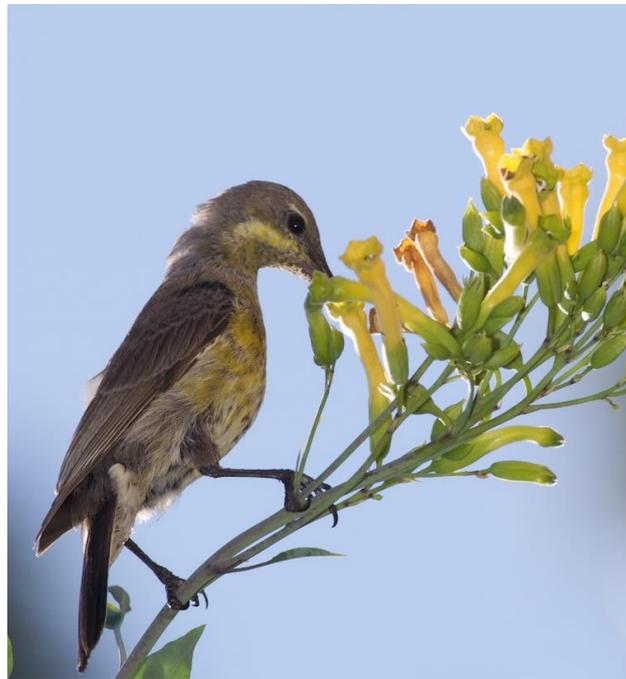




I M B I V

Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales

Selección del tamaño y la forma floral de *Nicotiana glauca* en poblaciones nativas e introducidas con diferentes contextos de polinización



Tesinista: García, María Macarena

Firma:

Directora: Paiaro, Valeria

Firma:

Co-director: Benítez-Vieyra, Santiago

Firma:

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (UNC-CONICET)-
Laboratorio de Ecología Evolutiva y Biología Floral

Año 2018

Córdoba, Argentina

Selección del tamaño y la forma floral de *Nicotiana glauca* en poblaciones nativas e introducidas con diferentes contextos de polinización

Tribunal examinador

Nombre y apellido: Firma:.....

Nombre y apellido: Firma:.....

Nombre y apellido: Firma:.....

Calificación:.....

Fecha:.....

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
Objetivos	7
<i>Objetivo general.....</i>	<i>7</i>
<i>Objetivos específicos</i>	<i>7</i>
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
2.1 Sistema de estudio	8
2.2 Sitios de muestreo.....	9
2.3 Polinizadores.....	12
2.4 Morfometría geométrica.....	15
2.5 Medidas de éxito reproductivo.....	16
2.6 Análisis de datos	16
<i>2.6.1. Variación de la forma y el tamaño floral</i>	<i>16</i>
<i>2.6.2. Selección fenotípica.....</i>	<i>17</i>
3. RESULTADOS.....	19
3.1 Variación de la forma y el tamaño floral	19
3.2 Selección Fenotípica	23
4. DISCUSIÓN.....	30
4.1 Variación de la forma y el tamaño floral	30
4.2 Selección Fenotípica	33
5. CONCLUSIONES.....	37
6. BIBLIOGRAFÍA.....	39
AGRADECIMIENTOS	44

Selección del tamaño y la forma floral de *Nicotiana glauca* en poblaciones nativas e introducidas con diferentes contextos de polinización

RESUMEN

El elenco y abundancia de polinizadores pueden variar entre ambientes nativos e invadidos, lo cual puede resultar en la variación espacial de la selección que actúa sobre los rasgos florales de las especies invasoras. *Nicotiana glauca* es una planta nativa de Sudamérica, donde es polinizada exclusivamente por picaflores. Esta especie ha invadido diversas regiones del mundo, en algunas de las cuales es visitada por polinizadores locales, como las aves Nectariniidae en Sudáfrica, mientras que en otras áreas, como la región mediterránea, donde no existen aves polinizadoras, se reproduce exclusivamente de manera autógama. Los picaflores y las aves Nectariniidae difieren en el tamaño y la forma del pico (recto y curvo, respectivamente) y en el comportamiento de visita (en vuelo suspendido y desde una percha, respectivamente), por lo que podrían ejercer diferentes presiones selectivas sobre la forma y el tamaño floral. Por otra parte, en ausencia de polinizadores determinada forma y tamaño de las flores podrían favorecer la autogamia en esta especie. Para evaluar el efecto de los diferentes contextos de polinización sobre el tamaño y la forma floral en *N. glauca*, se estudiaron tres poblaciones nativas, dos poblaciones introducidas en Sudáfrica y dos poblaciones introducidas en la región mediterránea a través de herramientas de morfometría geométrica. Mediante análisis de selección fenotípica se evaluó la asociación entre el tamaño y la forma floral y dos medidas de éxito reproductivo femenino (proporción de fructificación y número de semillas por fruto) en cada población. La forma y el tamaño floral variaron significativamente entre contextos de polinización, entre poblaciones dentro los contextos y entre individuos dentro de las poblaciones, aunque las diferencias entre los contextos de polinización explicaron la mayor proporción de la variabilidad en ambos rasgos. El contexto de polinización por picaflores y las poblaciones pertenecientes a dicho contexto mostraron la mayor variabilidad en los rasgos estudiados. La forma floral varió principalmente en el ancho y la curvatura de la corola: las poblaciones nativas polinizadas por picaflores presentaron corolas rectas y anchas, mientras que las poblaciones sudafricanas polinizadas por aves Nectariniidae y las poblaciones mallorquinas sin polinizadores presentaron corolas curvas y angostas. Dentro de las poblaciones estudiadas, el tamaño floral se asoció positivamente con la

longitud del tubo corolino y en algunos casos también con su ancho. El tamaño de las flores de las poblaciones nativas e introducidas con polinizadores varió en relación a la longitud del pico de las aves presentes en cada sitio. Tanto la forma como el tamaño de la corola fueron rasgos sujetos a selección en algunas de las poblaciones estudiadas. Para la proporción de fructificación se encontraron gradientes significativos de selección sólo en las poblaciones nativas. Con relación al número de semillas por fruto, se detectaron gradientes de selección significativos en poblaciones pertenecientes a los tres contextos estudiados. Aunque los patrones de selección hallados para la forma el tamaño floral no siempre coincidieron con lo esperado, la mayoría de ellos sugiere que la evolución de estos rasgos ocurre en respuesta a la selección ejercida por los polinizadores locales o por su ausencia. Los resultados de este trabajo sugieren que el contexto de polinización de *N. glauca* afectaría la forma y el tamaño de sus flores, y que estos rasgos tendrían la capacidad de evolucionar y adaptarse rápidamente tanto en el rango nativo como en sitios con y sin polinizadores del rango invadido. Estos hallazgos sugieren la versatilidad de esta especie para cambiar según el contexto de polinización, lo cual podría facilitar su proceso de invasión.

Palabras claves: especie invasora; morfometría geométrica; polinización; selección fenotípica

1. INTRODUCCIÓN

Las invasiones biológicas representan una de las principales amenazas para el funcionamiento de los ecosistemas naturales y la conservación de la biodiversidad nativa que éstos albergan (Mack et al. 2000). Las plantas introducidas deben atravesar varias barreras bióticas y abióticas para colonizar, sobrevivir, reproducirse y dispersarse en el nuevo ambiente (Richardson et al. 2000), y muchas de ellas dependen de las nuevas interacciones mutualistas con especies locales que se establecen en el hábitat receptor (Traveset & Richardson 2014). Casi todas las plantas leñosas invasoras del mundo son visitadas por animales y probablemente polinizadas de manera biótica (Traveset & Richardson 2014). Por ello, el potencial invasor de las plantas exóticas y su posible efecto perjudicial en un ambiente novedoso puede depender de lo bien que éstas se integren a las redes de polinización existentes (Aizen et al. 2008, Morales & Traveset 2009, Traveset & Richardson 2014).

La importancia de los polinizadores en las diferentes etapas del proceso de introducción-naturalización-invasión de las plantas depende de los rasgos y requerimientos de la especie invasora, principalmente de su capacidad de autopolinizarse y de su grado de polinización especializada (Traveset & Richardson 2014). En este sentido, Baker (1955) hipotetizó que los sistemas de polinización autógamos y no especializados promueven la invasión de las plantas introducidas, asegurando la reproducción, sobre todo cuando los individuos conoespecíficos y los polinizadores son limitantes (*véase también* Barrett 2011, Petanidou et al. 2012). De acuerdo con esto, las plantas invasoras generalmente no poseen una especificidad ecológica ni funcional en cuanto a sus polinizadores, y pueden utilizar un amplio espectro de polinizadores nativos o introducidos en el nuevo hábitat (Memmott & Waser 2002, Aizen et al. 2008, Vilà et al. 2009), asegurando así su éxito reproductivo y la subsecuente invasión (Richardson et al. 2000, Olesen et al. 2002). Sin embargo, también existen muchas plantas exóticas que son altamente especializadas en su rango nativo pero han adquirido tipos completamente nuevos de polinizadores en los ambientes invadidos (Traveset & Richardson 2014).

La introducción de especies en nuevos ambientes generalmente involucra cambios drásticos en los regímenes de selección que pueden causar evolución adaptativa (Sakai et al. 2001, Murren et al. 2009, Molina-Montenegro et al. 2011). Algunos estudios sugieren que el éxito de la invasión podría depender más fuertemente

de la habilidad de las especies para responder a la selección natural en los nuevos ambientes que de una amplia tolerancia fisiológica o de la plasticidad fenotípica (Lee 2002, Murren et al. 2009, Molina-Montenegro et al. 2011). Una aproximación para indagar de qué manera ocurre la evolución fenotípica es a través de los análisis de selección fenotípica, que consisten en examinar la covariación entre los fenotipos y el éxito reproductivo, y permiten estimar la fuerza, dirección y forma de la selección que actúa sobre el fenotipo de una generación a la siguiente (Lande & Arnold 1983).

En las plantas con flores, los polinizadores han sido considerados tradicionalmente el principal agente de selección (Darwin 1859, Faegri & van der Pijl 1979). A través de los efectos directos o indirectos sobre el despliegue floral, las características de las flores y la cantidad y calidad de recompensa, los polinizadores pueden modular la naturaleza, la intensidad y las consecuencias sobre el éxito reproductivo de las plantas con las cuales interactúan (Medel et al. 2003, Herrera et al. 2006, Anderson & Johnson 2009, Pauw et al. 2009). La variación geográfica en el ensamble de polinizadores puede resultar en una variación espacial en la selección que afecta a los rasgos florales cuando dichos polinizadores difieren en su morfología, en su comportamiento de forrajeo y/o en sus preferencias florales (Herrera et al. 2006, Moeller 2006, Gómez et al. 2008, Nattero et al. 2010a). Este contexto evolutivo cambiante resulta particularmente relevante para las especies de plantas invasoras, ya que el elenco y la abundancia de polinizadores pueden diferir substancialmente entre hábitats nativos e invadidos (Ollerton et al. 2012).

Los patrones selectivos de las poblaciones en el nuevo ambiente podrían depender del grado de interacción que las plantas con flores tengan con los polinizadores locales. En poblaciones introducidas integradas a la red de polinización local, la selección natural podría favorecer caracteres florales de atracción y ajuste a los polinizadores locales que aseguren una eficiente transferencia de polen entre individuos. Alternativamente, la selección en el nuevo hábitat puede ocurrir no sólo en respuesta a la presencia de un nuevo elenco de polinizadores sino también en respuesta a su ausencia o escasez (Hierro et al. 2005). Así, en poblaciones introducidas que no interactúan con los polinizadores locales, las plantas podrían estar sujetas a selección natural en favor de caracteres que incrementen las oportunidades de autopolinización para asegurar la reproducción (Fenster & Ritland 1994, Moeller 2006). Conjuntamente con la evolución de la autogamia, puede ocurrir una selección hacia una menor

atracción y recompensa floral que minimice la inversión en estructuras reproductivas, especialmente en ambientes estresantes (Jain 1976).

Con relación a la forma floral, se ha postulado que su evolución ocurre en respuesta a la fuerte selección ejercida por los polinizadores a través de un aumento en el atractivo de las flores, que incrementa las visitas de los polinizadores, y/o a través de una mayor eficiencia de transferencia de polen, que incrementa el depósito o la exportación de polen en cada visita (Gómez et al. 2008). En este contexto, la variación geográfica en la forma floral dentro de una especie podría sugerir que este rasgo está sujeto a selección natural y que diferentes polinizadores podrían ser los mediadores de dicha selección (Temeles et al. 2009). En el caso de las flores polinizadas por aves, se ha postulado que la evolución de la forma de la corola dependería de si las flores son accesibles en vuelo suspendido o desde una percha (Westerkamp 1990). Bajo esta hipótesis, plantas con flores visitadas por picaflores (familia Trochilidae) que se alimentan en vuelo suspendido pueden adaptarse a dichos visitantes simplemente alargando el tubo floral. En plantas con perchas un simple alargamiento del tubo floral sería menos efectivo, porque tubos muy largos perpendiculares a una percha podrían estar fuera del alcance de las aves, mientras que una corola curvada permitiría el acceso así como la especialización de un ave que percha (Westerkamp 1990, Temeles et al. 2009). Además, los picaflores y las aves que perchan poseen distintas formas y tamaños de pico que podrían ejercer presiones selectivas diferentes sobre la forma y el tamaño floral. Los picaflores, que se restringen al Nuevo Mundo, tienen picos rectos mientras que los Passeriformes nectarívoros del Viejo Mundo que suelen perchar para alimentarse, de los cuales los Nectariniidae (sunbirds) de África constituyen uno de los principales grupos, tienden a tener picos curvos (Westerkamp 1990). Por su parte, el tamaño del pico varía tanto entre las especies de picaflores (Heredia 2011) como de aves Nectariniidae (Hockey et al. 2005).

Para detectar cambios evolutivos en las especies invasoras y comprender los procesos que posibilitan a las plantas exóticas dominar las comunidades invadidas son necesarios estudios comparativos de poblaciones en su rango nativo y en sitios invadidos (Bossdorf et al. 2005, Hierro et al. 2005). Por otro lado, se ha destacado la importancia de adoptar un enfoque que incorpore perspectivas tanto ecológicas como evolutivas de las interacciones entre plantas y polinizadores, por ejemplo a través del análisis de los patrones de selección natural, en el contexto de las invasiones por plantas

(Mitchell et al. 2009, Kiers et al. 2010). Sin embargo, hasta el momento, no se ha evaluado la selección fenotípica mediada por polinizadores en ambientes nativos e invadidos simultáneamente.

Nicotiana glauca R. Graham (Solanaceae) representa un sistema ideal para abordar este tipo de estudios y poner a prueba las hipótesis referidas a la evolución de la forma y el tamaño floral. Se trata de un arbusto nativo del centro y noroeste de Argentina y sur de Bolivia (Goodspeed 1954), donde es polinizado exclusivamente por picaflores (Nattero & Cocucci 2007, Nattero et al. 2010a, 2011). Pese a su especificidad ecológica en cuanto a los polinizadores, *N. glauca* ha invadido de manera exitosa regiones semi-áridas de todo el mundo (Ollerton et al. 2012). Mientras que en algunas de estas regiones la especie interactúa con los polinizadores locales, como los picaflores en California (Schueller 2004) y las aves Nectariniidae (sunbirds) en Sudáfrica (Geerts & Pauw 2009); en otras regiones, como el norte de la región Mediterránea, donde no existen aves polinizadoras, no está integrada a la red local de polinización y se reproduce exclusivamente de manera autógena (Ollerton et al. 2012, Issaly 2015). Se ha sugerido que en esta especie, el mecanismo de autopolinización sería posterior a la maduración de la flor, el cual se vería favorecido por corolas más angostas (Issaly 2015). Hasta el momento, sólo se ha evaluado la selección sobre caracteres morfométricos clásicos de las flores en poblaciones nativas (Nattero & Cocucci 2007, Nattero et al. 2010a) e introducidas (Schueller 2007) polinizadas por picaflores, pero se desconoce la influencia de este proceso evolutivo sobre otros rasgos como la forma floral y en áreas con diferentes contextos de polinización.

Sobre la base de los antecedentes expuestos, se plantea la hipótesis de que la forma y el tamaño floral de *N. glauca* son el resultado adaptativo de las presiones selectivas ejercidas por el contexto de polinización en su rango de distribución nativo y en áreas invadidas. Por lo tanto, se espera que tanto estos rasgos florales como la selección que actúa sobre ellos varíen geográficamente de acuerdo al contexto de polinización de cada lugar. En particular, se espera que la variación en la forma y el tamaño de la corola sea mayor entre contextos de polinización que entre poblaciones y entre individuos dentro de las poblaciones. Con relación a la variación de la forma floral y los patrones de selección sobre este rasgo, se espera que en las poblaciones del área de origen con flores polinizadas por picaflores las corolas sean rectas y/o que esta forma sea favorecida por la selección, mientras que en las poblaciones de ambientes invadidos

con flores polinizadas por aves Nectariniidae, las corolas sean curvas y/o que esta forma sea la seleccionada. Por su parte, se espera que en las poblaciones establecidas en ambientes invadidos donde los polinizadores naturales no han sido sustituidos por polinizadores locales haya y/o se seleccionen formas florales que faciliten la autogamia (por ej., corolas angostas). Con relación al tamaño floral, se espera que, tanto en las poblaciones del rango nativo como en poblaciones del rango introducido visitadas por polinizadores locales, haya y/o se seleccionen tamaños de corolas que favorezcan la atracción (corolas grandes) y/o el ajuste a los respectivos polinizadores (corolas de tamaños similares a los de los picos de las especies de aves polinizadoras más abundantes) para asegurar la transferencia del polen. Por su parte, en las poblaciones del rango introducido que no interactúan con los polinizadores locales se espera que haya y/o que la selección favorezca corolas pequeñas que reduzcan el costo energético de las plantas.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar si el contexto de polinización en poblaciones nativas e introducidas (i.e. polinización por picaflores, por aves Nectariniidae y ausencia de polinizadores) influye sobre la forma y el tamaño floral, ejerciendo diferentes presiones de selección.

Objetivos específicos

1. Determinar la forma y el tamaño de la corola en poblaciones de *N. glauca* nativas e introducidas con distintos contextos de polinización.
2. Evaluar cómo varía la forma y el tamaño de la corola entre las poblaciones y entre los diferentes contextos de polinización.
3. Determinar los patrones de selección sobre la forma y el tamaño floral en cada población.
4. Comparar los patrones de selección fenotípica entre las poblaciones y determinar si éstos difieren entre ellas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Sistema de estudio

Nicotiana glauca Graham (Solanaceae) es un arbusto (Figura 1a) oriundo del centro y noroeste de Argentina y Bolivia (Goodspeed 1954). Esta especie ha sido ampliamente introducida en numerosas regiones semiáridas del mundo como planta ornamental, desde donde se ha expandido, colonizando e invadiendo diversos hábitats, incluyendo otras partes de América del Sur, Australia, California, Hawái, la región del norte y el este del Mediterráneo, Israel, México, norte y sur de África y las Islas Canarias. La especie está incluida en la Base de Datos de Especies Invasoras Globales (<http://www.issg.org>), y varias organizaciones regionales la consideran invasora (Ollerton et al. 2012). Tanto en su rango de distribución nativo como en las regiones donde esta especie ha sido introducida, se la encuentra en áreas naturalmente y antropogénicamente disturbadas, tales como riberas de ríos, costados de caminos y canteras abandonadas, principalmente en ambientes semiáridos de baja a elevada altitud (0-3500 m).

Es una planta ornitófila que presenta flores tubulares de 30 a 57 mm de longitud y de 6 a 11 mm de diámetro (Nattero et al. 2011). La antesis ocurre a lo largo del día, y las flores duran alrededor de 3 a 4 días (Schueller 2004, Nattero y Cocucci 2007). Las flores se disponen en panículas, no poseen olor y producen abundante cantidad de néctar (20µl aproximadamente) de moderada concentración de azúcar (25% de sacarosa aproximadamente) (Schueller 2007, Ollerton et al. 2012). Dentro de su área de distribución natural, al igual que en áreas invadidas del Hemisferio Sur, la temporada de floración se extiende desde principios de septiembre hasta abril, mientras que en áreas invadidas del Hemisferio Norte la floración se extiende desde marzo hasta octubre. Las flores son típicamente amarillas y tubulares (Figura 1b), aunque en algunas poblaciones nativas hay polimorfismo de color, que incluye plantas con flores de color rojo oscuro, amarillo rojizo y amarillo (Figura 1c) (Nattero y Cocucci 2007). Todas las poblaciones introducidas estudiadas hasta la fecha sólo poseen la variante floral de color amarillo, lo que puede reflejar la introducción de un conjunto limitado de genotipos en el rango no nativo de la especie. Los frutos son cápsulas dehiscentes en los que persiste el cáliz (Figura 1d). La fructificación es alta y cada fruto contiene cientos de pequeñas

semillas secas que son liberadas cuando el fruto está maduro; la viabilidad de las semillas oscila alrededor del 90% (Ollerton et al. 2012).

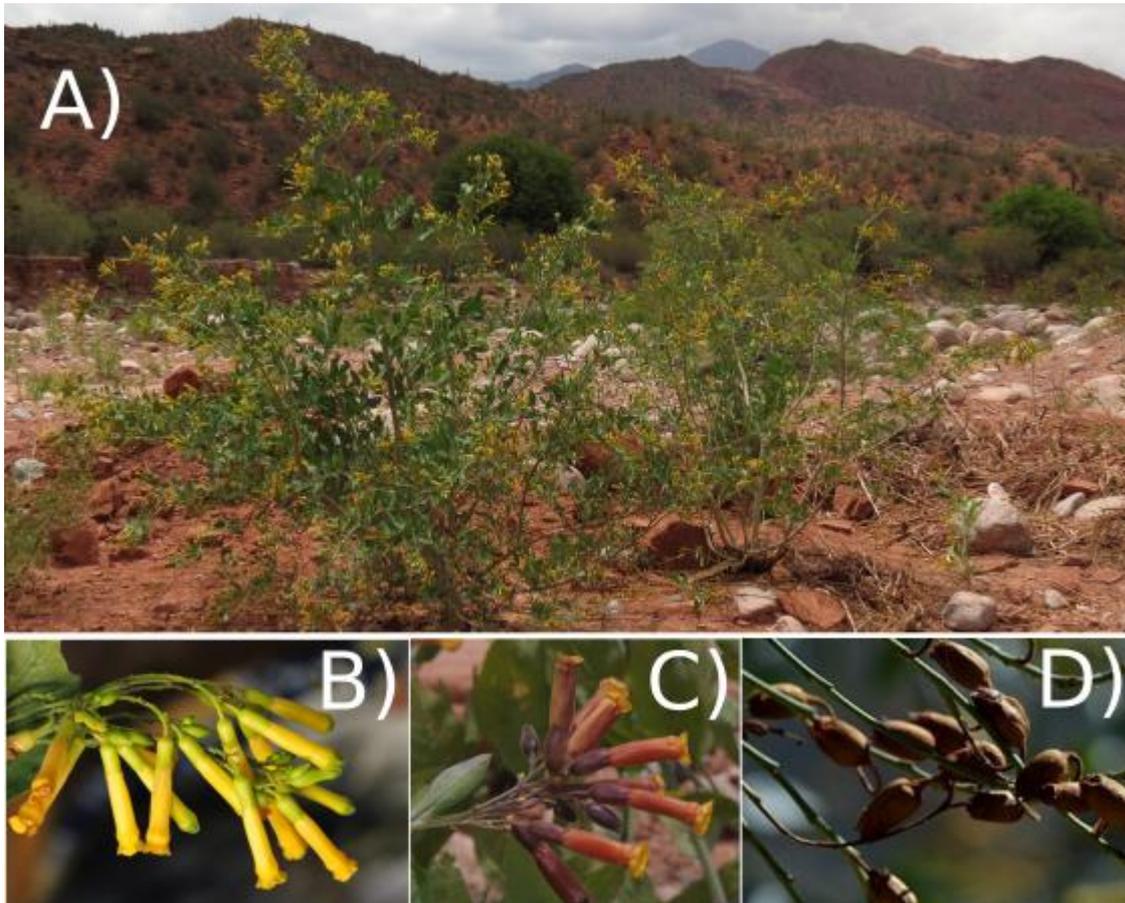


Figura 1. *Nicotiana glauca*: a) Vista general del arbusto. b) Inflorescencia con flores de morfotipo amarillo. c) Inflorescencia con flores de morfotipo rojo oscuro. d) Frutos maduros.

2.2 Sitios de muestreo

En total, se estudiaron siete poblaciones de *N. glauca*: tres nativas (dos en Argentina y una en Bolivia), dos introducidas en la región Mediterránea, específicamente en la isla Balear de Mallorca, España, y dos introducidas en la región del Cabo en Sudáfrica (Tabla 1, Figura 2). En Mallorca, los primeros registros de la especie datan del año 1852 (Catálogo español de especies exóticas invasoras 2013) y en Sudáfrica, del año 1884 (Bromilow 2001).

Las poblaciones de *N. glauca* introducidas tanto en España como en Sudáfrica presentan numerosos individuos (> 100; V. Paiaro, obs. pers.) y se han naturalizado, logrando reproducirse por sus propios medios sin la ayuda del hombre. Los ambientes

perturbados en los cuales se encuentran estas poblaciones probablemente facilitan su propagación y multiplicación. Además, el rápido desarrollo de la especie le permite alcanzar la fase reproductiva a edades tempranas. De acuerdo a Richardson y colaboradores (2000), estas cuatro poblaciones introducidas serían “invasoras”, ya que están naturalizadas fuera del rango nativo de distribución, sus individuos se reproducen, a menudo en grandes cantidades, a distancias considerables de las plantas progenitoras, y por lo tanto tienen el potencial de extenderse sobre un área considerable.

Los muestreos fueron realizados en la primavera y el verano de cada sitio entre 2012 y 2014 (Tabla 1). Las poblaciones estudiadas dentro de cada región están separadas entre sí por al menos 25 km. En todos los sitios, tanto del área nativa como de las áreas invadidas, *N. glauca* constituye la especie dominante.

La población nativa de Piedra Pintada, ubicada en la provincia de La Rioja se encuentra en el cauce y la ribera de un río seco, mientras que las poblaciones de Embarcación (Salta) y la de Tupiza (Bolivia) están establecidas al costado de rutas, la primera en un sitio de pendiente pronunciada y la segunda en un sitio disturbado principalmente por carga ganadera. En Mallorca, la población de Biniamar se encuentra en un sitio con presencia de animales de granja, un ambiente altamente perturbado. La población de Génova se encuentra en una cantera abandonada, donde el grado de disturbio también es alto. En Sudáfrica, ambas poblaciones en estudio se encuentran en sitios altamente perturbados con presencia de animales de granja y cercanos a cursos de agua.

Tabla 1. Datos de los sitios de muestreo. PMA = Precipitación media anual; TMA = Temperatura media anual.

Población	Código	Ubicación	Status	Latitud	Longitud	Altitud (msnm)	PMA (mm)	TMA (°C)	Bioma	Año de muestreo	Nro. indiv. muestreados
Embarcación	EM	Salta, Argentina	Nativa	23° 14' 40'' S	64° 8' 7'' W	310	692	17,2	Semi-desierto	2013	43
Piedra Pintada	PP	La Rioja, Argentina	Nativa	29° 25' 46'' S	67° 49' 47'' W	1590	338	19,6	Semi-desierto	2012	75
Tupiza	TU	Potosí, Bolivia	Nativa	21° 40' 39'' S	65° 34' 43'' W	3213	370	11,2	Semi-desierto	2013	86
Biniamar	BI	Mallorca, Islas Baleares	Introducida	39° 25' 48'' N	2° 32' 60'' E	58	608	16,6	Matorral Mediterráneo	2012	100
Génova	GE	Mallorca, Islas Baleares	Introducida	39° 21' 1'' N	2° 23' 25'' E	58	437	18,3	Matorral Mediterráneo	2012	100
Buffels river	BF	Región del Cabo, Sudáfrica	Introducida	29° 43' 13'' S	17° 36' 53'' E	201	105	18,4	Semi-desierto	2014	62
Troe Troe River	TT	Región del Cabo, Sudáfrica	Introducida	31° 36' 37'' S	18° 43' 40'' E	125	145	18,3	Matorral Mediterráneo	2014	80

PMA y TMA obtenidos de: Worldwide Bioclimatic Classification System 1996-2015.

Altitud obtenida de: <https://www.mapsdirections.info/coordenadas-de-googlemaps.html>

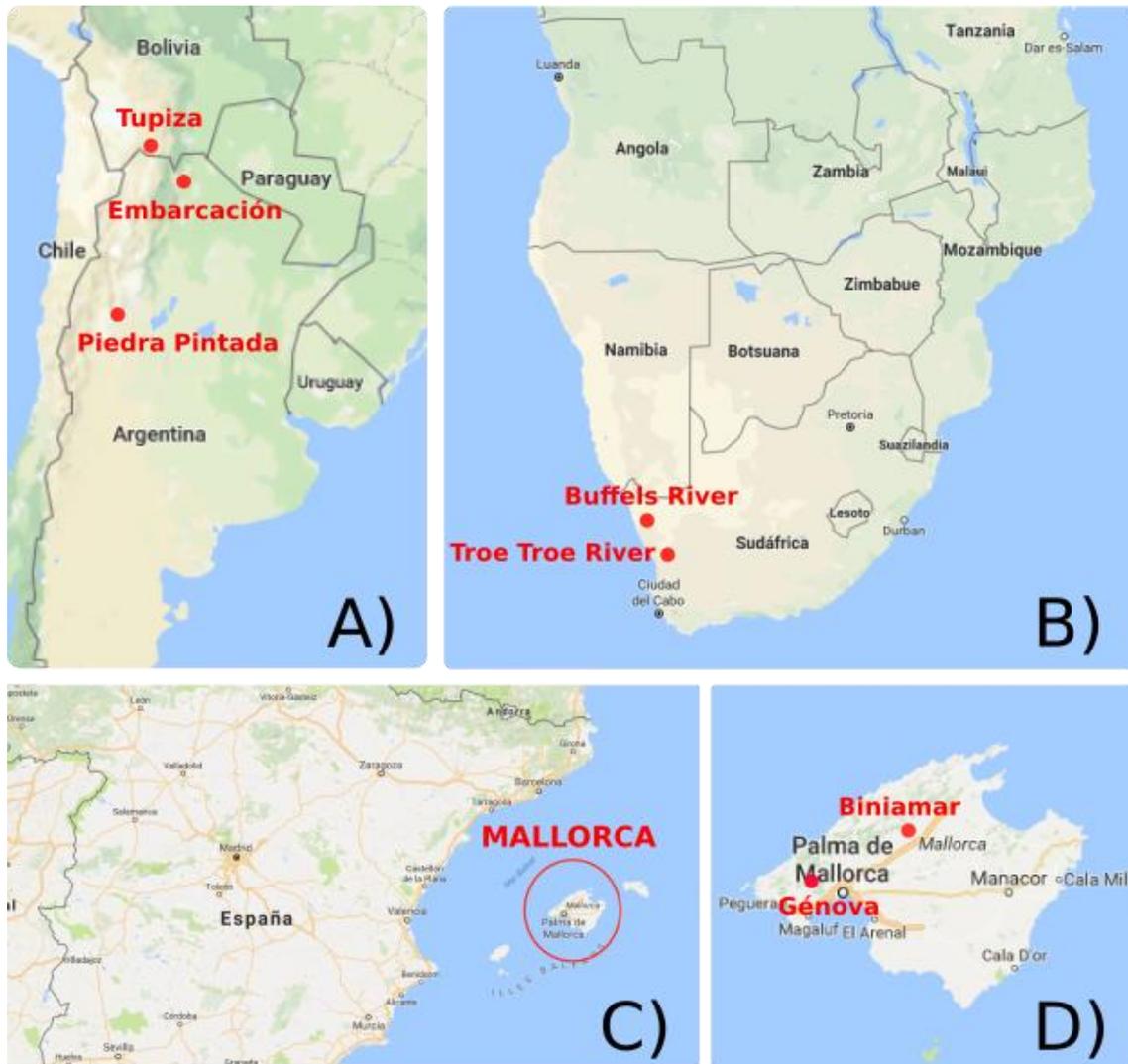


Figura 2. Sitios de muestreo. A) Poblaciones nativas. B) Poblaciones de Sudáfrica. C) Vista general de Mallorca. D) Poblaciones de Mallorca.

2.3 Polinizadores

Todas las poblaciones, a excepción de Embarcación donde el sistema reproductivo no fue estudiado, fueron reportadas como auto-compatibles en un trabajo previo (Issaly 2015). Mientras que las poblaciones de Mallorca se reproducen exclusivamente de manera autógena, tanto en las poblaciones nativas como en las de Sudáfrica los polinizadores incrementan la producción de frutos y semillas (Issaly 2015).

En las poblaciones nativas estudiadas, *N. glauca* es polinizada por distintas especies de picaflors (Nattero & Cocucci 2007; Nattero et al. 2010a, 2011; Paiaro V. datos no publicados; Tabla 2, Figura 3). Las poblaciones estudiadas en Sudáfrica son polinizadas por tres especies de aves de la familia Nectariniidae conocidas como sunbirds (Geerts & Pauw 2009; Paiaro V. datos no publicados; Tabla 2, Figura 3). En

Mallorca, donde no hay aves polinizadoras especializadas, sólo se observó al esfíngido colibrí (*Macroglossum stellatarum*) como visitante ocasional en las poblaciones estudiadas (Paiaro V., datos no publicados).

De cada especie de ave visitante (picaflores y aves Nectariniidae) se obtuvo con calibre digital la longitud, el ancho y la profundidad del pico a partir de ejemplares presentes en el Museo de Zoología de la UNC (Trochilidae) y capturados a campo (Nectariniidae) (Tabla 3).

Tabla 2: Aves polinizadoras y porcentaje de visitas en cada población

Población	Especie de ave visitante	Porcentaje de visitas (%)	Fuente
Embarcación	<i>Sappho sparganura</i>	100	Nattero et al. 2011
Piedra Pintada	<i>Sappho sparganura</i>	5,9	Paiaro V. (datos no publ.)
	<i>Patagona gigas</i>	72,4	Paiaro V. (datos no publ.)
	<i>Chlorostilbon lucidus</i>	21,8	Paiaro V. (datos no publ.)
Tupiza	<i>Patagona gigas</i>	100	Nattero et al. 2011
Buffels river	<i>Nectarinia famosa</i>	66,6	Paiaro V. (datos no publ.)
	<i>Cinnyris fuscus</i>	25,9	Paiaro V. (datos no publ.)
	<i>Cinnyris chalybeus</i>	7,5	Paiaro V. (datos no publ.)
Troe Troe River	<i>Nectarinia famosa</i>	33,3	Paiaro V. (datos no publ.)
	<i>Cinnyris fuscus</i>	55,3	Paiaro V. (datos no publ.)
	<i>Cinnyris chalybeus</i>	11,3	Paiaro V. (datos no publ.)

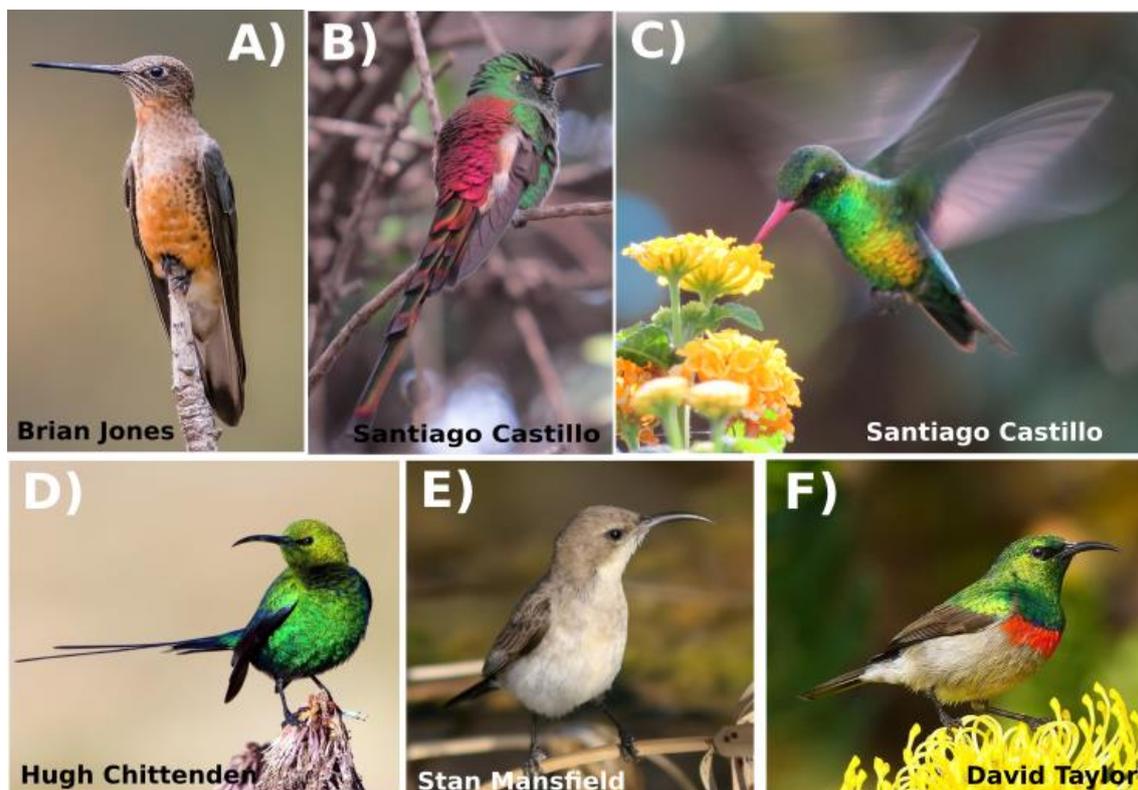


Figura 3. Aves polinizadoras de *N. glauca*. Picaflores: A) *Patagona gigas*, B) *Sappho sparganura*, C) *Chlorostilbon lucidus*. Aves Nectariniidae: D) *Nectarinia famosa*, E) *Cinnyris fuscus*, F) *Cinnyris chalybeus*.

Tabla 3. Medidas promedio de los picos de las especies de aves visitantes

Familia	Especie	Long. pico (mm)	Ancho pico (mm)	Prof. pico (mm)	Localidad/ Provincia	Número individuos muestreados
Trochilidae	<i>Sappho sparganura</i>	17,17	2,03	1,30	Córdoba (1) Salta (1)	2
	<i>Patagona gigas</i>	35,57	3,36	3,28	Chilecito, La Rioja	1
	<i>Chlorostilbon lucidus</i>	18,19	1,87	1,84	s/d	2
Nectariniidae	<i>Nectarinia famosa</i>	31,4	5,7	3,6	Western Cape	1
	<i>Cinnyris fuscus</i>	18,23	-	-	Western Cape	3
	<i>Cinnyris chalybeus</i>	18,82	3,93	2,77	Western Cape	6

2.4 Morfometría geométrica

En cada una de las poblaciones, se seleccionaron al azar entre 43 y 100 individuos (Tabla 1). Se colectaron tres flores por cada individuo seleccionado, las cuales se colocaron en tubos tipo Falcon. En el laboratorio, las flores se fotografiaron con una cámara digital, acompañadas de una escala de referencia. La forma de la flor se estudió utilizando herramientas de morfometría geométrica con una metodología basada en hitos o “landmarks”, que consiste en colocar puntos homólogos alrededor del tubo floral para determinar un polígono que representa la forma floral quitando los efectos de rotación, traslación y escala (Zelditch et al. 2004, Gómez et al. 2006). Se definieron 18 landmarks a lo largo del contorno del cáliz, el tubo y la apertura de la corola, que se marcaron sobre las fotografías digitales utilizando el programa informático tpsDig versión 2.3 (Figura 4). El número de landmarks fue elegido para proporcionar una cobertura completa de la forma de la corola (Zelditch et. al 2004, ver Gómez et al., 2006 para más detalles). Los landmarks 1; 2; 3; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 16; 17 y 18 fueron tomados como landmarks *de Tipo I*, que son puntos matemáticos cuya supuesta homología de un individuo a otro es respaldada por una sólida evidencia o significación biológica (Van der Molen et al. 2007). Los landmarks 4; 5; 14 y 15 fueron considerados como *semilandmark*, que son puntos arbitrarios distribuidos a lo largo de un contorno definido entre dos landmarks de Tipo I que sirven para describir curvas y superficies más extensas cuando no se cuenta con rasgos claramente identificables y de similar localización entre las formas a comparar (Charlin et al. 2016).

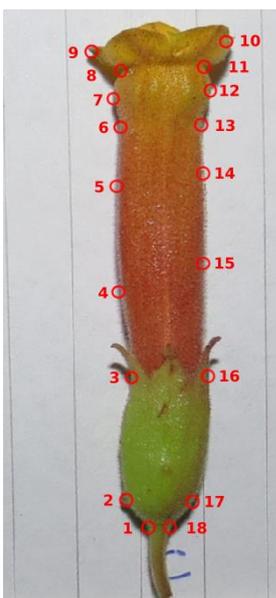


Figura 4. Ubicación de los 18 landmarks utilizados para los análisis de morfometría geométrica.

Utilizando el programa MorphoJ (Klingenberg 2011) se realizó un Análisis Generalizado de Procrustes (GPA) a partir de las coordenadas de los landmarks para eliminar los efectos de traslación, rotación y escala (Rohlf y Slice 1990; Slice 2001). Además, se obtuvieron el tamaño del centroide (TC), que es una medida del tamaño independiente de la forma y la forma consenso, es decir el conjunto de landmarks que representa la tendencia central de la muestra estudiada.

Con el programa CoordGen 8, se obtuvieron medidas lineales de la corola a partir de las coordenadas de los landmarks para cada una de las flores. La longitud del tubo corolino se obtuvo a partir del promedio de la distancia comprendida entre los landmarks n° 1 y n° 8 y la comprendida entre los landmarks n°11 y n° 18. El ancho del tubo corolino se obtuvo como la distancia comprendida entre los landmarks n° 8 y n°11.

2.5 Medidas de éxito reproductivo

En cada uno de los individuos se marcaron los cálices de flores vírgenes en cinco ramas, y en la época de fructificación se contabilizaron los frutos con cálices marcados. Se estimó la *proporción de fructificación* como la razón entre el número de frutos y el número de flores marcadas por individuo.

Se colectaron alrededor de 10 frutos por individuo que se colocaron en sobres de papel y se secaron a temperatura ambiente hasta su apertura. Los frutos no fueron recogidos totalmente maduros para evitar la pérdida de semillas después de la dehiscencia. Se pesó con balanza de precisión una sub-muestra con un número conocido de semillas (cerca de 200) y luego el total de semillas de los frutos colectados por individuo. El *número de semillas por fruto* de cada individuo se estimó como: el número de semillas de la sub-muestra \times el peso del total de semillas por individuo \times el peso de las semillas de la sub-muestra⁻¹ \times el número de frutos⁻¹.

Mientras que la proporción de fructificación constituye una estimación de la intensidad de la polinización, es decir, el número de flores polinizadas; el número de semillas por fruto da una estimación de la calidad de la polinización.

2.6 Análisis de datos

2.6.1. Variación de la forma y el tamaño floral

Para dividir la variación total de la forma y el tamaño floral en sus componentes jerárquicos y evaluar si la distancia morfológica entre los individuos era mayor entre o

dentro de las poblaciones y entre o dentro de los contextos de polinización, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) anidado en el caso del tamaño del centroide (TC) y un Anova de Procrustes anidado en el caso de la variabilidad de la forma de la corola. Las diferencias entre flores dentro de los individuos fueron utilizadas como el término de error (Sokal y Rohlf 1981). Todos estos análisis se realizaron con el programa estadístico R 3.4.2 (R Core Team 2017) a través de su interfaz gráfica RStudio Versión 1.0.136.

Para los análisis subsiguientes, se utilizó el promedio de la forma floral por individuo. En primer lugar, se realizó un análisis de componentes principales sobre las coordenadas de Procrustes de los landmarks y semilandmarks para resumir y visualizar la variabilidad de la forma de las flores. Este análisis se realizó utilizando el software MorphoJ (Klingenberg 2011). Con el fin de evaluar si las diferentes poblaciones ocupan volúmenes similares del morfoespacio definido por los componentes principales, se realizó un Procedimiento de Permutación de Respuesta Múltiple (PPRM) y se examinó si el valor observado de la varianza de los volúmenes de las siete poblaciones era mayor de lo esperado por azar. Se realizaron biplots a partir de los primeros dos componentes principales obtenidos, que juntos representaron el 70.16% de la varianza total en la forma floral (ver Resultados), y el tamaño del centroide (TC).

La relación entre el tamaño del centroide y las medidas lineales obtenidas de las flores se examinó mediante correlaciones entre el TC, la longitud y el ancho de la corola para cada población. Debido a la ausencia de normalidad de los datos se utilizó el índice de correlación de Spearman (r_s).

2.6.2. Selección fenotípica

El potencial total o la oportunidad de selección (I) que actúa en cada población se estimó como la varianza de los valores individuales de cada medida de éxito reproductivo (proporción de fructificación y número de semillas por fruto) divididos por su respectiva media poblacional (Arnold & Wade 1984, Brodie et al. 1995).

Para analizar la relación entre las variables fenotípicas y las medidas de éxito reproductivo en cada población se utilizaron modelos aditivos generalizados (MAG), los cuales poseen dos ventajas principales: 1) Evitan suposiciones *a priori* sobre la forma de la relación entre los rasgos fenotípicos y el éxito reproductivo (es decir, si es lineal, cuadrática, etc.) ya que utilizan regresiones no paramétricas para modelar esta relación. 2) Permiten utilizar distribuciones no normales del éxito reproductivo. Los

modelos incluyeron los primeros dos componentes principales que resumen la variabilidad de la forma floral (CP1 y CP2) y el tamaño del centroide (TC). Se utilizaron los valores promedio por individuo de dichas variables. Se utilizó la estructura de error binomial y estimación por cuasi-verosimilitud penalizada (Zuur et al. 2009) para controlar la sobredispersión “quasibinomial” en el caso de la *proporción de fructificación*. Para la variable respuesta *número de semillas por fruto* se utilizó una estructura de error “binomial negativa” y estimación por máxima verosimilitud (Zuur et al. 2009).

Para obtener los gradientes de selección a partir de los modelos aditivos generalizados se utilizó la metodología propuesta por Morrissey y Sakrejda (2013), que consiste en extraer las derivadas parciales de la relación entre el éxito reproductivo y los rasgos fenotípicos. Se utilizó el paquete *mgcv* (Wood 2008) para el ajuste de los MAG y el paquete *gsg* (Morrissey y Sakrejda 2013) del software R (R Core Team 2017). Los valores de error estándar de los gradientes se obtuvieron a partir de 1000 bootstraps.

Los gradientes de selección estiman la dirección y magnitud de la selección en un determinado rasgo fenotípico o combinación de dos rasgos, independientemente de los efectos de la selección en los otros rasgos incluidos en el análisis (Lande & Arnold 1983; Brodie et al. 1995). Los gradientes lineales significativos (β_i) indican que la selección natural favorece valores fenotípicos mayores o menores, lo que induce cambios en las medias poblacionales. Los gradientes de selección no lineales significativos (γ) indican una selección no lineal cóncava contra los fenotipos extremos (γ_{ii} , selección cuadrática estabilizadora), selección convexa no lineal contra los fenotipos intermedios (γ_{ii} , selección cuadrática disruptiva) o selección sobre una combinación dada de rasgos (γ_{ij} , selección correlacional).

3. RESULTADOS

3.1 Variación de la forma y el tamaño floral

El ANOVA de Procusto anidado para la forma floral (Tabla 4) y el ANOVA anidado para el tamaño del centroide (Tabla 5) revelaron que todos los niveles considerados (entre contextos de polinización, entre poblaciones dentro los contextos y entre individuos dentro de las poblaciones) explicaron una proporción estadísticamente significativa de la variación total en la forma y el tamaño de las flores de *N. glauca*, respectivamente. Las diferencias entre los contextos de polinización (i.e. polinización por picaflores, por aves Nectariniidae y ausencia de polinizadores) explicaron la mayor proporción de varianza en la forma y el tamaño floral, seguidas por las diferencias entre las poblaciones dentro de los contextos de polinización. Las diferencias entre individuos dentro de las poblaciones y entre flores de un mismo individuo explicaron sólo una pequeña proporción de la varianza en ambos rasgos.

Tabla 4. Partición de la varianza (ANOVA de Procusto anidado) para evaluar la diferenciación geográfica en los descriptores de la forma floral en poblaciones nativas e introducidas de *Nicotiana glauca*.

Fuente de variación	G.L	CM	R ²	F	Pr(>F)
Contexto de polinización	2	0,57390	0,146324	191,9208	0,001
Población (Contexto de polinización)	4	0,50641	0,258237	169,3534	0,001
Individuos (Población, Contexto de polinización)	7	0,01152	0,010282	3,8532	0,001
Flores (Individuos, Población, Contexto de polinización)	1535	0,00299			
Total	1548				

Tabla 5. Partición de la varianza (ANOVA anidado) para evaluar la diferenciación geográfica en el tamaño floral en poblaciones nativas e introducidas de *Nicotiana glauca*.

Fuente de variación	G.L	CM	R ²	Pr(>F)
Contexto de polinización	2	14765,8	927,582	< 0,001
Población (Contexto de polinización)	4	8769,0	550,870	< 0,001
Individuos (Población, Contexto de polinización)	7	172,8	10,856	< 0,001
Flores (Individuos, Población, Contexto de polinización)	1535	15,9		
Total	1548			

El análisis de morfometría geométrica mostró que la forma consenso de *N. glauca* para las poblaciones estudiadas, fue más bien angosta y presentó una leve curvatura (Figura 5).

El análisis de componentes principales generó 32 Componentes Principales (CPs) de los cuales los dos primeros (CP1 y CP2) explicaron más del 70% de la variación en la forma de la corola (57,53% y 12,63%, respectivamente). El Componente Principal 1 se asoció con cambios en el ancho de la corola; los valores máximos de esta variable representan corolas angostas, mientras que los valores mínimos corresponden a corolas anchas (Figura 5). En cuanto a este componente, en el contexto de polinización por picaflores se observó una mayor variabilidad que en los otros dos contextos de polinización estudiados (Figura 5). Por su parte, la variabilidad intrapoblacional en el CP1 fue mayor en las poblaciones nativas polinizadas por picaflores que en las poblaciones introducidas polinizadas por nectarínidos y que en las poblaciones introducidas sin polinizadores. Los individuos de Piedra Pintada (PP) mostraron las flores más anchas, correspondientes a valores negativos del CP1. El CP2 se asoció con cambios en el ancho y curvatura de la corola. Este componente muestra diferencias entre las poblaciones de origen nativo polinizadas por picaflores (en el extremo inferior), con corolas más anchas y rectas que la forma consenso, y las poblaciones introducidas, tanto aquellas polinizadas por aves Nectariniidae como aquellas sin polinizadores (en el extremo superior), con flores más angostas y curvas que el consenso (Figura 5).

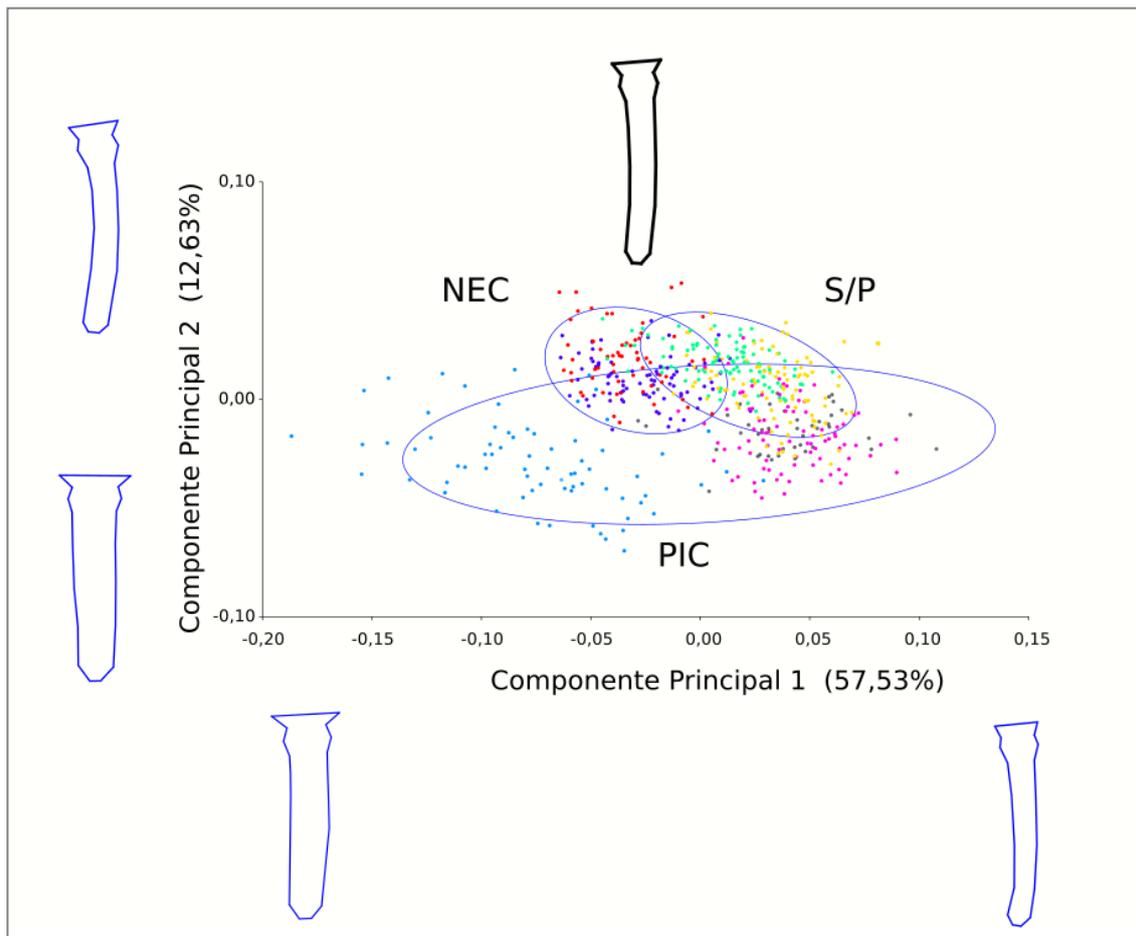
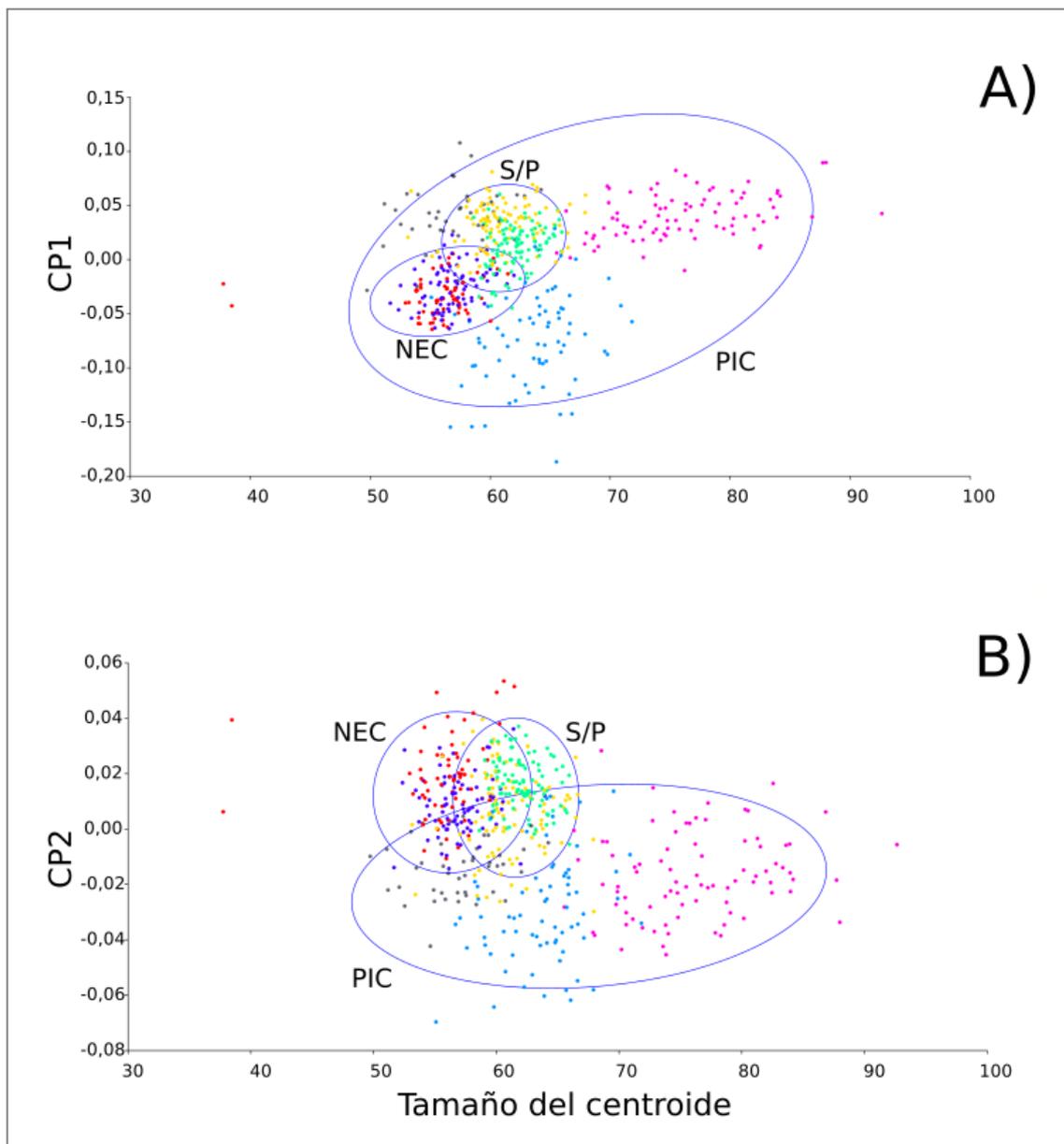


Figura 5. Ordenamiento de los individuos muestreados ($n = 546$ plantas) a lo largo de los dos primeros ejes obtenidos a partir del Análisis de Componentes Principales (ACP) de la forma floral. Cada punto corresponde al promedio de un individuo. En distintos colores se muestran las poblaciones estudiadas: BF = Buffels river, BI = Biniamar, EM = Embarcación, GE = Génova, PP = Piedra Pintada, TT = Troe Troe River, TU = Tupiza. Las elipses agrupan los individuos que pertenecen a poblaciones de un mismo contexto de polinización (PIC = polinización por picaflores, NEC = polinización por nectarínidos, S/P = sin polinizadores). En color negro arriba se muestra la forma consenso, en azul se muestran las formas extremas de los componentes principales 1 y 2.

Con respecto a la variación en el tamaño del centroide (TC), en el contexto de polinización por picaflores se observó una mayor variabilidad que en los otros dos contextos de polinización estudiados (Figura 6). Entre las poblaciones nativas, Embarcación (EM) presentó las flores más pequeñas, Piedra Pintada (PP), flores de tamaño intermedio, y Tupiza (TU), las flores más grandes. Entre las poblaciones introducidas, aquellas polinizadas por nectarínidos presentaron flores pequeñas (de tamaño similar a las de EM) y aquellas sin polinizadores mostraron tamaños florales

intermedios (similares a los de las flores de PP). Se observó también una mayor variabilidad de tamaños florales dentro de las poblaciones nativas de Piedra Pintada



(PP) y Tupiza (TU).

Figura 6. Ordenamiento de los individuos muestreados a lo largo del eje del tamaño del centroide (TC) y A) el primer (CP1) y B) el segundo componente principal (CP2) obtenidos a partir del Análisis de Componentes Principales de la forma floral. Cada punto corresponde al promedio de un individuo. En distintos colores se muestran las poblaciones estudiadas: BF = Buffels river, BI = Biniamar, EM = Embarcación, GE = Génova, PP = Piedra Pintada, TT = Troe Troe River, TU = Tupiza. Las elipses agrupan los individuos que pertenecen a poblaciones de un mismo contexto de polinización (PIC = polinización por picaflores, NEC = polinización por nectarínidos, S/P = sin polinizadores).

El Procedimiento de Permutación de Respuesta Múltiple (PPRM) mostró que los volúmenes del morfoespacio definido por los componentes principales de la forma floral que ocupa cada población no son significativamente diferentes entre sí ($p = 0,966$).

En todas las poblaciones estudiadas, el tamaño del centroide se correlacionó de manera positiva y significativa con la longitud de la corola (Tabla 6). En la población nativa de Tupiza y en la población introducida de Biniamar (sin polinizadores) esta medida del tamaño también se correlacionó de manera positiva y significativa con el ancho de la corola.

Tabla 6. Coeficientes de correlación de Spearman (r_s) y valores de P asociados para las correlaciones entre el tamaño del centroide y las medidas lineales de la corola (longitud y ancho) dentro de cada una de las siete poblaciones estudiadas.

Población	Longitud de la corola		Ancho de la corola	
	r_s	P	r_s	P
Embarcación	0,4	0,01	0,23	0,13
Piedra Pintada	0,32	0,01	-0,13	0,29
Tupiza	0,71	<0,001	0,34	<0,001
Biniamar	0,34	<0,001	0,21	0,04
Génova	0,27	0,01	-0,05	0,59
Buffels river	0,48	<0,001	$2,9 \times 10^{-3}$	0,98
Troe Troe River	0,54	<0,001	0,13	0,24

3.2 Selección Fenotípica

En la Tabla 7 se muestra la estadística descriptiva de los rasgos florales y las medidas de éxito reproductivo utilizados en los análisis de selección. En general, los valores para la oportunidad de selección (I) fueron bajos, todos menores a un 40%. La oportunidad de selección fue mayor para la proporción de fructificación que para el número de semillas por fruto en todas las poblaciones a excepción de la población nativa de Tupiza (TU) y la población sudafricana Troe Troe River (TT), donde este potencial fue mayor para el número de semillas por fruto. Comparativamente entre poblaciones, la oportunidad de selección para la proporción de fructificación fue mayor en dos de las poblaciones nativas polinizadas por picaflores, esto es, Embarcación (EM) y Piedra Pintada (PP). Por su parte, para el número de semillas por fruto este índice fue

mayor en la población sudafricana de Troe Troe River (TT) polinizada por aves Nectariniidae.

A partir de los análisis de selección fenotípica, se encontraron diferentes patrones de selección que actúan a través de ambas medidas de éxito reproductivo estudiadas (Tablas 8 y 9; Figuras 7 y 8). No se detectó selección correlacional para ninguna de las dos medidas de éxito reproductivo analizadas y en ninguna de las poblaciones estudiadas.

A través de la proporción de fructificación sólo se encontró evidencia de selección (esto es, gradientes significativos) sobre el tamaño del centroide y el CP2 en poblaciones nativas polinizadas por picaflores (Tabla 8). A través de esta medida de éxito reproductivo se detectó selección direccional negativa sobre el tamaño del centroide en Embarcación (EM), donde este rasgo también presentó selección disruptiva, y en Tupiza (TU), donde este rasgo también presentó selección estabilizadora (Tabla 8). La inspección de los gráficos indica que en ambas poblaciones las plantas con menores tamaños de corola tuvieron un mayor éxito reproductivo (Figura 7). Sin embargo, dadas las diferencias en los rangos de variación del tamaño del centroide entre estas dos poblaciones (ver Resultados apartado anterior), la selección direccional negativa favoreció a plantas con mayores valores de esta variable en Tupiza (TU) que en Embarcación (EM) (Figuras 7). Por otra parte, se detectó selección estabilizadora sobre el CP2 en Piedra Pintada (PP), la cual indica que las plantas con una forma similar a la de la media poblacional alcanzaron un mayor éxito reproductivo (Tabla 8, Figura 7).

A través del número de semillas por fruto, se detectaron gradientes de selección lineales y/o cuadráticos significativos para los tres rasgos analizados (CP1, CP2 y tamaño del centroide) en poblaciones de los tres contextos de polinización estudiados: Embarcación (EM), Tupiza (TU), Biniamar (BI), Génova (GE) y Buffels River (BF) (Tabla 9, Figura 8). Entre las poblaciones nativas polinizadas por picaflores, en Tupiza (TU), la selección direccional negativa sobre el tamaño del centroide favoreció plantas con corolas más pequeñas, de forma similar a la selección hallada para la proporción de fructificación (Figura 8). También se encontró selección disruptiva sobre el tamaño del centroide en esta población a través del número de semillas por fruto (Tabla 9), aunque el examen de las regresiones no paramétricas del modelo aditivo generalizado muestran que este efecto puede deberse a una ligera curvatura de la

relación entre el tamaño del centroide y el éxito reproductivo. En Embarcación (EM), se detectó selección direccional positiva sobre el CP2, que favoreció plantas con corolas más angostas y curvas que la media poblacional (Figura 8). Entre las poblaciones introducidas en Mallorca sin polinizadores, en Biniamar (BI), se encontró selección estabilizadora sobre el CP1 (Figura 8), favoreciendo a las plantas con formas de corola cercanas a la media poblacional para esta variable, selección direccional negativa (marginamente significativa) sobre el CP2 (Figura 8), favoreciendo plantas con corolas más anchas y rectas que la media poblacional para esta variable, y selección direccional positiva sobre el tamaño del centroide, favoreciendo plantas con corolas más grandes (Figura 8). En Génova (GE), se encontró selección direccional negativa para el CP1, indicando que en esta población se favorecen individuos con formas florales más rectas y anchas que la media poblacional (Figura 8). Finalmente, en Buffels river (BF), una población introducida en Sudáfrica polinizada por aves Nectariniidae, se halló selección direccional negativa sobre el CP2, indicando que plantas con corolas más rectas y anchas que la media poblacional poseen mayor éxito reproductivo (Figura 8).

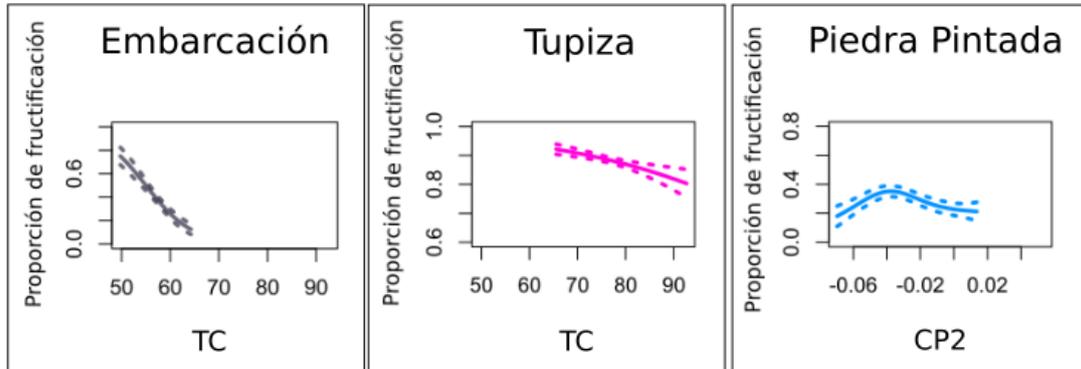


Figura 7. Regresiones no paramétricas entre los rasgos florales y la proporción de fructificación en las poblaciones de *Nicotiana glauca*. TC, tamaño del centroide. CP2, segundo componente principal de la forma floral. A fines comparativos, se utiliza el rango fenotípico completo encontrado en las siete poblaciones estudiadas en el eje de las abscisas. Las líneas discontinuas muestran ± 1 E.E. (error estándar) estimado a partir de 1000 bootstraps.

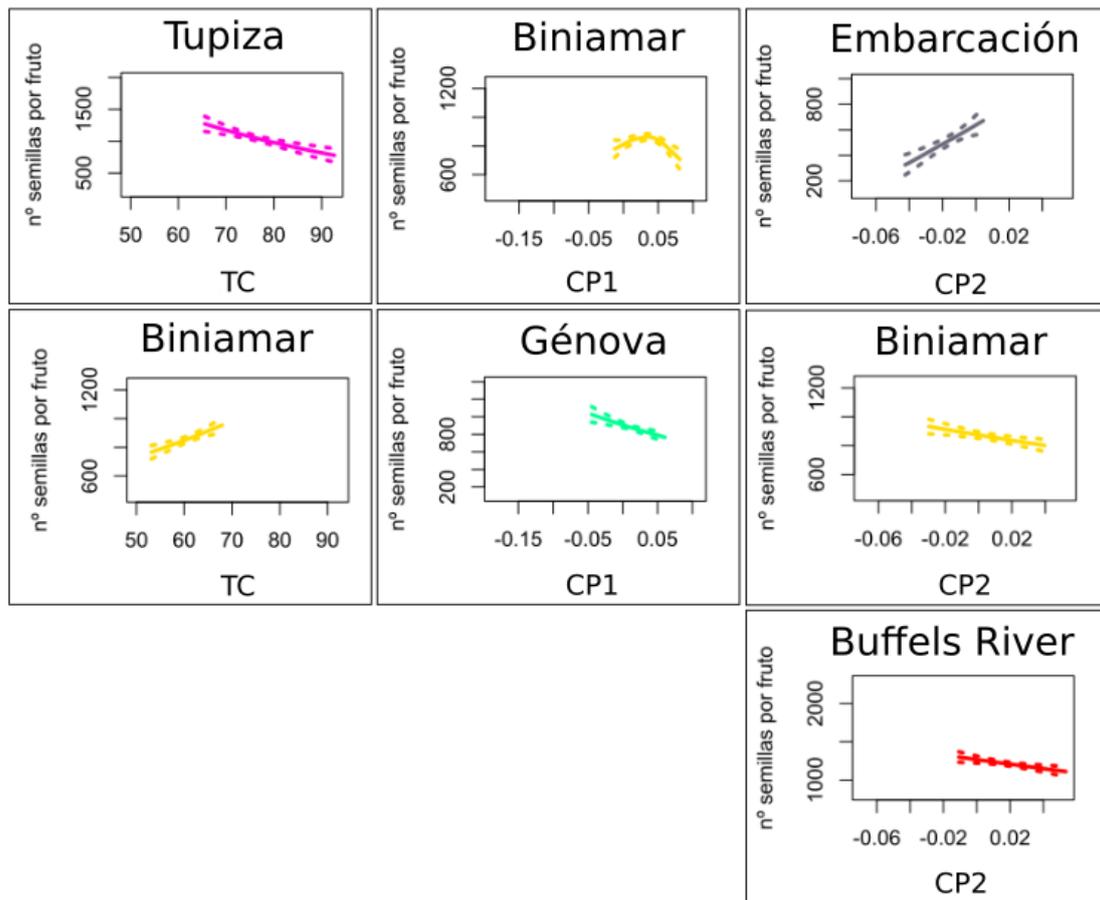


Figura 8. Regresiones no paramétricas entre los rasgos florales y el número de semillas por fruto en las poblaciones de *Nicotiana glauca*. TC, tamaño del centroide. CP1 y CP2, primer y segundo componente principal de la forma floral, respectivamente. A fines comparativos, se utiliza el rango fenotípico completo encontrado en las siete poblaciones estudiadas en el eje de las abscisas. Las líneas discontinuas muestran ± 1 E.E. (error estándar) estimado a partir de 1000 bootstraps.

Tabla 7. Valores promedio y desvíos estándar de las variables florales y las medidas de éxito reproductivo y potencial total u oportunidad de selección (*I*) de ambas medidas de éxito reproductivo.

Población	CP1		CP2		TC		Proporción de fructificación			Nº de semillas por fruto		
	\bar{x}	D.E.	\bar{x}	D.E.	\bar{x}	D.E.	\bar{x}	D.E.	<i>I</i>	\bar{x}	D.E.	<i>I</i>
EM	0,039	0,028	-0,014	0,010	57,01	3,30	0,432	0,271	0,385	530,605	222,188	0,171
PP	-0,074	0,042	-0,029	0,019	63,65	3,48	0,280	0,169	0,359	595,352	215,871	0,130
TU	0,040	0,021	-0,016	0,015	76,14	5,61	0,886	0,090	0,010	1054,202	334,477	0,099
BI	0,033	0,020	0,006	0,015	61,05	2,82	0,572	0,152	0,070	840,729	159,798	0,036
GE	0,012	0,021	0,016	0,009	62,13	1,77	0,415	0,181	0,189	870,158	184,753	0,045
BF	-0,035	0,018	0,019	0,015	55,79	3,78	0,612	0,191	0,096	1208,433	210,353	0,030
TT	-0,025	0,020	0,009	0,011	56,95	2,18	0,536	0,196	0,132	1111,722	551,099	0,243

Tabla 8. Gradientes estandarizados lineales (β_i'), cuadráticos (γ_{ii}') y correlacionales (γ_{ij}') de selección y su respectivo error estándar (E.E.) utilizando la proporción de fructificación como medida de éxito reproductivo en siete poblaciones de *N. glauca*. Los gradientes significativos ($P < 0,05$) se indican en negrita.

Población	Rasgo	$\beta_i' \pm \text{E.E.}$	P	$\gamma_{ii}' \pm \text{E.E.}$	P	CP1		CP2	
						$\gamma_{ij}' \pm \text{E.E.}$	P	$\gamma_{ij}' \pm \text{E.E.}$	P
EM	CP1	0,04 ± 0,08	0,57	-0,01 ± 0,04	0,85				
	CP2	0,10 ± 0,08	0,25	0,00 ± 0,01	0,17	0,00 ± 0,00	0,69		
	Tamaño del centroide	-0,38 ± 0,08	<0,001	0,05 ± 0,02	<0,001	-0,00 ± 0,01	0,60	-0,01 ± 0,01	0,25
PP	CP1	0,08 ± 0,07	0,23	0,00 ± 0,01	0,12				
	CP2	-0,03 ± 0,08	0,73	-0,25 ± 0,09	0,03	-0,00 ± 0,01	0,86		
	Tamaño del centroide	-0,07 ± 0,08	0,35	-0,05 ± 0,10	0,73	-0,00 ± 0,01	0,43	0,00 ± 0,01	0,61
TU	CP1	-2,65e-03 ± 0,01	0,83	-4,59e-05 ± 0,00	0,11				
	CP2	1,39e-02 ± 0,01	0,27	-1,27e-03 ± 0,00	0,10	2,41e-04 ± 0,00	0,97		
	Tamaño del centroide	-2,53e-02 ± 0,01	0,05	-4,17e-03 ± 0,00	0,03	-4,40e-04 ± 0,00	0,89	2,30e-03 ± 0,00	0,28
BI	CP1	-2,59e-02 ± 0,03	0,35	-2,45e-04 ± 0,00	0,35				
	CP2	7,95e-03 ± 0,03	0,72	-5,81e-02 ± 0,05	0,21	-2,95e-04 ± 0,00	0,48		
	Tamaño del centroide	2,04e-03 ± 0,03	0,93	3,93e-02 ± 0,03	0,23	4,37e-05 ± 0,00	0,86	1,93e-04 ± 0,00	0,62
GE	CP1	9,69e-03 ± 0,05	0,82	2,32e-05 ± 0,00	0,38				
	CP2	-1,59e-02 ± 0,05	0,82	6,44e-05 ± 0,00	0,46	-3,87e-05 ± 0,00	0,80		
	Tamaño del centroide	4,15e-03 ± 0,05	0,93	8,90e-02 ± 0,11	0,48	-2,37e-05 ± 0,00	0,65	3,89e-05 ± 0,00	0,86
BF	CP1	3,43e-03 ± 0,03	0,88	-8,70e-06 ± 0,00	0,28				
	CP2	2,78e-02 ± 0,03	0,39	-5,43e-04 ± 0,00	0,19	-6,68e-05 ± 0,00	0,88		
	Tamaño del centroide	1,54e-02 ± 0,03	0,64	-2,04e-04 ± 0,00	0,22	-3,70e-05 ± 0,00	0,97	-3,01e-04 ± 0,00	0,83
TT	CP1	0,073 ± 0,04	0,10	-0,02 ± 0,06	0,73				
	CP2	-0,07 ± 0,04	0,12	-0,07 ± 0,04	0,10	-0,00 ± 0,00	0,62		
	Tamaño del centroide	0,07 ± 0,04	0,10	-0,00 ± 0,00	0,26	-0,00 ± 0,00	0,98	-0,00 ± 0,00	0,96

Tabla 9. Gradientes estandarizados lineales (β_i'), cuadráticos (γ_{ii}') y correlacionales (γ_{ij}') de selección y su respectivo error estándar (E.E.) utilizando el número de semillas por fruto como medida de éxito reproductivo en siete poblaciones de *N. glauca*. Los gradientes significativos ($P < 0,05$) se indican en negrita.

Población	Rasgo	$\beta_i' \pm \text{E.E.}$	P	$\gamma_{ii}' \pm \text{E.E.}$	P	CP1		CP2	
						$\gamma_{ij}' \pm \text{E.E.}$	P	$\gamma_{ij}' \pm \text{E.E.}$	P
EM	CP1	9,07e-03 ± 0,07	0,85	7,00e-05 ± 0,00	0,29				
	CP2	1,42e-01 ± 0,06	0,03	1,86e-03 ± 0,05	0,92	1,29e-03 ± 0,01	0,86		
	Tamaño del centroide	-9,27e-02 ± 0,07	0,16	8,62e-03 ± 0,01	0,11	-8,40e-04 ± 0,01	0,80	-1,31e-02 ± 0,01	0,18
PP	CP1	-0,02 ± 0,06	0,67	0,00 ± 0,01	0,33				
	CP2	0,01 ± 0,05	0,83	0,00 ± 0,00	0,48	-0,00 ± 0,00	0,79		
	Tamaño del centroide	0,02 ± 0,05	0,73	0,00 ± 0,00	0,21	-0,00 ± 0,00	0,70	0,00 ± 0,00	0,83
TU	CP1	0,06 ± 0,04	0,13	0,00 ± 0,01	0,14				
	CP2	0,06 ± 0,04	0,14	0,00 ± 0,01	0,19	0,00 ± 0,00	0,21		
	Tamaño del centroide	-0,10 ± 0,04	0,02	0,01 ± 0,01	0,03	-0,01 ± 0,01	0,14	-0,01 ± 0,01	0,15
BI	CP1	-0,01 ± 0,02	0,60	-0,05 ± 0,03	0,05				
	CP2	-0,03 ± 0,02	0,09	0,00 ± 0,00	0,24	0,00 ± 0,00	0,59		
	Tamaño del centroide	0,04 ± 0,02	0,02	0,00 ± 0,00	0,12	-0,00 ± 0,00	0,60	-0,00 ± 0,00	0,10
GE	CP1	-5,77e-02 ± 0,03	0,04	3,31e-03 ± 0,00	0,16				
	CP2	-3,87e-02 ± 0,03	0,18	-1,47e-02 ± 0,02	0,56	2,23e-03 ± 0,00	0,17		
	Tamaño del centroide	-5,16e-03 ± 0,03	0,83	2,28e-05 ± 0,00	0,42	2,98e-04 ± 0,00	0,86	1,20e-04 ± 0,00	0,87
BF	CP1	-0,01 ± 0,02	0,53	0,00 ± 0,00	0,45				
	CP2	-0,05 ± 0,02	0,01	-0,01 ± 0,02	0,77	0,00 ± 0,00	0,53		
	Tamaño del centroide	0,01 ± 0,02	0,62	0,00 ± 0,00	0,52	-0,00 ± 0,00	0,75	-0,00 ± 0,00	0,63
TT	CP1	1,60e-03 ± 0,06	0,97	-1,53e-04 ± 0,01	0,59				
	CP2	-5,83e-02 ± 0,058	0,29	-2,70e-03 ± 0,02	0,97	-9,34e-05 ± 0,01	0,93		
	Tamaño del centroide	5,82e-02 ± 0,062	0,33	-2,54e-02 ± 0,05	0,67	9,56e-05 ± 0,01	0,88	-3,37e-03 ± 0,01	0,46

4. DISCUSIÓN

En este trabajo, se analizó la forma y el tamaño floral en *Nicotiana glauca* mediante herramientas de morfometría geométrica. A través de análisis de selección fenotípica, se estudiaron los patrones de selección sobre estos rasgos. La comparación de poblaciones nativas e introducidas con diferentes contextos de polinización (i.e. polinización por picaflores, polinización por aves Nectariniidae y ausencia de polinizadores) permitió evaluar si estos rasgos y sus patrones de selección varían de acuerdo a la presencia y el tipo de polinizadores. Así, en esta Tesina se indagó acerca de la versatilidad de *N. glauca* para adaptarse a distintos contextos de polinización, atravesando la barrera reproductiva en el nuevo ambiente, lo que posiblemente tenga implicancias en el éxito de su invasión.

4.1 Variación de la forma y el tamaño floral

De acuerdo con las predicciones de este trabajo, los resultados muestran que la variación en la forma y el tamaño de la corola de *N. glauca* es mayor entre contextos de polinización que entre poblaciones dentro de los contextos y que entre individuos dentro de las poblaciones. Este resultado concuerda con lo hallado en otra especie, en donde también se encontró variación en la forma de la corola entre poblaciones con distintos grupos funcionales de polinizadores (Gómez et al. 2008).

Los resultados indican que tanto la forma como el tamaño floral presentan mayor variabilidad en el contexto de polinización por picaflores que en los otros dos contextos analizados. Esto podría responder a que las poblaciones nativas estudiadas se encuentran adaptadas a distintos ensambles de polinizadores (dos de ellas con una única especie de picaflor), cuyas especies difieren en las características del pico, especialmente el tamaño (Heredia 2011). Por su parte, las dos poblaciones sudafricanas estudiadas son polinizadas, aunque en diferente proporción, por las mismas especies de aves Nectariniidae, las cuales además no difieren entre sí en las características del pico tanto como las especies de picaflores. En cuanto a la variación intrapoblacional, los individuos de las tres poblaciones nativas estudiadas presentaron una mayor variabilidad de formas florales que las de los demás contextos. Además, Piedra Pintada y Tupiza mostraron la mayor diversidad de tamaños. Esta mayor variabilidad observada en las formas y tamaños de las poblaciones nativas con respecto a las poblaciones introducidas puede deberse a que estas últimas hayan sufrido posibles cuellos de botella,

pérdida aleatoria y fijación de alelos en sus pequeñas poblaciones fundadoras (Shueller 2007). Esto también podría explicar la menor variabilidad en el tamaño de las flores de la población nativa de Embarcación, la cual es muy reducida (ca. 45 individuos). Finalmente, la reproducción exclusivamente autógena de las poblaciones mallorquinas sin polinizadores llevaría a una reducción de la variabilidad tanto intra- como interpoblacional en este contexto.

Tal como se esperaba, los individuos de las poblaciones nativas presentaron las flores con corolas más rectas. Esto puede ser explicado por dos hechos; por un lado, los picaflores que polinizan las flores de *N. glauca* en su rango nativo de distribución tienen picos rectos y, por otro lado, los picaflores visitan las flores en vuelo suspendido y las corolas rectas favorecerían la polinización por aves con este tipo de comportamiento (Westerkamp 1990). Respecto al tamaño floral, la población nativa de Tupiza, polinizada exclusivamente por el picaflor gigante *Patagona gigas* (aproximadamente 36 mm de longitud de pico), presentó las corolas más grandes, mientras que la población nativa de Embarcación, polinizada por un picaflor (*Sappho sparganura*) de menor tamaño de pico (aproximadamente 17 mm), presentó corolas pequeñas. Por su parte, la población de Piedra Pintada, con un ensamble de polinizadores conformado por estas dos especies y una tercera (*Chlorostilbon lucidus*, con aproximadamente 36 mm de longitud de pico), presentó corolas de tamaño intermedio. El hecho de que el tamaño de la corola se asociara positivamente con su longitud en estas poblaciones, apoya la idea de que el tamaño de las flores en cada población está relacionado con la longitud del pico de sus polinizadores.

Por otro lado, los individuos de las dos poblaciones introducidas de Sudáfrica presentaron las flores más curvas y pequeñas. La mayor curvatura en estas poblaciones podría responder al pico curvado de sus polinizadores y/o a su comportamiento de visita, ya que una corola curvada permite el acceso de un ave que percha (Westerkamp 1990, Temeles et al. 2009). El pequeño tamaño de las flores (también asociado a su longitud en estas poblaciones) podría explicarse en la población de Troe troe river por la longitud del pico de su principal polinizador *Cinnyris fuscus* (ca. 18 mm), pero no en Buffels river, donde el principal polinizador (*Nectarinia famosa*) posee un pico relativamente largo (i.e. ca. 31 mm). Sin embargo, en esta última población otros dos polinizadores de picos más cortos (*C. fuscus* y *C. chalybeus*) tuvieron una alta

proporción de visitas (>33% entre los dos) y podrían estar ejerciendo una presión selectiva sobre el tamaño de sus flores.

En las dos poblaciones introducidas de Mallorca los individuos presentaron corolas curvas, angostas y de tamaños intermedios (menores que los de las poblaciones nativas con flores más grandes y mayores que los de las poblaciones introducidas de Sudáfrica). Las corolas curvas y angostas en estos sitios sin presencia de polinizadores podrían favorecer la autogamia al final de la antesis cuando la corola y los estambres se desprenden del gineceo posibilitando el depósito de polen sobre el estigma y la fertilización de los óvulos (Lloyd y Schoen 1992), ya que cuanto más curvo y angosto es el tubo floral, más posibilidades habrá de que se deposite polen sobre el estigma al desprenderse la corola y los estambres. En este sentido, en otro estudio en islas recientemente colonizadas por *N. glauca* se observó que la presencia de flores con morfología “arrugada” (esto es, un morfotipo distinto que tiene todas las partes de las flores normales y produce néctar, pero en el que la corola se encuentra severamente plegada. Ver Figura 9) estuvo asociada a una mayor frecuencia de eventos de autogamia espontánea, sugiriendo que esta forma floral facilitaría la auto-polinización (Schueller 2004). Alternativamente, teniendo en cuenta que a través de experimentos con flores artificiales se ha encontrado que la curvatura de la corola mejora el manejo de las flores durante las visitas por parte del esfíngido *Manduca sexta* (Campos et al. 2015), las corolas curvas en las poblaciones de Mallorca también podrían favorecer el acceso a las flores y su polinización por parte del visitante ocasional *Macroglossum stellatarum*. Así mismo, las corolas más angostas facilitarían el contacto de la probóscide de este esfíngido con las piezas fértiles de la flor. En cuanto al tamaño floral, las corolas de tamaños intermedios podrían reducir el costo energético en estas plantas que casi no interactúan con polinizadores locales y, a la vez atraer a un potencial polinizador como el esfíngido colibrí.



Figura 9. Flores de *Nicotiana glauca* de morfología arrugada. Imagen obtenida de Schueller (2004).

En general, los resultados sugieren que habría un ajuste entre los polinizadores (o su ausencia) y los rasgos florales estudiados (esto es, forma y tamaño) que tendría una alta incidencia en la variación entre las poblaciones con diferentes contextos de polinización. Este ajuste con los polinizadores locales fue también hallado para la longitud de la corola en poblaciones nativas de *N. glauca* (Nattero y Cocucci 2007, Nattero et al. 2011) y en poblaciones introducidas de EEUU (Schueller 2007), todas polinizadas por picaflones. Sin embargo, esta es la primera vez que se evalúa y detecta variación en la forma y el tamaño de la corola en esta especie incluyendo poblaciones polinizadas por aves Nectariniidae y poblaciones sin polinizadores, encontrando para ambos rasgos una asociación con los contextos de polinización.

4.2 Selección Fenotípica

El estudio de la selección fenotípica muestra que en general la oportunidad de selección para las diferentes poblaciones fue mayor a través de la proporción de fructificación que a través del número de semillas por fruto. Teniendo en cuenta que la proporción de fructificación constituye una estimación de la intensidad de la polinización, es decir, el número de flores polinizadas, mientras que el número de semillas por fruto da una estimación de la calidad de la polinización, este resultado indicaría que dentro de la mayoría de las poblaciones estudiadas la intensidad de polinización es más variable entre plantas de *N. glauca* que la calidad de polinización. Sin embargo, contrariamente a lo hallado para la oportunidad de selección, se encontró mayor cantidad de gradientes significativos mediante el número de semillas por fruto que mediante la proporción de fructificación. Es decir que la selección actuó en mayor medida a través de la calidad de la polinización. Por otra parte, las poblaciones donde los gradientes fueron significativos no siempre coincidieron con aquellas que tuvieron mayor oportunidad de selección, a excepción de lo hallado para las poblaciones nativas de Embarcación y Piedra Pintada a través de la proporción de fructificación.

Los resultados mostraron gradientes de selección significativos (lineales y/o cuadráticos) para el CP1 y el CP2 que definen la forma floral, y para el tamaño del centroide en algunas de las poblaciones nativas e introducidas estudiadas. De manera similar, otros trabajos han encontrado selección sobre la forma floral en diferentes especies polinizadas por insectos (Gómez et al. 2006, 2008, Benítez-Vieyra et al. 2009, Nattero et al. 2010b). Por su parte, la selección sobre el tamaño floral, aunque medido a

través de rasgos morfométricos lineales, ha sido previamente reportada para *Nicotiana glauca* en el rango nativo (Nattero et al. 2010a) e invadido (Schueller 2007).

La selección hallada para la forma y el tamaño floral en esta Tesina se hizo evidente a través de diferentes medidas de éxito reproductivo femenino. A través de la proporción de fructificación sólo se encontró evidencia de selección en las poblaciones nativas, lo que podría sugerir que los picaflores ejercen mayor presión selectiva que los otros dos contextos de polinización estudiados, al menos en cuanto al número de flores polinizadas, o sea, a la intensidad de la polinización. Teniendo en cuenta que, a diferencia de las poblaciones introducidas, las plantas de las poblaciones nativas dependen fuertemente de la polinización cruzada mediada por picaflores (Issaly 2015), la selección hallada en dichas poblaciones podría ser consecuencia de la limitación por polinizadores en estos sitios. Sin embargo, por otra parte, a través del número de semillas por fruto se encontró evidencia de selección en poblaciones con los tres contextos de polinización estudiados. Esto sugiere que no sólo los polinizadores locales, sino también su ausencia, actuarían como una fuerza selectiva sobre los rasgos estudiados a través de la calidad de polinización.

Teniendo en cuenta ambas medidas de éxito reproductivo, tanto los rasgos seleccionados como los patrones de selección difirieron entre las poblaciones estudiadas. El CP1, que se asoció con cambios en el ancho de la corola, fue seleccionado sólo en las dos poblaciones de Mallorca sin polinizadores, en forma direccional en una de ellas y en forma estabilizadora en la otra. El CP2, asociado con cambios en el ancho y la curvatura de la corola, fue objetivo de la selección en cuatro de las siete poblaciones estudiadas, en forma direccional en tres poblaciones (positiva en una población nativa y negativa en una población introducida de cada contexto), y en forma estabilizadora en la población restante. Por su parte, el tamaño del centroide fue blanco de la selección en tres poblaciones, de forma direccional negativa en dos poblaciones nativas y de forma direccional positiva en una población introducida de Mallorca.

De acuerdo a lo esperado para las poblaciones del área de origen con flores polinizadas por picaflores, en Piedra Pintada mediante selección estabilizadora fueron favorecidas corolas más rectas y anchas que la forma consenso. Por su parte, si bien en Embarcación se favorecieron corolas más angostas y curvas que la media poblacional,

la forma seleccionada fue más recta y ancha que la forma consenso. Los tubos florales más curvos podrían ser seleccionados en Embarcación por el picaflor *Helioaster furcifer*, de pico curvo, dado que esta especie se distribuye en el área geográfica en la cual se encuentra esta población (datos en eBird, <http://www.ebird.org>) y ha sido reportada como polinizador de *N. glauca* en sitios cercanos (Nattero et al. 2011).

En la población sudafricana de Buffels river polinizada por aves Nectariniidae se encontró que plantas con corolas más rectas (contrariamente a lo esperado) y anchas que la media poblacional y que la forma consenso poseen mayor éxito reproductivo. La selección a favor de corolas más anchas podría ser el resultado de la presión selectiva ejercida por *Nectarinia famosa*, el polinizador más frecuente en esta población, el cual posee un pico relativamente ancho (5,7 mm). Alternativamente, dado que cuando las aves perchan hacen palanca con el pico para acceder al néctar y la flor puede romperse, las flores anchas podrían ser más exitosas en este tipo de visita porque sufrirían menos el efecto palanca al ser visitadas. Por su parte, la selección a favor de corolas más rectas en este sitio podría explicarse por el hecho de que las tres especies de aves Nectariniidae que visitan las flores de *N. glauca* también lo hacen en vuelo suspendido (Geerts y Pauw 2009), y dado que las corolas rectas permiten un correcto acceso a las flores en este tipo de visitas (Westerkamp 1990, Temeles et al. 2009), estas aves podrían ejercer una presión selectiva similar a la de los picaflores.

Por su parte, entre las poblaciones de Mallorca, en Biniamar, se encontró selección estabilizadora sobre el CP1 favoreciendo a las plantas con flores ligeramente angostas, tal como se esperaba. Sin embargo, se detectó selección direccional negativa (aunque marginalmente significativa) sobre el CP2, favoreciendo plantas con corolas más anchas y rectas que la media poblacional. De igual modo, en Génova, contrariamente a lo esperado, se encontró que individuos con formas florales más anchas que la media poblacional fueron favorecidos.

En relación a la selección sobre el tamaño floral, en la población nativa de Embarcación (EM), donde *Sappho sparganura*, un picaflor de pico corto, fue el único polinizador observado, se favorecieron las flores con corolas más pequeñas (i.e. bajos valores de tamaño del centroide). En esta población, el promedio poblacional para el tamaño del centroide se corresponde con un valor de longitud de la corola (media =

33,80 mm) mayor que el del pico de *S. sparganura*, lo cual explicaría el patrón de selección (direccional negativa) hallado para este rasgo.

Por su parte, en la población nativa de Tupiza (TU), donde se observó al picaflor gigante como único polinizador, también se favorecieron las plantas con corolas más pequeñas que la media poblacional. Sin embargo, aquí se seleccionaron flores de mayor tamaño que en Embarcación. En este caso, el promedio poblacional para el tamaño del centroide se corresponde con valores de longitud (media = 45,20 mm) y ancho (media = 7,90 mm) mayores que los de las dimensiones del pico de *Patagona gigas*, lo cual explicaría el patrón de selección (direccional negativa) hallado para este rasgo. El patrón de selección encontrado para el tamaño floral es opuesto al observado por Nattero y colaboradores (2010a) en una población cercana a la de Tupiza también polinizada por el picaflor *P. gigas*, donde fueron favorecidas flores con corolas más largas, una señal de la posible variabilidad en los patrones de selección, dependiendo de características locales y de la variación interanual.

En las poblaciones de Mallorca donde no hay presencia de polinizadores se esperaba que se seleccionaran tamaños de corola pequeños que minimizaran el costo energético de las plantas. Sin embargo, en Biniamar (BI) se favorecieron plantas con tamaños de corola grandes. Esto puede deberse a que flores más grandes, y por ende con mayor cantidad de néctar, podrían ser seleccionadas por el esfíngido y potencial polinizador *Macroglossum stellatarum*. Además, flores más largas pueden ser favorecidas porque estructuralmente permiten frutos más grandes y, por lo tanto, más semillas por fruto. Esto podría mejorar el éxito de la dispersión y la probabilidad de colonización de las plantas introducidas en estos ambientes sin polinizadores (Shueller et al. 2007).

No todos los patrones de selección hallados coincidieron con lo esperado. Esto podría deberse a que nuestras estimaciones de la selección natural para *N. glauca* se basan en un solo episodio de reproducción en una especie perenne, y no en el éxito reproductivo de toda su vida (Endler 1986). No obstante, la mayoría de los patrones encontrados tanto con relación a la forma como al tamaño floral en los sitios con polinizadores sugieren que la evolución de estos rasgos ocurre en respuesta a la selección ejercida por las aves polinizadoras a través de un mayor ajuste planta-polinizador, más que a través de un aumento en el atractivo de las flores.

5. CONCLUSIONES

Los resultados indican que tanto la forma como el tamaño de la corola de *N. glauca* varían entre poblaciones ajustándose al contexto de polinización de cada una de ellas, y que son rasgos sujetos a selección fenotípica, tanto en poblaciones nativas como en poblaciones introducidas en sitios con y sin polinizadores. Mientras que las diferencias en la forma y el tamaño floral halladas entre los diferentes contextos de polinización estuvieron de acuerdo con las expectativas, los patrones de selección encontrados no siempre lo estuvieron. Esto seguramente se debe a que la selección puede ser variable en el tiempo, de acuerdo a las condiciones de cada año (Benítez-Vieyra et al. 2012), y aquí se obtuvo una "instantánea" de lo que ocurre de una generación a la siguiente, mientras que las diferencias en los rasgos florales estudiados serían el producto de la selección acumulada en muchos años.

Los resultados de este trabajo sugieren, por un lado, que la forma y el tamaño floral serían rasgos asociados al ajuste planta-polinizador o a la capacidad de autogamia, importantes para determinar el éxito reproductivo femenino en algunas de las poblaciones estudiadas de *N. glauca*. Por otro lado, el hecho de que la selección sobre los rasgos florales estudiados esté actuando no sólo en las poblaciones nativas sino también en el rango invadido y con diferentes patrones sugiere que la introducción de esta especie en nuevos ambientes involucra cambios en las presiones selectivas que actúan sobre sus rasgos florales causando su evolución adaptativa (Sakai et al. 2001, Murren et al. 2009, Molina-Montenegro et al. 2011). Y, finalmente, la selección fenotípica hallada en poblaciones introducidas que no interactúan con los polinizadores locales sugiere que la selección en el nuevo hábitat ocurre no sólo en respuesta a la presencia de un nuevo elenco de polinizadores sino también en respuesta a su ausencia o escasez (Hierro et al. 2005). Sin embargo, los bajos valores de oportunidad de selección y los escasos gradientes significativos hallados sugieren que las plantas de *N. glauca* no estarían desarrollando adaptaciones morfológicas a los polinizadores locales o a su ausencia en todos los sitios, al menos en el momento estudiado. Esto podría deberse a que estos rasgos ya se encuentran adaptados al contexto de polinización de cada población, como lo indican las diferencias en la forma y el tamaño floral encontradas entre los diferentes contextos, su ajuste a cada uno de ellos, y su rango de variación acotado en la mayoría de las poblaciones.

La confirmación de que la variación poblacional y entre contextos de polinización en los rasgos florales estudiados es promovida por la selección natural divergente aguarda la demostración de la base genética de la variación fenotípica de las flores en esta especie. No obstante, los estudios realizados en esta Tesina aportan fuertes evidencias que sugieren que los diferentes polinizadores y/o su ausencia son, al menos en parte, la causa de la diferenciación fenotípica floral en esta especie de planta a lo largo de su rango nativo de distribución y los ambientes invadidos, probablemente como resultado de la adaptación local de rasgos florales relevantes para la polinización como la forma y el tamaño. Teniendo en cuenta que la habilidad de una especie para responder a la selección natural y adaptarse en los nuevos ambientes podría favorecer el éxito de su invasión (Lee 2002, Murren et al. 2009, Molina-Montenegro et al. 2011), la versatilidad encontrada en *N. glauca* para cambiar según el contexto de polinización facilitaría dicho proceso.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aizen MA, Morales CL & Morales JM (2008) Invasive mutualists erode native pollination webs. *PLOS Biology* 6: 396-403.
- Anderson B & Johnson SD (2009) Geographical covariation and local convergence of flower depth in a guild of fly-pollinated plants. *New Phytologist* 182: 533-540.
- Arnold SJ & Wade MJ (1984) On the measurement of natural and sexual selection: theory. *Evolution* 38: 709-719.
- Baker HG (1955) Self-compatibility and establishment after "long-distance" dispersal. *Evolution* 9:347-348.
- Barrett SCH (2011) Why reproductive systems matter for the invasion biology of plants. In *Fifty years of invasion ecology: The legacy of Charles Elton* (D.M. Richardson, ed, Wiley-Blackwell, Oxford, UK: pp. 195-210.
- Benítez-Vieyra S, Medina AM & Cocucci AA (2009) Variable selection patterns on the labellum shape of *Geoblasta pennicillata*, a sexually deceptive orchid. *Journal of Evolutionary Biology*, vol. 22 (pg. 2345-2362)
- 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
- Bossdorf O, Auge H, Lafuma L, Rogers WE, Siemann E & Prati D (2005) Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia* 144: 1-11.
- Brodie E III, Moore A & Janzen F (1995) Visualizing and quantifying natural selection. *Trends in Ecology & Evolution* 10(8):313–318
- Bromilow C (2001) *Problem Plants of South Africa*. Briza Publications, Pretoria, pp.83.
- Campos EO, Bradshaw HD & Daniel TL (2015) Shape matters: corolla curvature improves nectar discovery in the hawkmoth *Manduca sexta*. *Functional Ecology* 29: 462–468.
- Catálogo español de especies exóticas invasoras (2013). Recuperado de <http://www.mapama.gob.es/> [Fecha de consulta: Septiembre de 2017]
- Charles H & Dukes JS (2007) Impacts of invasive species on ecosystem services. En: Nentwig W (Ed) *Biological invasions*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. pp. 217-237.

- Charlin J & Hernández Llosas MI (2016) Morfometría geométrica y representaciones rupestres: explorando las aplicaciones de los métodos basados en landmarks. *Arqueología* 22 (1), 103–125.
- Darwin C (1859) *The origin of species*. Oxford University Press.
- eBird. Disponible en <http://ebird.org/content/ebird>. [Consultada en diciembre de 2017]
- Ellstrand NC & Schierenbeck KA (2000) Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences*. U. S. A. 97, 7043–7050.
- Endler JA (1986) *Natural selection in the wild*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Faegri K & Van der Pijl L (1979) *The principles of pollination ecology*, 3 edn. Pergamon Press, Oxford.
- Fenster C (1991) Selection on floral morphology by hummingbirds. *Biotropica* 23:98–101.
- Fenster CB & Ritland K (1994) Evidence for natural selection on mating system in *Mimulus* (Schrophulariaceae). *International Journal of Plant Science* 155: 588–596.
- Geerts S & Pauw A (2009) African sunbirds hover to pollinate an invasive hummingbird-pollinated plant. *Oikos* 118: 573-579.
- Gómez JM, Perfectti F & Camacho JPM (2006) Natural selection on *Erysimum mediohispanicum* flower shape. Insights into the evolution of zygomorphy. *The American Naturalist* 168, 531–545.
- Gómez JM, Bosch J, Perfectti F, Fernández JD, Abdelaziz M, Camacho JPM (2008) Spatial variation in selection on corolla shape in a generalist plant is promoted by the preference patterns of its local pollinators. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 275: 2241–2249.
- Goodspeed TH (1954) *The genus Nicotiana*. *Chronica Botanica*, Waltham, Massachusetts, USA.
- Heredia J (2011) *Picaflores de Argentina*. Ed. L.O.L.A
- Herrera CM, Castellanos MC & Medrano M (2006) Geographical context of floral evolution: towards an improved research programme in floral diversification. En: Harder LD & Barrett SCH (eds) *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press, Oxford. pp. 278-294.

- Hierro JL, Maron JL & Callaway RM (2005) A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *Journal of Ecology* 9: 5–15.
- Hockey PAR, Dean WRJ & Ryan PG (2005) Roberts' birds of Southern Africa. The Trustees of the John Voelcker Bird Book Fund, Cape Town.
- Issaly A (2015) Sistema reproductivo de *Nicotiana glauca* en poblaciones nativas e introducidas con diferentes contextos de polinización. Tesina de grado de Biología. Universidad Nacional de Córdoba.
- Jain SK (1976) The evolution of inbreeding in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 7:469–495.
- Kiers ET, Palmer TM, Ives AR, Bruno JF & Bronstein JL (2010) Mutualisms in a changing world: an evolutionary perspective. *Ecology Letters* 13:1459–1474.
- Klingenberg CP (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353–357.
- Lande R & Arnold SJ (1983) The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210- 1226.
- Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 386-391.
- Lloyd DG & Schoen DJ (1992) Self- and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences*: 358-369.
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M & Bazzaz FA (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 10: 689-710.
- Medel R, Botto-Mahan C & Kalin-Arroyo M (2003) Pollinator-mediated selection on the nectar guide phenotype in the Andean monkey flower, *Mimulus luteus*. *Ecology* 84: 1721-1732.
- Memmott J & Waser NM (2002) Integration of alien plants into a native flower-pollinator visitation web. *Proceedings of the Royal Society of London B* 269: 2395-2399.
- Mitchell RJ, Irwin RE, Flanagan RJ & Karron JD (2009) Ecology and evolution of plant–pollinator interactions. *Annals of Botany* 103(9): 1355-1363.
- Moeller DA (2006) Geographic structure of pollinator communities, reproductive assurance, and the evolution of self-pollination. *Ecology* 87: 1510-1522.

- Molina-Montenegro MA, Quiroz CL, Torres-Díaz C & Atala C (2011) Functional differences in response to drought in the invasive *Taraxacum officinale* from native and introduced alpine habitat ranges. *Plant Ecology & Diversity* 4: 37–44.
- Morales CL & Traveset A (2009) A meta-analysis of impacts of alien vs. native plants on pollinator visitation and reproductive success of co-flowering native plants. *Ecology Letters* 12: 716-728.
- Morrissey MB & Sakrejda K (2013) Unification of regression based methods for the analysis of natural selection. *Evolution* 67:2094–2100.
- Murren CJ, Chang CC & Dudash MR (2009) Patterns of selection of two North American native and nonnative populations of monkeyflower (Phrymaceae). *New Phytologist* 183: 691-701.
- Nattero J & Cocucci AA (2007) Geographical variation in floral traits of the tree tobacco in relation to its hummingbird pollinator fauna. *Biological Journal of the Linnean Society* 90: 657-667.
- Nattero J, Sérsic AN & Cocucci AA (2010a) Patterns of contemporary phenotypic selection and flower integration in the hummingbird-pollinated *Nicotiana glauca* between populations with different flower-pollinator combinations. *Oikos* 119: 852-863.
- Nattero J, Cocucci AA & Medel R (2010b) Pollinator-mediated selection in a specialized pollination system: matches and mismatches across populations. *Journal of Evolutionary Biology* 23: 1957–1968
- Nattero J, Sérsic AN & Cocucci AA (2011) Geographic variation of floral traits in *Nicotiana glauca*: Relationships with biotic and abiotic factors. *Acta Oecologica* 37: 503-511.
- Olesen JM, Eskildsen LI & Venkatasamy S (2002) Invasion of pollination networks on oceanic islands: importance of invader complexes and endemic super generalists. *Diversity & Distributions* 8: 181-192.
- Ollerton J, Watts S, Connerty S, Lock J, Parker L, Wilson I, Schueller SK, Nattero J, Cocucci AA, Izhaki I, Geerts S, Pauw A & Stout JC (2012) Pollination ecology of the invasive tree tobacco *Nicotiana glauca*: comparisons across native and non-native ranges. *Journal of Pollination Ecology* 9: 85-95.
- Pauw A, Stofberg J & Waterman RJ (2009) Flies and flowers in Darwin's race. *Evolution* 63: 268-279.

- Petanidou T, Godfree RC, Song DS, Kantsa A, Dupont YL & Waser NM (2012) Self-compatibility and plant invasiveness: Comparing species in native and invasive ranges. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 14: 3-12.
- R Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Richardson DM, Allsopp N, D'Antonio CM, Milton SJ & Rejmanek M (2000) Plant invasions - the role of mutualisms. *Biological Reviews* 75: 65-93.
- Rohlf FJ & Slice DE (1990) Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology* 39: 40-59.
- Sakai A, Allendorf F, Holt JS, Lodge DM, Molofsky J, With KA, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC, Mc Cauley DE, O'Neill P, Parker IM, Thompson JN & Weller SG (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 32: 305–332.
- Schueller SK (2002) Hummingbird pollination and floral evolution of introduced *Nicotiana glauca* and native *Epilobium canum*: California island–mainland comparisons. Dissertation. University of Michigan, Ann Arbor, MI.
- Schueller SK (2004) Self-pollination in island and mainland populations of the introduced hummingbird- pollinates. *American Journal of Botany* 91: 672-681.
- Schueller SK (2007) Island–mainland difference in *Nicotiana glauca* (Solanaceae) corolla length: a product of pollinator mediated selection? *Evolutionary Ecology* 21: 81–98.
- Sexton JP, McKay JK & Sala A (2002) Plasticity and genetic diversity may allow saltcedar to invade cold climates in North America. *Ecological Applications* 12: 1652-1660.
- Slice DE (2001) Landmark coordinates aligned by Procrustes analysis do not lie in Kendall's shape space. *Systematic Biology* 50(1): 141–149.
- Sokal RR & Rohlf FJ (1981) *Biometry*. 2nd ed. New York: Freeman.
- Temeles EJ, Koulouris CR, Sander SE & Kress WJ (2009) Effect of flower shape and size on foraging performance and trade-offs in a tropical hummingbird. *Ecology* 90:1147–1161.
- Traveset A & Richardson DM (2014) Mutualistic interactions and biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45: 89–113.

- Van der Molen S, Martínez Abadías N & González José R (2007) Introducción a la Morfometría Geométrica. Curso Teórico-Práctico.
- Vilà M, Bartomeus I, Dietzsch AC, Petanidou T, Steffan-Dewenter I, Stout JC & Tscheulin T (2009) Invasive plant integration into native plant–pollinator networks across Europe. *Proceedings of the Royal Society of Botany* 276: 3887–3893.
- Westerkamp C (1990) Bird-flowers hovering versus perching exploitation. *Botanica Acta* 103: 366-371.
- Worldwide Bioclimatic Classification System (1996-2015) Recuperado de <http://www.globalbioclimatics.org/> [Fecha de consulta: Septiembre de 2017]
- Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD & Fink WL (2004) *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Elsevier Inc.
- Zuur A, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA & Smith GM (2009) *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer, New York NY.
- Wood SN. mgcv 1.3. R package. 2008. <http://cran.r-project.org>.