



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Carrera de Ciencias Biológicas

Evolución de la longitud del estilo en Angiospermas: su relación con el sistema reproductivo y la competencia polínica

Tesinista: Constanza Castellano

Directora: Marina Strelin

Co-Directora: Andrea Cosacov

Firma:.....

Firma:.....

Firma:.....



CONICET



Universidad
Nacional
de Córdoba

I M B I V

Evolución de la longitud del estilo en Angiospermas: su relación con el sistema reproductivo y la competencia polínica

Tribunal Examinador

Nombre y Apellido: Firma:

Nombre y Apellido: Firma:

Nombre y Apellido: Firma:

Calificación:

Fecha:

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
HIPÓTESIS.....	5
OBJETIVOS.....	6
-General.....	6
-Específicos.....	6
MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
-Sistema de estudio y obtención de datos.....	7
- Relaciones Filogenéticas.....	7
- Análisis estadístico.....	8
RESULTADOS.....	12
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN.....	18
AGRADECIMIENTOS.....	22
BIBLIOGRAFÍA.....	23

RESUMEN

La competencia de tubos polínicos es un mecanismo de selección sexual presente en angiospermas, donde el estilo funciona como un filtro que selecciona granos de polen con distintas velocidades de germinación. Así, los tubos polínicos que crecen más lento tienen menor probabilidad de fertilizar los óvulos. Esta competencia impacta de manera positiva en el vigor de las plantas de la siguiente generación. En un trabajo donde analizaron la relación entre la longitud del estilo y el sistema de autoincompatibilidad, encontraron que en especies autoincompatibles, donde los granos de polen que germinan tienen distinto origen genético, las longitudes de los estilos eran mayores en comparación con las autocompatibles, sugiriendo que la selección sexual avanza hacia un óptimo adaptativo de estilos más largos en estas especies. En el presente trabajo se analizó la relación entre la longitud del estilo y el sistema de autoincompatibilidad en 151 especies de angiospermas en un contexto filogenético. Se utilizaron modelos estadísticos que contemplan la falta de independencia debida a ancestría filogenética compartida para establecer el efecto del sistema reproductivo sobre la longitud del estilo. Para eliminar la variabilidad explicada por la correlación ontogenética existente entre el tamaño de la flor y el de las piezas fértiles, se realizaron regresiones de eje mayor con la longitud del perianto. Además, se analizó la variación no sólo del rasgo de interés, el estilo, sino también, la variación del estambre como variable control, ya que este rasgo no estaría sujeto al proceso de selección sexual postulado. El modelo que mejor explicó la estructura de correlación, tanto para la longitud del estilo como para la del estambre, corresponde a un proceso evolutivo de Ornstein-Uhlenbeck, por lo tanto, la evolución de las estructuras fértiles no sólo está explicada por evolución estocástica, sino que está sujeta a otras presiones selectivas que ejercen selección estabilizadora sobre el patrón de variación de dichos rasgos florales. Los resultados obtenidos muestran que las especies autoincompatibles presentan estilos más largos y menos varianza en la longitud estilar que las especies autocompatibles, mientras que no hubo diferencias en la longitud del estambre en

relación al sistema de autoincompatibilidad. Estos resultados sugieren que la selección sexual en plantas autoincompatibles habría llevado a la optimización del largo del estilo, probablemente como una estrategia para mejorar el mecanismo selectivo entre granos de polen de distinto origen genético.

Palabras clave: selección sexual, estilo, tubo polínico, autoincompatibilidad.

INTRODUCCIÓN

La teoría de la selección sexual, formulada por Darwin (1871), postula que la selección favorece rasgos que aumentan el éxito reproductivo de los machos, otorgándoles una ventaja competitiva, con respecto a otros machos, en su lucha por lograr copular con las hembras (las astas de los alces o la cola del pavo real se encuentran entre dichos rasgos). Si bien una versión estricta de la teoría aplica únicamente a organismos con dimorfismo sexual (casi todos los animales), la versión abarcativa propone que la selección sexual también ocurre en organismos hermafroditas, entre ellos muchas especies de angiospermas. Por ende, al igual que los animales, las angiospermas presentarían rasgos sujetos a selección sexual (ej. Cocucci *et al.* 2014).

La competencia relacionada a la selección sexual en angiospermas puede ocurrir en etapas previas o posteriores al depósito de polen sobre los estigmas (Lankinen y Karlsson 2015). En cuanto a la primera, ésta se encuentra mediada por diferencias entre plantas en el atractivo de sus flores o inflorescencias (esto resulta en distintas tasas de visita por polinizadores, por ende en diferentes cantidades de polen transportado desde las anteras a los estigmas). En cuanto a la selección sexual que ocurre una vez que los granos de polen arriban a los estigmas, la misma estaría mediada por la competencia entre los granos de polen depositados sobre el estigma, dicho de manera más precisa, entre los tubos polínicos que avanzan hacia el ovario a través del estilo (Mulcahy y Mulcahy 1987; Arnold 1994; Moore y Pannell 2011). Esta “competencia polínica” opera de manera similar a la competencia espermática en animales, e impacta de manera positiva en el vigor de las plántulas (e.g. Björkman 1995). Por lo tanto, se espera la evolución de rasgos florales que fomenten la competencia polínica (por ejemplo, Armbruster *et al.* 1995; Armbruster 1996).

La longitud del estilo es un rasgo que podría estar favoreciendo la selección sexual en plantas con flores, ya que este es el “terreno de competencia” a través del cual los tubos polínicos crecen hacia el ovario (Grant 1995; Lankinen y Karlsson 2015; Lankinen y Skogsmyr 2001; Ramesha *et al.* 2011). Los tubos

polínicos que crecen más lento, o que no son capaces de sostener su crecimiento a lo largo del estilo, tienen menor probabilidad de alcanzar los óvulos y fertilizar la ovocélula. Así, el estilo funciona como un filtro que permite seleccionar entre granos de polen con distintas velocidades de crecimiento (Willson y Burley 1983; Wilson *et al.* 1994). A mayor longitud de estilo, los granos de polen estarían “forzados a correr una carrera más larga”, lo que fomentaría una selección sexual más rigurosa (Mulcahy y Mulcahy 1975; Snow y Spira 1991; Eberhard 1996). De esta manera, se espera que la selección natural haya favorecido un incremento en la longitud de los estilos en angiospermas.

Ramesha y colaboradores (2011) presentan evidencia acerca de un incremento en la longitud de los estilos en angiospermas mediado por selección sexual. Los autores muestrearon una cantidad moderada de especies de angiospermas pertenecientes a distintos grupos taxonómicos y encontraron que, en especies autoincompatibles, donde se espera competencia entre granos de polen de distinto origen genético, la distribución de la longitud del estilo dentro de cada especie estaba sesgada hacia estilos más largos. En especies autocompatibles no se evidenció este patrón, resultado que se debería a que en estas especies los tubos polínicos tendrían una base genética común (más homogénea) y habría menor oportunidad de selección a lo largo del estilo dado que su velocidad de crecimiento sería similar (Ramesha *et al.* 2011). Este análisis, que fue realizado a nivel intraespecífico en varias especies, sugiere que la longitud del estilo en angiospermas autoincompatibles se encuentra bajo selección, como mecanismo fomentador de la competencia entre granos de polen de distinto origen genético.

En esta tesina se propuso retomar la pregunta formulada por Ramesha *et al.* (2011), para abordarla desde una perspectiva macroevolutiva, con el incremento considerable del número de especies de plantas y con la inclusión de modelos que permiten poner a prueba asociaciones entre los rasgos de los organismos dando cuenta su contexto filogenético (más explícitamente, del hecho de que, al estar los organismos emparentados en mayor o menor medida, los

datos recopilados para un estudio de este tipo no son observaciones independientes). Esto representa un mejoramiento del abordaje metodológico del citado trabajo (Ramesha *et al.* 2011) ya que no tuvo en cuenta el contexto filogenético de las especies analizadas.

La hipótesis general del trabajo plantea que estilos largos actúan como filtros rigurosos en la selección de granos de polen de distinto origen genético, la selección sexual habría conllevado la optimización (*i.e.* ajuste de un fenotipo mediado por selección natural) de la longitud del estilo en especies autoincompatibles que en especies autocompatibles, en las cuales el origen y por ende la calidad de los granos de polen que germinan sobre el estigma serían más homogéneos. Otras estructuras florales no involucradas en el crecimiento de los tubos polínicos, como los estambres, no estarían sujetas a esta optimización, independientemente del sistema de autoincompatibilidad. De esta hipótesis se derivan las siguientes predicciones:

- 1) El valor promedio de la longitud del estilo será mayor en especies autoincompatibles que en autocompatibles. A su vez, debido a que un mayor valor promedio en la longitud del estilo es resultado de un proceso de optimización, la longitud del estilo en especies autoincompatibles presentará menor varianza que en especies autocompatibles.
- 2) El valor promedio de la longitud del estambre no diferirá entre especies autoincompatibles y autocompatibles, ya que no es una estructura floral involucrada en el crecimiento de los tubos polínicos. La varianza en la longitud del estambre tampoco diferirá entre especies autoincompatibles y autocompatibles.

OBJETIVO GENERAL

- Analizar la relación entre longitud del estilo y el nivel autoincompatibilidad (autocompatible versus autoincompatible) en angiospermas en un contexto filogenético.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Compilar información bibliográfica de medidas florales (longitud del estilo, del estambre y de las piezas del perianto) y nivel de autoincompatibilidad (autocompatible versus autoincompatible) en especies representativas de distintos linajes de angiospermas.
- Establecer, mediante modelos estadísticos que contemplen la pseudoreplicación debida a ancestría filogenética compartida, el efecto del sistema de autoincompatibilidad sobre la media y varianza de la longitud del estilo y la del estambre en angiospermas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistema de estudio y obtención de datos

Se recopilaron datos del nivel de autoincompatibilidad (autocompatible = AC; autoincompatible = AI) de 151 especies de plantas con flores, de publicaciones en revistas indexadas. La muestra es representativa de los distintos linajes de angiospermas, a excepción de los grupos de divergencia más temprana (e.g. Magnolideas) (Fig. 1). Para dichas especies también se obtuvo información del largo del estilo, del estambre y de las piezas del perianto (longitud del pétalo o tépalo). Esa información fue obtenida, en algunos casos, de las respectivas publicaciones, en otros casos, de láminas publicadas en fuentes on-line confiables, por ejemplo Tropicos-Missouri Botanical Garden (<http://www.tropicos.org>) o Flora Argentina (www.floraargentina.edu.ar), como así también de la Flora de la Provincia de Buenos Aires (Cabrera 1963-1970) o de la Flora de Norteamérica de la Universidad de Oxford (Morin 1993), entre otros libros de floras. La longitud de las piezas del perianto fue utilizada como variable correctora del tamaño floral (ver más abajo *Análisis Estadísticos*). Esta corrección se realizó porque el tamaño floral se encuentra sujeto a otros factores selectivos, por ejemplo el tipo de polinizador (Fenster *et al.* 2004), y se espera una correlación ontogenética fuerte entre el tamaño floral y la longitud de las piezas fértiles (Armbruster *et al.* 2014).

Relaciones Filogenéticas

Las relaciones filogenéticas entre las especies recopiladas para este estudio fueron inferidas a partir de la filogenia de Zanne *et al.* (2014) que se muestra en la Fig.1. La misma fue reducida a las 151 especies incluidas en este estudio para la realización de los análisis que se detallan a continuación. La poda o “pruning” de la filogenia se realizó con el empleo de funciones del paquete de R (R Core Team 2017) ‘geiger’ (Harmon *et al.* 2008).

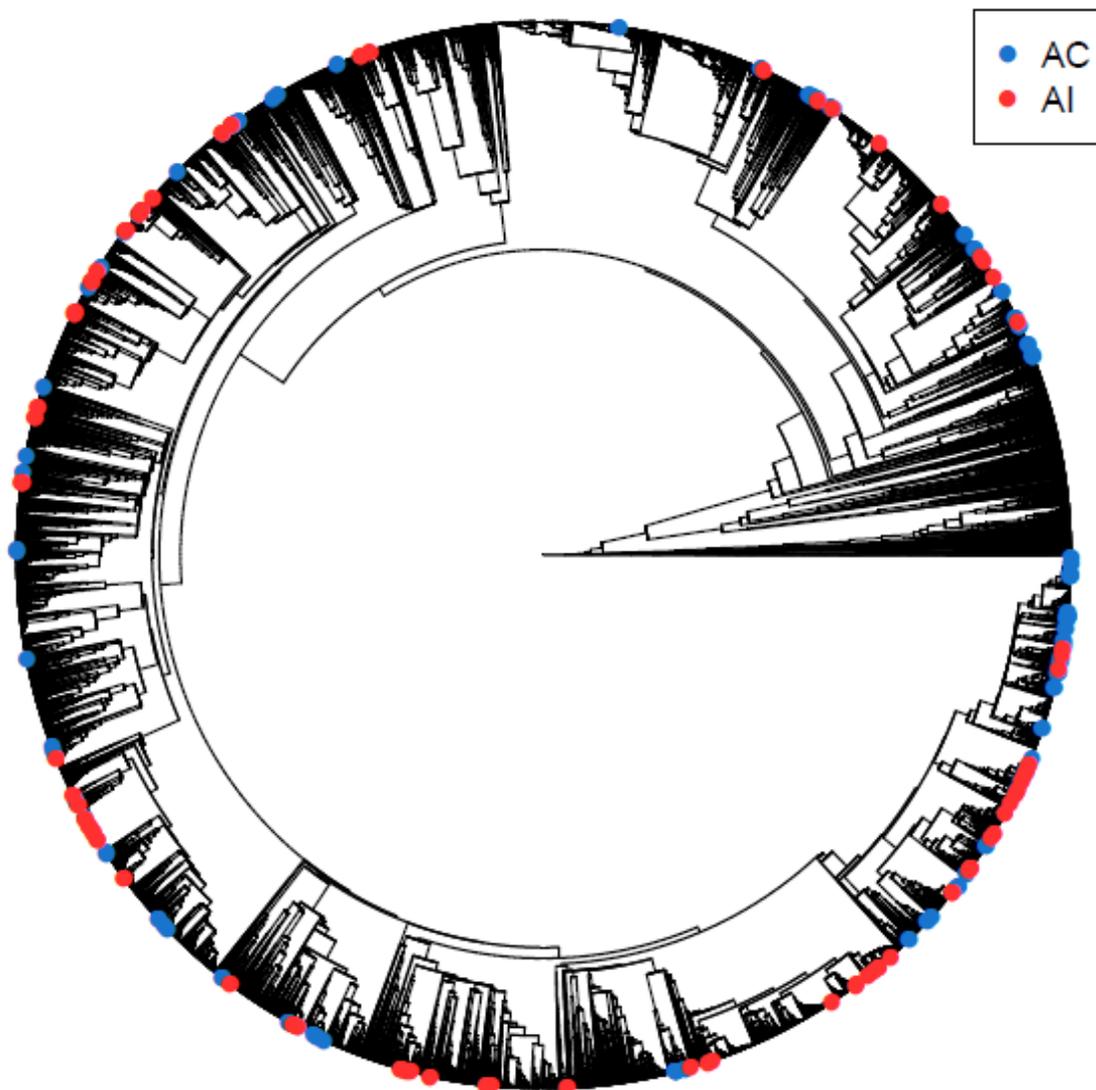


Figura 1. Filogenia de las Angiospermas de Zanne *et al.* 2014. Se muestra la ubicación de las especies muestreadas para esta tesina. El color indica el sistema de autoincompatibilidad (AC: autocompatibles, AI: autoincompatibles).

Análisis estadístico

Una vez construida la matriz final de datos se obtuvieron los estadísticos descriptivos (media, mediana, desvío estándar, coeficiente de variación, valores máximos y mínimos) para las variables medidas (longitud del estilo, estambre y perianto). Posteriormente, para corregir el valor de las piezas fértiles por tamaño de la flor se realizaron regresiones de eje mayor (“*major axis regression*”, Warton

et al. 2006) entre la longitud de las piezas del perianto y la longitud del estilo y entre la longitud de las piezas del perianto y la longitud del estambre. Este tipo de regresión contempla el error asociado tanto a la variable dependiente como a la independiente, lo cual es apropiado porque tanto la longitud del perianto como la de las piezas fértiles fueron medidas con cierto error. Las variables incluidas en la regresión fueron transformadas a su logaritmo, con el fin de homogeneizar el error a lo largo del eje de regresión. Los análisis subsiguientes se realizaron con los residuos de las piezas fértiles correspondientes a cada una de estas regresiones. Las regresiones de eje mayor fueron realizadas con la función *ma* del paquete estadístico de R (R Core Team 2017) ‘*smatr*’ (Warton *et al.* 2012).

Para poner a prueba la significancia estadística del efecto del sistema de autoincompatibilidad sobre la longitud de las piezas fértiles (estilo y estambre) (ver predicciones 1 y 2 en la Introducción), se realizaron regresiones de *mínimos cuadrados filogenéticos generalizados* (conocidas como PGLS por sus siglas en inglés, “*phylogenetic generalized least squares*”, Martins y Hansen 1997). Estos análisis permiten dar cuenta de la correlación entre residuos de distintas especies debida a su historia filogenética compartida. Además, al ser modelos generalizados, permiten la incorporación de heterogeneidad de varianza, y así poner a prueba la hipótesis estadística de que los grupos comparados difieren en la varianza del rasgo en cuestión. Evaluar no sólo la diferencia de medias sino también de varianzas es relevante para la pregunta científica en cuestión, ya que la selección natural no solo afecta a la media sino también a la varianza de un rasgo. En particular, la selección estabilizadora actúa incrementando la media y reduciendo la varianza poblacional (Futuyma 2005). Estos análisis se realizaron mediante la función *gls* del paquete de R ‘*nlme*’ (Pinheiro *et al.* 2018).

El componente aleatorio de los modelos sometidos a prueba (relacionada al modelado de los residuos) contempló dos estructuras de correlación filogenética alternativas para los residuos. La primera, sobre la base del modelo Browniano (BM), puede considerarse como la más sencilla, y asume que los residuos del rasgo en cuestión se correlacionan entre especies según lo esperado bajo

evolución estocástica (*i.e.* deriva genética) del rasgo a lo largo de su historia evolutiva (filogenia) (Martins y Hansen 1997). Una estructura de correlación alternativa que considera el modelo de Ornstein-Uhlenbeck (OU, Hansen 1997), asume que si bien la evolución del rasgo a lo largo de la filogenia tiene un componente estocástico (Browniano), hay un “freno” a esta estocasticidad impuesto por selección estabilizadora sobre el rasgo.

Para elegir el modelo que maximiza la verosimilitud o el *likelihood* de los datos, se tomó como punto de partida al modelo más complejo posible. Éste incluyó la longitud de la pieza fértil en cuestión (estilo o estambre) como variable dependiente, y al sistema de autoincompatibilidad como única variable explicativa, así como también un término que modela la correlación entre residuos según un proceso de OU y un término que modela varianzas diferentes para cada sistema de autoincompatibilidad. Luego redujimos progresivamente la complejidad (cantidad de parámetros) de este modelo en base a resultados de pruebas de cociente de máxima verosimilitud (LRT, *likelihood ratio tests*). La hipótesis estadística nula de estas pruebas postula que la presencia de un determinado parámetro en el modelo (por ejemplo un parámetro que afecta diferencialmente a la varianza de uno de los grupos) no aumenta significativamente la verosimilitud del modelo (por parsimonia, dicho término es considerado un “sobrante”, y se descarta). Este protocolo, que implica la simplificación de un modelo complejo en base a pruebas de cocientes de verosimilitud, se denomina *selección de modelos hacia atrás* (en inglés “*backwards model selection*”) y se encuentra explicado de manera más genérica en Zuur *et al.* (2009).

Además de esta aproximación utilizada para seleccionar el mejor modelo, se usó también un enfoque multimodelos para seleccionar el modelo más adecuado (Grueber *et al.* 2011), basado en el criterio de información de Akaike (AIC, Akaike 1981). Este índice refleja la bondad de ajuste del modelo a los datos (verosimilitud o *likelihood*), penalizando por la cantidad de parámetros (Grueber *et al.* 2011). Un menor valor de AIC, con un $\Delta AIC > 2$ con respecto a otro modelo se considera como prueba suficiente de la superioridad explicativa y predictiva

relativa del primer modelo en relación a los demás modelos evaluados. En este caso, se plantearon los cuatro modelos posibles para cada estructura fértil (estructura de correlación de residuos OU y estructura de correlación de residuos BM, ambos con y sin heterogeneidad de varianza), y se compararon sus respectivos valores de AIC.

Si bien la selección de modelos basada en pruebas de cociente de máxima verosimilitud es un enfoque estadístico frecuentista, es decir, contempla valores P, y el enfoque multimodelos no lo es, se espera que ambos enfoques converjan en la selección del modelo más adecuado.

RESULTADOS

Los estadísticos descriptivos de las piezas florales medidas en ambos grupos de angiospermas se muestran en la Tabla 1.

Pieza Fértil	Compatibilidad	Media (mm)	Mediana (mm)	Máx (mm)	Min (mm)	DE	CV
Estilo	AC	25.27	12.9	145	0.5	28.24	111.75
	AI	24.13	10.5	162	1	30.95	128.23
Estambre	AC	24.93	14.12	110	1.5	24.66	98.92
	AI	22.64	9.5	145	1	29.21	129

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de las piezas fértiles según el sistema de autoincompatibilidad. AC: autocompatibles; AI: autoincompatibles; DE: Desvío Estándar; CV: Coeficiente de variación.

Al analizar el comportamiento de la longitud de las piezas fértiles con respecto a la longitud del perianto, en el total de especies muestreadas, se observa que el 63% de la variabilidad de la longitud del estilo es explicada por la variabilidad de la longitud del perianto ($R^2=0,63$; $P<0,05$; Fig 2a). La variabilidad en la longitud del estambre está explicada en un 78% por la variabilidad de la longitud del perianto ($R^2=0,78$; $P<0,05$; Fig 2b). Esto indica que existe una relación positiva y significativa entre la longitud de las piezas fértiles de las flores con el tamaño del perianto, siendo más estrecha la relación entre el estambre y el perianto.

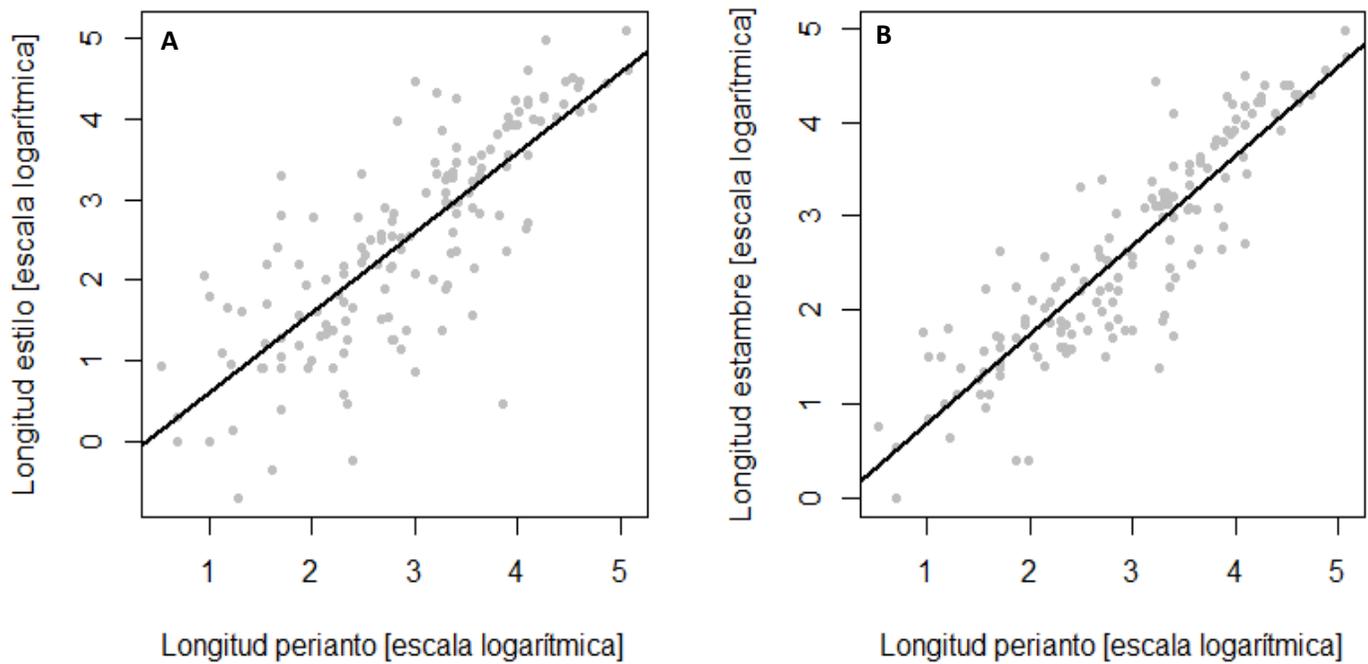


Figura 2. Diagrama de dispersión y recta de regresión lineal de la relación entre la longitud de las piezas fértiles (A) Estilo y (B) Estambre con la longitud del perianto.

La distribución de los residuos obtenidos luego de realizar las regresiones de eje mayor entre la longitud del perianto y la longitud de las piezas fértiles se muestra en los siguientes gráficos de caja (Fig.3).

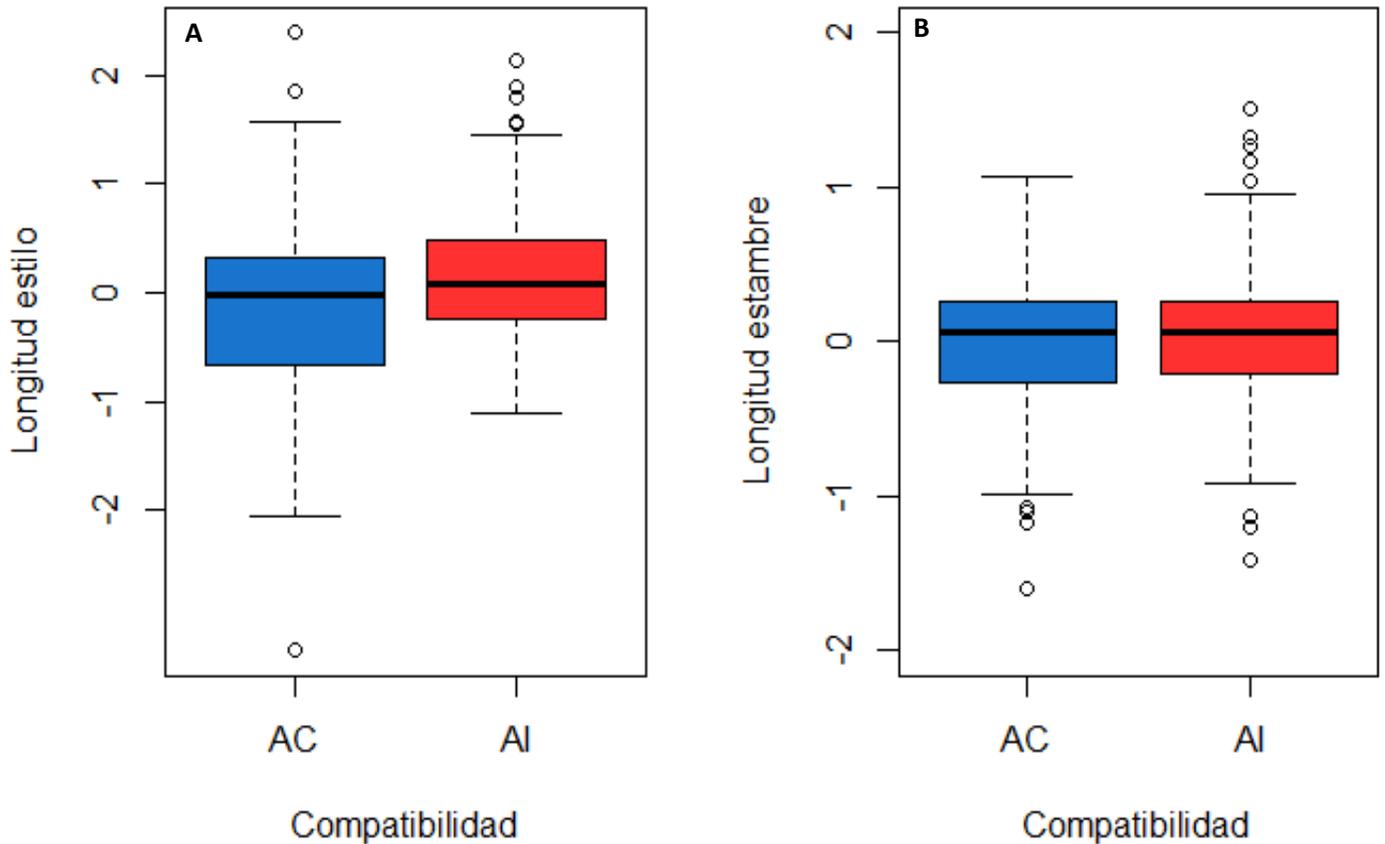


Figura 3. Diagrama de cajas que representa la distribución de los datos de las piezas fértiles (A) Estilo y (B) Estambre) en función del sistema de autoincompatibilidad. AC: autocompatible; AI: autoincompatible.

El modelo que mejor explica los valores observados para la relación entre el sistema de autoincompatibilidad y la longitud del estilo considera que la varianza de este rasgo difiere entre especies autocompatibles y autoincompatibles (Tablas 2 y 3). La varianza de la longitud del estilo en especies autoincompatibles corresponde a un 77,02 % de la varianza de este rasgo en especies autocompatibles. El valor promedio de la longitud del estilo es a su vez mayor en especies autoincompatibles ($t = 2.16$; $P < 0.05$) (Fig. 4). La estructura de correlación

entre residuos corresponde a un proceso evolutivo de Ornstein-Uhlenbeck (estocasticidad + selección estabilizadora). El modelo que mejor explica los valores observados para la relación entre el sistema reproductivo y la longitud del estambre no considera diferentes varianzas para ambos sistemas de autoincompatibilidad (Tablas 2 y 3). El valor promedio de la longitud del estambre no difiere significativamente entre especies autocompatibles y autoincompatibles ($t = 0.04$; $P=0.97$) (Fig. 4). La estructura de correlación entre residuos corresponde a un proceso evolutivo de Ornstein-Uhlenbeck.

Rasgo	Modelo	df	log Lik	P log Lik
Longitud estilo	OU var. het.	5	-180.41	
	OU	4	-183.10	<0.05 (OU var. het./OU)
	BM var.het.	4	-346.94	<0.0001 (OU var. het./ BM var.het.)
Longitud estambre	OU var. het.	5	-113.55	
	OU	4	-113.71	0.56 (OU var. het./OU)
	BM	3	-318.43	<0.0001 (OU/BM)

Tabla 2. Selección de modelos para el efecto del sistema de autoincompatibilidad sobre la longitud de las piezas fértiles. La selección está basada en pruebas de cociente de verosimilitud (*likelihood ratio test*). Los modelos que mejor se ajustan a los datos de cada pieza fértil se muestran en gris. El orden en el que se muestran los modelos se corresponde con el orden en el cual se eliminaron parámetros, poniendo a prueba el aporte de cada parámetro eliminado a la verosimilitud (*likelihood*) del modelo del cual se lo eliminó. BM = estructura de correlación de residuos del rasgo correspondiente a un proceso evolutivo Browniano (estocasticidad); OU = estructura de correlación de residuos del rasgo correspondiente a un proceso evolutivo de Ornstein-Uhlenbeck (estocasticidad + selección estabilizadora); var. het = heterogeneidad de varianzas, las varianzas del rasgo difieren entre especies AC y AI. df, grados de libertad; log Lik, logaritmo de la verosimilitud, P log Lik < 0.05 indica que el modelo más complejo entre los dos comparados explica significativamente mejor los datos. En la columna P log Lik, se indican entre paréntesis los modelos comparados y el valor P correspondiente a dicha comparación.

Rasgo	Modelo	df	AIC	Δ AIC
Longitud	OU var. het.	5	371.42	0
	OU	4	374.20	2.78
	BM var. het.	4	701.89	330.47
	BM	3	702.78	331.36
Longitud	OU	4	235.42	0
	OU var. het.	5	237.09	1.67
	BM var.het.	4	640.27	404.85
	BM	3	642.85	407.43

Tabla 3. Selección de modelos para el efecto del sistema de autoincompatibilidad sobre la longitud de las piezas fértiles. La selección está basada en el criterio de información de Akaike (AIC). Los modelos que mejor se ajustan a los datos de cada pieza fértil se muestran en gris. Los modelos se muestran ordenados según valores crecientes de AIC (de mejor a peor ajuste). BM = estructura de correlación de residuos del rasgo correspondiente a un proceso evolutivo Browniano (estocasticidad); OU = estructura de correlación de residuos del rasgo correspondiente a un proceso evolutivo de Ornstein-Uhlenbeck (estocasticidad + selección estabilizadora); var. het = heterogeneidad de varianzas, las varianzas del rasgo difieren entre especies AC y AI. df, grados de libertad, Δ AIC muestra la diferencia del AIC más pequeño (mejor modelo) en relación a los demás evaluados. Δ AIC > 2 indica la superioridad explicativa y predictiva relativa del mejor modelo en relación a los demás.

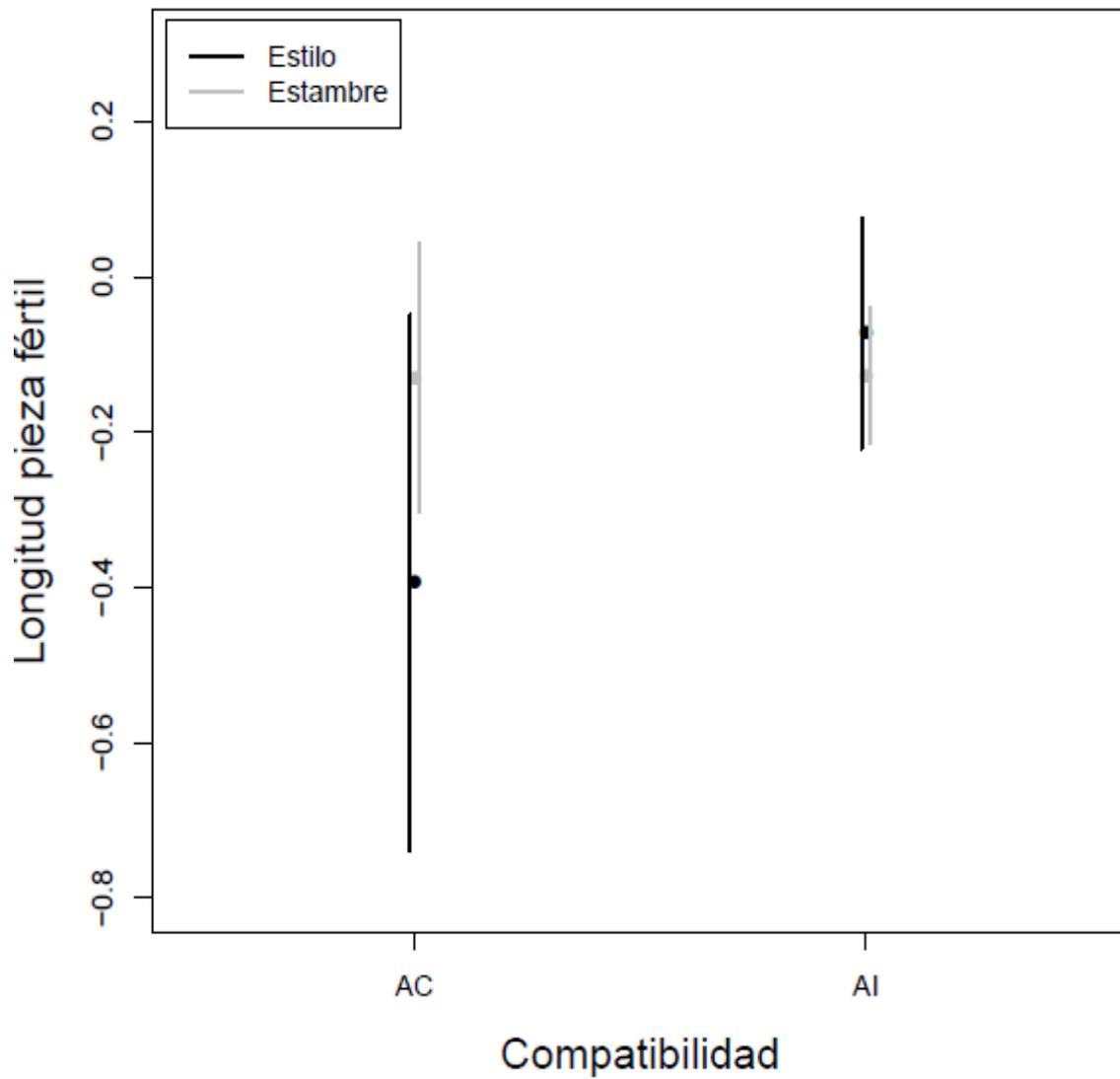


Figura 4. Resultado de las regresiones de mínimos cuadrados filogenéticos generalizados, donde se muestra el efecto del sistema de autoincompatibilidad sobre el valor medio y varianza de la longitud del estilo y del estambre en las 151 especies de angiospermas estudiadas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La hipótesis postulada en el presente trabajo fue que la selección sexual habría conllevado a la optimización de la longitud del estilo en especies autoincompatibles (“AI”), ya que éstos actuarían como filtros rigurosos en la selección de granos de polen de distinto origen genético. En especies autocompatibles (“AC”), en las cuales el origen y por ende la calidad de los granos de polen que germinan sobre el estigma serían más homogéneos, dicha optimización no habría tenido lugar o eventualmente tendría una menor incidencia. Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyan la hipótesis planteada.

Con el objetivo de eliminar la variabilidad explicada por la correlación ontogenética existente entre el tamaño de la flor y el de las piezas fértiles, se procedió a realizar regresiones de eje mayor (“*major axis regression*”, Warton *et al.* 2006) entre la longitud del perianto y la longitud de las piezas fértiles. A partir de los residuos obtenidos de las regresiones anteriores, se aplicó el método de “mínimos cuadrados filogenéticos” (PGLS: “*phylogenetic generalized least squares*”, Martins y Hansen 1997) debido a que la historia evolutiva compartida de las especies implica que los datos no son independientes, es decir existe una autocorrelación filogenética entre los datos y por lo tanto no se cumpliría con una de las suposiciones fundamentales de la mayoría de las pruebas estadísticas, que es la independencia de los datos (Garamszegi 2014). Con la aplicación de este método, se pudo indagar sobre el efecto del sistema de autoincompatibilidad sobre la media y varianza de la longitud del estilo incluyendo a la filogenia como covariable. El diseño del estudio también incluyó a un rasgo testigo como el estambre, dado que a pesar de que ambas piezas fértiles (estambre y estilo) guardan una gran correlación ontogenética (Alvarez-Buylla *et al.* 2010, Armbruster *et al.* 2014), los estambres no estarían sujetos al régimen selectivo impuesto por la competencia polínica y por ende no mostrarían una asociación con el sistema de autoincompatibilidad.

A partir de los resultados obtenidos se observa una marcada diferencia entre la adecuación de las estructuras de correlación de los residuos, Ornstein-

Uhlenbeck (“OU”) y Browniana (“BM”). La estructura de correlación más adecuada tanto para la longitud del estilo como para la del estambre, corresponde a un proceso evolutivo de OU. Esto indica que la evolución de las estructuras fértiles no sólo está explicada por evolución estocástica, sino que está sujeta a otras presiones selectivas, además del sistema de autoincompatibilidad, que ejercen selección estabilizadora sobre el patrón de variación de dichos rasgos florales. Si bien más abajo se mencionan algunos de estos otros factores, en esta instancia es importante remarcar que en la evolución de un rasgo siempre hay una relación entre costos y beneficios que también condiciona la evolución y variación del fenotipo. En particular, existe una compensación energética dada por costos y beneficios en la producción de estilos largos y polen de rápido crecimiento (Lankinen y Skogsmyr 2001). Por lo tanto, si bien en este trabajo se ha explorado y encontrado evidencia que respalda la hipótesis sobre el rol de la selección sexual en la evolución de la longitud de los estilos de especies autoincompatibles, es claro que parte de la variación o trayecto evolutivo de este rasgo ha estado moldeada por otros regímenes selectivos que actúan sobre las piezas fértiles y sus asociados compromisos entre costos y beneficios.

El estudio realizado revela que el sistema de autoincompatibilidad presenta un efecto significativo sobre la longitud del estilo, efecto que no se encontró sobre la longitud del estambre, a pesar de que ambas piezas fértiles podrían estar fuertemente correlacionadas debido al desarrollo ontogenético compartido. (Alvarez-Buylla *et al.* 2010, Armbruster *et al.* 2014). Esto constituye una evidencia de que existiría una presión selectiva que estaría actuando diferencialmente sobre el estilo y el estambre, como podría ser la postulada optimización de la longitud del estilo en especies AI. Además, se encontró heterogeneidad de varianzas en la longitud del estilo, observándose que especies AC presentan una mayor varianza en contraste con las AI. Estos resultados respaldan la hipótesis de que la longitud del estilo se encontraría bajo selección estabilizadora en especies AI favoreciendo estilos más largos (y con menor varianza), lo que haría más rigurosa la competencia entre tubos polínicos (Ramesha *et al.* 2011; Mulcahy y Mulcahy

1975; Snow y Spira 1991; Eberhard 1996). En el caso de la longitud del estambre, no se observaron diferencias significativas de su media entre los dos sistemas de autoincompatibilidad, aunque sí se observó mayor varianza en las AC.

Existen otros factores que podrían influir en la longitud del estilo además del sistema de autoincompatibilidad. En un estudio realizado por Opedal *et al.* (2017), encontraron una posible selección en la arquitectura floral que promueve la posición precisa de las anteras y los estigmas en relación con la morfología de los polinizadores, así, la disposición y longitud de las piezas fértiles actuarían en estas especies como mecanismos que facilitan la polinización. Sin embargo, si este fuera el caso se debería observar un patrón similar entre estambres y estilos ya que se trataría de un régimen selectivo que estaría afectando a ambas piezas fértiles. También se cree que estilos más largos pueden estar asociados a la reducción o prevención de recepción de esporas de hongos (Elmqvist *et al.* 1993), pero si este fuera el caso no se podrían explicar las diferencias encontradas en la longitud del estilo en relación al sistema de autoincompatibilidad ya que la infección por esporas afectaría a ambos sistemas. Es posible que la hercogamia también influya sobre la longitud del estilo. Hay estudios que sugieren que las flores de plantas AC responden a un patrón en el que presentan una hercogamia reducida en relación a las plantas AI (Ornduff 1969; Wyatt 1983), de esta manera el polen maduro entraría en estrecho contacto con la superficie del estigma y facilitaría la autopolinización (Runions y Geber 2000). En contraparte, se cree que los estilos largos pueden responder a un aumento de la hercogamia, como mecanismo para reducir el depósito de su propio polen en especies AC y así aumentar la diversidad de donantes (Barrett 2002). Sin embargo, según los estudios publicados hasta el momento, no está claro si hay una predominancia de la hercogamia en especies autocompatibles o autoincompatibles, por lo tanto, el efecto de la hercogamia estaría repartido entre especies de ambos sistemas de autoincompatibilidad y no tendría un efecto sobre los resultados que se obtuvieron. De todas maneras, es importante mencionar que en este trabajo no se ha tenido en cuenta a la hercogamia dentro de las variables estudiadas. En una etapa

posterior, se estudiará la incidencia de la hercogamia en ambos sistemas de autoincompatibilidad con el objetivo de analizar si la misma tiene un efecto significativo en la longitud del estilo.

En conclusión, los resultados obtenidos sugieren que la selección sexual en plantas AI ha llevado a la optimización de la longitud del estilo. Es muy probable que la relación entre el sistema de autoincompatibilidad y la longitud del estilo esté dada por la competencia de tubos polínicos que ocurre en las especies AI. Si bien en el presente trabajo se ha encontrado evidencia que permite apoyar la hipótesis propuesta, es importante remarcar que no se llevó a cabo ninguna prueba experimental que permita analizar lo que ocurre dentro del estilo. Es por eso que en estudios futuros se propone realizar experimentos para poner a prueba la hipótesis propuesta en este trabajo. Por ejemplo, se podrían teñir estilos para analizar el recorrido de los tubos polínicos y la proporción de tubos polínicos que llegan al ovario en especies autocompatibles y autoincompatibles que difieran significativamente en el largo del estilo, prediciendo que en especies AI los tubos polínicos presentarán un mayor desfasaje en su recorrido y mayor proporción de fracasos que en especies AI de estilos cortos y que en especies AC, donde el crecimiento sería más homogéneo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Córdoba porque es gracias a esta institución que pude formarme como profesional, por todo el aprendizaje académico, político y personal que obtuve a lo largo de mi vida universitaria. A mi directora Mari Strelin, a mi co-directora Andre Cosacov y Ali Sérsic, por el permanente apoyo, la paciencia y el acompañamiento, definitivamente este trabajo fue posible gracias a ellas. Al Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal y en particular al Laboratorio de Ecología Evolutiva y Biología Floral y todos sus miembros. A Marcelo Aizen, investigador del Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente por la desinteresada dedicación y ayuda en el desarrollo de esta tesina. A los miembros del tribunal evaluador por su compromiso y buena predisposición. A todos los amigos que la biología me regaló y que hicieron de mi paso por la universidad algo inolvidable. Al Movimiento Nacional Reformista y Córdoba Libre porque participando aprendí que compartir los sueños, las ideas y trabajar colectivamente es mucho más enriquecedor. A Zoe, Seba, Emi y Santi por la confianza y todos los momentos compartidos. A Sebastián por ser mi compañero incondicional todos estos años. Y a mi familia, porque sin ellos nada hubiera sido posible, por el permanente apoyo y por permitirme cumplir este gran sueño.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akaike, H., Likelihood of a model and information criteria. (1981). *J. Econometrics*, 16, 3-14.
- Alvarez-Buylla, E.R., Benítez, M., Corvera-Poiré, A., Cador, Á.C., de Folter, S., de Buen, A.G., Garay-Arroyo, A., García-Ponce, B., JaimesMiranda, F., Pérez-Ruiz, R.V., Piñeyro-Nelson, A., y Sánchez-Corrales, Y.E. (2010). Flower Development. In: *The Arabidopsis Book. The American Society of Plant Biologists*. Rockville, MD.
- Armbruster, W. S., Martin, P., Kidd, J., Stafford, R., y Rogers, D. G. (1995). Reproductive significance of indirect pollen-tube growth in *Dalechampia* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany*, 51-56.
- Armbruster, W. S. (1996). Evolution of floral morphology and function: an integrative approach to adaptation, constraint, and compromise in *Dalechampia* (Euphorbiaceae). *Floral biology*, 241-272. Springer, Boston, MA.
- Armbruster, W.S., Pélabon, C., Bolstad, G.H. y Hansen, T.F. (2014) Integrated phenotypes: understanding trait covariation in plants and animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 369, 1-16.
- Arnold, S. J. (1994). Bateman's principles and the measurement of sexual selection in plants and animals. *The American Naturalist*, 144, S126-S149.
- Barrett, S. C. H. (2002). The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews. Genetics*, 3, 274- 284.

- Björkman, T. (1995). The effect of pollen load and pollen grain competition on fertilization success and progeny performance in *Fagopyrum esculentum*. *Euphytica*, 83(1), 47-52.
-
- Cabrera, A.L. (1963-1970). Flora de la Provincia de Buenos Aires. Colección Científica del INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Cocucci, A. A, Marino S., Baranzelli M., Wiemer A. P., Sérsic A. (2014). The buck in the milkweed: evidence of male-male interference among pollinaria on pollinators. *New Phytologist*, 203, 280-286.
- Darwin, C. (1871). The descent of man and selection in relation to sex. London, UK.
- Eberhard, W. G. (1996). Female control: sexual selection by cryptic female choice. *Princeton University Press*.
- Elmqvist, T., D. Liu, U. Carlsson, y B. Giles. (1993). Anther-smut infection in *Silene dioica*: Variation in floral morphology and patterns of spore deposition. *Oikos*, 68, 207- 216.
- Fenster, C. B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., y Thomson, J. D. (2004). Pollination syndromes and floral specialization. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 35, 375-403.
- Futuyma, D. J. (2005). Evolution. Sinauer, Sunderland. Massachusetts, Estados Unidos.
- Garamszegi, L. Z. (2014). Modern Phylogenetic Comparative Methods and Their Application in Evolutionary Biology. Berlin, Alemania.

- Grant, V. (1995). Sexual selection in plants: pros and cons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 1247–1250.
- Grueber, C. E., Nakagawa, S., Laws, R. J., y Jamieson, I. G. (2011). Multimodel inference in ecology and evolution: challenges and solutions. *Journal of evolutionary biology*, 24(4), 699-711.
- Hansen, T. F. (1997). Stabilizing selection and the comparative analysis of adaptation. *Evolution*, 51(5), 1341-1351.
- Harmon, L. J., Weir, J. T., Brock, C. D., Glor, R. E., y Challenger, W. (2008). Geiger: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, 24(1), 129-131.
- Lankinen, A. y Skogsmyr, I. (2001). Evolution of pistil length as a choice mechanism for pollen quality. *Oikos*, 92(1), 81 - 90.
- Lankinen, A. y Karlsson, K. (2015). Using theories of sexual selection and sexual conflict to improve our understanding of plant ecology and evolution. *AoB Plants*. Volume 7.
- Martins, E. P., y Hansen, T. F. (1997). Phylogenies and the comparative method: a general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis of interspecific data. *American Naturalist*, 646-667.
- Moore, J. C., y Pannell, J. R. (2011). Sexual selection in plants. *Current biology*, 21(5), R176-R182.
- Morin, N. R. 1993. Flora of North America. North of Mexico, vol. 2. Oxford University Press, Nueva York.

- Mulcahy, D. L., y Mulcahy, G. B. (1975). The influence of gametophytic competition on sporophytic quality in *Dianthus chinensis*. *Theor. Appl. Genet*, 46, 277-80.
- Mulcahy, D. L., y Mulcahy, G. B. (1987). The effects of pollen competition. *American Scientist*, 75(1), 44-50.
- Opedal, Ø. H., Bolstad G. H., Hansen T. F., Armbruster W. S., Pélabon C. (2017). The evolvability of herkogamy: Quantifying the evolutionary potential of a composite trait. *Evolution*, 71, 1572-1586.
- Ornduff, R. (1969). Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon*, 18, 121-133.
- Pinheiro, J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D. y R Core Team (2018). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-137. <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>.
- Ramesha, B. T., Yetish, M. D., Ravikanth, G., Ganeshaiyah, K. N., Ghazoul, J., y Shaanker, R. U. (2011). Stylish lengths: mate choice in flowers. *Journal of biosciences*, 36(2), 229-234.
- Runions, C. J. y M. A. Geber. (2000). Evolution of the self-pollinating flower in *Clarkia xantiana* (Onagraceae). I. size and development of floral organs. *Am. J. Bot*, 87, 1439-1451.

- Snow, A. A. y Spira, T. P. (1991). Pollen vigour and the potential for sexual selection in plants. *Nature*, 352, 796-797.
- Warton, D. I., Wright, I. J., Falster, D. S., y Westoby, M. (2006). Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews*, 81(2), 259-291.
- Warton, D. I., Duursma, R. A., Falster, D. S., y Taskinen, S. (2012). smatr 3—an R package for estimation and inference about allometric lines. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(2), 257-259.
- Willson, M. F., y Burley, N. (1983). *Mate choice in plants: tactics, mechanisms, and consequences*. Princeton University Press, Vol. 19.
- Wilson, P., Thomson, J. D., Stanton, M. L., y Rigney, L. P. (1994). Beyond floral Batemanian: gender biases in selection for pollination success. *The American Naturalist*, 143(2), 283-296.
- Wyatt, R. (1983). Plant-pollinator interactions and the evolution of breeding systems. In: Real, L. ed. *Pollination biology*. Orlando, Academic Press. 51-95.
- Zanne, A. E., Tank, D. C., Cornwell, W. K., Eastman, J. M., Smith, S. A., FitzJohn, R. G. y Royer, D. L. (2014). Three keys to the radiation of angiosperms into freezing environments. *Nature*, 506, 89-92.
- Zuur A. F., Ieno E. N., Walker N. J., Saveliev A. A., Smith G. M. (2009). Mixed effects modelling for 466 nested data. In: Mixed effects 467 models and extensions in ecology with R. *Springer, New York*, 101-142.