

VARIABILIDAD EN RASGOS POLINICOS EN EL COMPLEJO *MIMULUS LUTEUS* L. (PHRYMACEAE) EN CHILE CENTRAL

VARIABILITY OF POLLEN TRAITS IN THE MIMULUS LUTEUS L. (PHRYMACEAE) COMPLEX IN CENTRAL CHILE

Gastón Carvallo¹ & Rosanna Ginocchio²

¹Lab. Ecología Evolutiva, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago de Chile. E-mail: gacarval@icaro.dic.uchile.cl, endorfina@netexplora.com

²CIMM, Av. Parque Antonio Rabat 6500, Vitacura, Santiago de Chile.

ABSTRACT

We quantified the variability of pollen morphology and life history traits among three natural populations of two taxa in the *Mimulus luteus* complex and a group of putative hybrids that coexist in the Andean ranges of central Chile. Pollen grain production and polar/equatorial length ratio, an index of pollen grain morphology, differed significantly among the taxa. The differences detected in these generally conservative traits, may reflect introgression, known to be common in *Mimulus*.

El género *Mimulus* presenta unas 150 especies distribuidas principalmente en la vertiente occidental de América (Vickery 1969). Este género ha sido descrito como de difícil tratamiento taxonómico por el alto polimorfismo de los caracteres morfológicos de sus taxones (Pennel 1951). El alto grado de variación en los caracteres reflejaría numerosos fenómenos de introgresión e hibridación, ampliamente descritos en este género (Vickery 1959; Vickery 1969; Dudash & Carr 1998; Kelly & Willis 1998; Willis 1999). En Chile se encuentran representados 11 entidades (von Bohlen 1995a; 1995b; Watson & von Bohlen 2000).

En la zona cordillerana de la cuenca del río Cachapoal, Sexta Región, Chile, se encuentran poblaciones pertenecientes al complejo *Mimulus luteus*, las que presentan alta variabilidad en los rasgos morfológicos que son usados para su determinación (de acuerdo a von Bohlen 1995a). Estos caracteres están asociados a los patrones de coloración de la corola y a rasgos morfométricos florales tales como tamaño de los estambres, longitud del cáliz y del tubo floral. Usando como antecedente que los rasgos de historia de vida y polínicos debe-

rían ser conservados dentro del mismo género o en una población de la misma especie (Argue 1980; 1981; Faegri & Iversen 1989; Bradley 1999), se evaluó cuantitativamente la variación de tres rasgos morfológicos del grano de polen (longitud ecuatorial; longitud polar y relación entre la longitud polar/ecuatorial) y dos rasgos de historia de vida (número y viabilidad de los granos de polen) entre las entidades *Mimulus luteus* var. *luteus* (Linn. 1763) y *Mimulus luteus* var. *variegatus* (Hook. 1834). Ambos taxones cohabitan en la Cordillera de los Andes en la VI Región e hibridarían naturalmente (J.M. Watson, comunicación personal). El muestreo en tres zonas de esta área permite verificar si la variabilidad estudiada es explicada sólo por los taxones o por factores ecológicos que varían entre sitios (Schluter 2000). En este trabajo se utilizó un diseño completamente aleatorio para determinar si el taxón y el sitio de estudio explican la variabilidad de los rasgos morfológicos polínicos y los rasgos de historia de vida en este par de entidades pertenecientes al complejo *Mimulus luteus*.

En diciembre del 2000 y enero del 2001 se colectó muestras frescas de vástagos, flores y polen

de individuos de *M. luteus* var. *luteus* y *M. luteus* var. *variegatus*, junto a una serie de ejemplares que no pudieron ser determinados. De acuerdo a la clave propuesta por Von Bohlen (1995a), a estos últimos se les designó “presuntos híbridos”. Los sitios de colecta correspondieron a Pangal-Las Cayanas (34°14'S 70°25'W; elevación 950-1450 m.s.n.m.); Sewell (34°04'S; elevación 2170 msn.m) y Reserva Nacional Río Cipreses (34°19'S 70°26'W; elevación 1150 m.s.n.m). Estos sitios fueron escogidos porque en ellos se encuentran representados ambos variedades y los presuntos híbridos.

En cada sitio se colectó 10 individuos por entidad, constituyendo una muestra total de 90 ejemplares (3 entidades, 3 sitios). A cada individuo se le seccionó las 4 anteras de una flor el día de la anthesis, las que fueron guardadas en una solución de alcohol-ácido acético (3:1). Cada individuo fue guardado de manera independiente. Medimos los rasgos palinológicos a partir de fotografías tomadas con la cámara Nikon-FDX-35 incorporada al microscopio óptico Nikon Optiphot 2; para teñir las muestras usadas para medir los rasgos morfológicos polínicos se utilizó la metodología descrita por Argue (1980); los rasgos de historia de vida fueron cuantificados usando el protocolo de tinción vital propuesto por Alexander (1980). Se realizó un análisis de varianza de dos vías, usando como factor la variable taxón (*M. luteus* var. *luteus*, *M. luteus* var. *variegatus* y presuntos híbridos) y la variable sitio de colecta (Pangal-Las Cayanas, Sewell y Río Cipreses). Las variables dependientes fueron los siguientes rasgos morfológicos: longitud ecuatorial, longitud polar y relación entre la longitud polar/ecuatorial de los granos de polen; los rasgos de historia de vida medidos fueron número y viabilidad de los granos de polen. Antes de aplicar el análisis de varianza las variables fueron transformadas a media cero y desviación estándar uno, esta transformación se lleva a cabo para lograr la distribución normal de los datos (Manly 1995). Todas las variables cumplieron con el supuesto de homogeneidad de varianza ($\alpha=0.05$, usando la prueba de Bartlett). Cuando existieron diferencias significativas entre los grupos, usamos la prueba de Tukey para verificar cuáles grupos difieren significativamente ($\alpha=0.05$).

En la Tabla I se indica la estadística des-

criptiva de las variables medidas ordenadas por tratamiento. Los resultados del ANDEVA muestran que no hay efecto de la interacción taxón y sitio de colecta para ninguna de las variables medidas, así como tampoco existe un efecto directo del sitio de colecta para dichas variables (Tabla II). Sin embargo, el taxón da cuenta de la variación en la longitud polar/ecuatorial y del número de granos de polen (Tabla II). La prueba a posteriori mostró que los tres grupos comparados difieren significativamente entre ellos en la relación entre la longitud polar/ecuatorial. Con respecto al número de granos de polen, este fue significativamente menor en los presuntos híbridos, en comparación a los taxones *M. luteus* var. *variegatus* y *M. luteus* var. *luteus* que no presentaron variación entre ellos para esta variable.

La variación en la relación longitud polar/ecuatorial y en el número de granos dependió sólo del taxón. Esta variación en la relación de la longitud polar/ecuatorial reflejaría una morfología específica para cada uno de los grupos estudiados. Este tipo de diferencias ha sido evidenciado en especies de *Mimulus* relacionadas filogenéticamente (Argue 1980, 1981). La variación morfológica del grano de polen entre taxones sería un mecanismo presente en el género *Mimulus* para el reconocimiento especie-específico al momento de la polinización (Wang & Cruzan 1998; Fetscher & Kohn 1999; Willis 1999). Hemos observado granos de polen de estos ejemplares usando microscopía electrónica de barrido, evidenciando diferencias morfológicas importantes, las que serán cuantificadas en futuros estudios (Carvallo, obs. pers.). Con respecto a la diferencia en el número de granos de polen, ésta disminuyó de manera significativa en los individuos determinados como “presuntos híbridos”. Este resultado podría reflejar algún mecanismo precigótico que evitaría la producción de híbridos en este complejo, asociado a disminuir la componente masculina de la reproducción (Wang & Cruzan 1998) tal como se ha visto en otros trabajos realizados para este género (Lloyd 1979; Dudash & Carr 1998; Willis 1999; Ramsey *et al.* 2003). La homogeneidad de los rasgos morfológicos entre los distintos sitios sugiere que éstos no dependerían directamente de factores ambientales; la variabilidad en la relación entre las longitudes explicadas por el taxón sugiere el uso de este rasgo como carácter diagnóstico dentro del complejo *Mimulus luteus*.

TABLA I. Estadística descriptiva para rasgos morfológicos polínicos y rasgos de historia de vida. Las variables independientes son taxón y sitio de colecta. Para los rasgos morfológicos se midió 20 granos por individuo; los rasgos de historia de vida fueron medidos para cada uno de los individuos. Los valores representan la media \pm desviación estándar.

	Rasgos morfológicos			Rasgos de historia de vida	
	Longitud polar (P) (μm)	Longitud ecuatorial (E) (μm)	Relación P/E	Número de granos (cm^{-2})	Viabilidad de granos (%)
TAXON					
<i>M. luteus</i> var. <i>luteus</i>	42.2 \pm 2.1	43.4 \pm 1.4	1.03 \pm 1.4	717.7 \pm 232	97.82 \pm 11.2
<i>M. luteus</i> var. <i>variegatus</i>	47.4 \pm 4.7	44.5 \pm 3.8	0.95 \pm 0.13	532.4 \pm 243	97.30 \pm 8.64
Presuntos híbridos	33.0 \pm 4.6	33.0 \pm 4.6	0.77 \pm 0.76	310.4 \pm 73.2	91.43 \pm 21.6
SITIO COLECTA					
Pangal-Las Cayanas	43.8 \pm 4.4	36.3 \pm 7.2	0.83 \pm 0.17	623.9 \pm 165	3.42 \pm 9.3
Sewell	47.4 \pm 3.7	43.4 \pm 3.5	0.92 \pm 0.07	722.9 \pm 181	96.68 \pm 12.4
Río Cipreses	48.9 \pm 5.4	44.4 \pm 3.7	0.92 \pm 0.15	690.3 \pm 138	95.10 \pm 14.9

TABLA II. Resumen del ANDEVA de dos vías para caracteres morfológicos polínicos y rasgos de historia de vida. Sólo el factor taxón dio cuenta de la variación en la relación entre longitud polar/ecuatorial y el número de granos de polen de manera significativa. Ninguna de las interacciones tuvo significancia estadística para las variables medidas. Los valores de *P* destacados en negrita corresponden a las variables que resultaron significativas bajo alguno de los factores estudiados.

Factor	g.l.	Variable respuesta					
		Longitud polar (P)	Longitud ecuatorial (E)	Relación P/E	Número de granos	Viabilidad de granos	
Taxón	2	<i>F</i>	0,76	3,74	46,13	1,76	2,31
		<i>P</i>	0,317	0,096	0,000	0,000	0,585
Sitio de colecta	2	<i>F</i>	0,90	3,55	4,78	0,81	1,27
		<i>P</i>	0,293	0,188	0,164	0,075	0,634
Interacción	4	<i>F</i>	0,03	1,73	2,21	0,95	3,26
		<i>P</i>	1,000	0,259	0,725	0,063	0,273

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a V. Flores y A. M. Mujica por su cooperación en los protocolos de microscopía y a un revisor anónimo por los comentarios al manuscrito. Este estudio fue financiado por el proyecto FONDECYT 1000750 a R.G.

BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, M.P. 1980. A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria. *Stain Technology* 55: 13-18.
- ARGUE, C.L. 1980. Pollen morphology in the genus *Mimulus* (Scrophulariaceae) and its taxonomic significance. *American Journal of Botany* 67: 68-87.

- ARGUE, C.L. 1981. The taxonomic implications of pollen morphology in some South American species of *Mimulus* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* 68: 200-205.
- BRADLEY, R. S. 1999. Paleoclimatology: Reconstructing climates of the quaternary. Academic Press, San Diego. 613 pp.
- DUDASH, M.R. & D.E. CARR. 1998. Genetics underlying inbreeding depression in *Mimulus* with contrasting mating system. *Nature (London)* 393: 682-684.
- FAEGRI, K. & J. IVERSEN. 1989. Textbook of pollen analysis 4th Edition. John Wiley & Sons, Londres. 327 pp.
- FETSCHER, A.E. & J.R. KOHN. 1999. Stigma behavior in *Mimulus aurantiacus* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* 86:1130-1135.
- KELLY, A.J. & J.H. WILLIS. 1998. Polimorphic microsatellite loci in *Mimulus guttatus* and related species. *Molecular Ecology* 7:769-774.
- LLOYD, D.C. 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. *The American Naturalist* 113: 67-79.
- MANLY, B. F. J. 1995. Multivariate statistical methods. A primer. Chapman & Hall, Londres. 215 pp.
- PENNELL, F.W. 1951. *Mimulus*. En: *Illustrated Flora of the Pacific states*, vol. 3. (ed. L. Abrams), pp. 670-742. Stanford University Press, Stanford, CA.
- RAMSEY, J.; H.D. BRADSHAW JR. & D.W. SCHEMSKE. 2003. Components of reproductive isolation between the monkey-flowers *Mimulus lewisii* and *Mimulus cardinalis* (Phrymaceae). *Evolution* 57: 1520-1534.
- SCHLUTER, D. 2000. The ecology of adaptive radiation. Oxford Series in Ecology and Evolution, New York. 288 pp.
- VICKERY JR., R.K. 1959. Barriers to gene exchange within *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae). *Evolution* 13: 300-310.
- VICKERY JR., R.K. 1969. Crossing barriers in *Mimulus*. *Japanese Journal of Genetics* 44: 325-336.
- VON BOHLEN, C. 1995a. El género *Mimulus* L. (Scrophulariaceae) en Chile. *Gayana Botanica* 52: 7-28.
- VON BOHLEN, C. 1995b. *Mimulus crinitus* A.L. Grant (Scrophulariaceae: Gratiroleae), transferido de la sección *Simiolus* Greene a la sección *Paradanthus* A.L. Grant. *Gayana Botanica* 52: 1-5.
- WANG, J. & M.B. CRUZAN. 1998. Interspecific mating in the *Piriqueta caroliniana* (Turneraceae) complex: effects of pollen load size and composition. *American Journal of Botany* 85: 1172-1179.
- WATSON, J.M. & C. VON BOHLEN. 2000. *Mimulus naiandinus* Scrophulariaceae. *Curtis's Botanical Magazine* 17: 195-201.
- WILLIS, J.H. 1999. The role of genes of large effect on inbreeding depression in *Mimulus guttatus*. *Evolution* 53: 1678-1691.

Fecha de recepción: 17.06.04

Fecha de aceptación: 24.08.04