilibrium in *Eschscholzia californica* (Papaveraceae), an invasive plant in the Chilean Mediterranean Region. *PLoS ONE* **9**.
- Poorter H, Niinemets Ü, Poorter L, et al. 2009.** Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New phytologist* **182**: 565–588.
- Read QD, Moorhead LC, Swenson NG, Bailey JK, Sanders NJ. 2014.** Convergent effects of elevation on functional leaf traits within and among species. *Functional Ecology* **28**: 37–45.
- Reich P, Ellsworth D, Walters M, et al. 1999.** Generality of leaf trait relationships : a test across six biomes. *ecological society of america* **80**: 1955–1969.
- Reich PB, Walters MB, Ellsworth DS. 1997.** From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **94**: 13730–13734.
- Richards CL, Bossdorf O, Muth NZ, Gurevitch J, Pigliucci M. 2006.** Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecology Letters* **9**: 981–993.
- Römermann C, Bucher SF, Hahn M, Bernhardt-Römermann M. 2016.** Plant functional traits – fixed facts or variable depending on the season? *Folia Geobotanica* **51**: 143–159.
- Sala OE, Iii FSC, Armesto JJ, et al. 2000.** Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* **287**: 1770–1774.
- Schluter D. 1988.** Estimating the form of natural selection on a quantitative trait. *Evolution* **42**: 849–861.
- Schulze ED, Kelliher FM, Korner C, Lloyd J, Leuning R. 1994.** Relationships among maximal stomatal conductance, carbon assimilation rate, and plant nitrogen nutrition: A global ecology scaling exercise. *Annual Review of Ecology and Systematics* **25**: 629–660.
- Si CC, Dai ZC, Lin Y, et al. 2014.** Local adaptation and phenotypic plasticity both occurred in

- Wedelia trilobata* invasion across a tropical island. *Biological Invasions* **16**: 2323–2337.
- Swenson NG, Enquist BJ. 2007.** Ecological and evolutionary determinants of a key plant functional trait: wood density and its community-wide variation across latitude and elevation. *American Journal of Botany* **94**: 451–459.
- Villagrán C, Marticorena C, Armesto JJ. 2007.** Flora de las Plantas Vasculares de Zapallar. Puntárgenes y Fondo Editorial U.M.C.E, Santiago, Chile, 646 pp.
- Westoby M. 1998.** A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil* **199**: 213–227.
- Wilcove DS, Rothstein D, Dubow J, Phillips A, Losos E. 1998.** Quantifying threats to imperiled species in the United States. *BioScience* **48**: 607–615.
- Woodward FI. 1986.** Ecophysiological studies on the shrub *Vaccinium myrtillus* L. taken from a wide altitudinal range. **70**: 580–586.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, et al. 2004.** The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**: 821–827.
- Yang X, Yang Y, Ji C, et al. 2014.** Large-scale patterns of stomatal traits in Tibetan and Mongolian grassland species. *Basic and Applied Ecology* **15**: 122–132.
- Zamorano D, Bustamante RO. 2017.** Seed mass, seed number and evolutionary trade-off across geographic distribution: do they explain invasiveness in *Eschscholzia californica*, central Chile? *Plant Ecology and Diversity* **10**: 105–113.

ANEXOS

Anexo 1

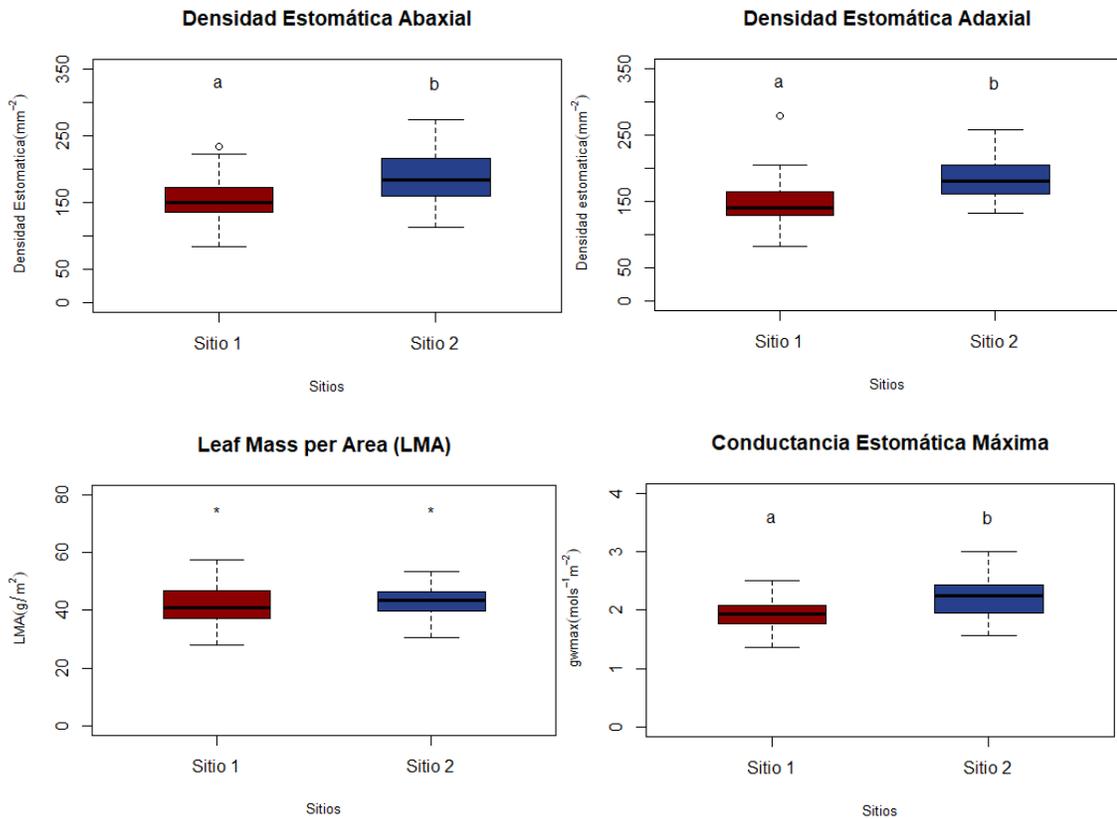


Figura 1. Gráficos boxplot (percentil 25, 50, 75) examinando la variabilidad de rasgos entre Sitio 1 (1180 msnm) y Sitio 2 (2220 msnm). Las diferencias significativas entre sitios se indican con letras minúsculas.

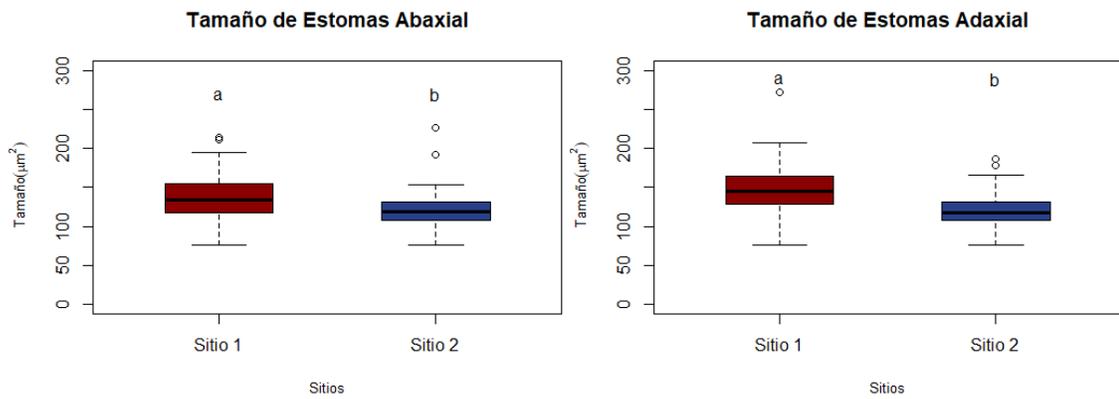


Figura 1 (Continuación). Gráficos boxplot (percentil 25, 50, 75) examinando la variabilidad de rasgos entre Sitio 1 (1180 msnm) y Sitio 2 (2220 msnm). Las diferencias significativas entre sitios se indican con letras minúsculas.

Anexo 2

Tabla 1. Coeficientes de selección sobre cinco rasgos de *E. californica* para el Sitio 1. Se indican diferenciales estandarizados de selección lineal (S') y no lineal (C'), y gradientes estandarizados de selección lineal (β_i'), no lineal (γ_{ii}') y correlacional (γ_{ij}'). Valores entre paréntesis corresponden a 1 error estándar. • $p < 0.1$; * $p < 0,05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Rasgo	S'	C'	$\beta_i' (\pm SE)$	$\gamma_{ii}' (\pm SE)$	$\gamma_{ij}' (\pm SE)$		
					SD Adaxial	LMA	ξ_{wmax}
SD Abaxial	0,0661	-0,0934	0,0067 ($\pm 0,1097$)	0,0001 * ($\pm 0,0179$)	0,0002 ($\pm 0,0150$)	0,0009 ($\pm 0,0175$)	0,0007 ($\pm 0,0245$)
SD Adaxial	0,0210	-0,2096	0,0423 ($\pm 0,1232$)	0,1003 ($\pm 0,0569$)	-	0,0058 ($\pm 0,0196$)	0,0038 ($\pm 0,0291$)
LMA	0,1330 *	0,0409	0,1372 • ($\pm 0,0758$)	0,0188 ** ($\pm 0,0212$)	-	-	0,0161 ($\pm 0,0231$)
ξ_{wmax}	0,0819	-0,1325	0,1175 ($\pm 0,1404$)	0,0001 ($\pm 0,0477$)	-	-	-

Tabla 2. Coeficientes de selección sobre cinco rasgos de *E. californica* para el Sitio 2. Se indican diferenciales estandarizados de selección lineal (S') y no lineal (C'), y gradientes estandarizados de selección lineal (β_i'), no lineal (γ_{ii}') y correlacional (γ_{ij}'). Valores entre paréntesis corresponden a 1 error estándar. • $p < 0.1$; * $p < 0,05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Rasgo	S'	C'	$\beta_i' (\pm EE)$	$\gamma_{ii}' (\pm EE)$	$\gamma_{ij}' (\pm SE)$		
					SD Adaxial	LMA	ξ_{wmax}
SD Abaxial	0,0333	-0,1346 *	-0,0864 ($\pm 0,1180$)	0,0074 * ($\pm 0,0258$)	0,0161 ($\pm 0,0287$)	0,0031 ($\pm 0,0115$)	-0,0245 ($\pm 0,0459$)
SD Adaxial	-0,0294	-0,1424 *	-0,1866 ($\pm 0,1154$)	0,0073 ($\pm 0,0547$)	-	0,0067 ($\pm 0,0169$)	-0,0510 ($\pm 0,0587$)
LMA	0,0053	0,0447	-0,0360 ($\pm 0,0761$)	0,0012 * ($\pm 0,0100$)	-	-	-0,0102 ($\pm 0,0250$)
ξ_{wmax}	0,0511	-0,1329 **	0,2843 • ($\pm 0,1421$)	0,0027 ($\pm 0,0869$)	-	-	-