

El papel de la reproducción en el origen y la evolución de las plantas poliploides

S. Castro^{1,*}, J. Loureiro¹

(1) CFE – Centro de Ecología Funcional, Departamento de Ciências de la Vida, Universidade de Coimbra, Calçada Martim de Freitas, 3000-456 Coimbra, Portugal.

* Autor de correspondencia: S. Castro [scaastro@bot.uc.pt]

> Recibido el 20 de marzo de 2014 - Aceptado el 18 de septiembre de 2014

Castro, S., Loureiro, J.. 2014. El papel de la reproducción en el origen y la evolución de las plantas poliploides. *Ecosistemas* 23(3): 67-77. Doi.: 10.7818/ECOS.2014.23-3.09

La poliploidía es una condición hereditaria consistente en la existencia de más de dos juegos de cromosomas por núcleo, y es considerada un mecanismo de especiación importante y frecuente en la historia evolutiva de las angiospermas. Este fenómeno ha sido propuesto como un importante mecanismo de especiación simpátrica rápida, por el que nuevas entidades pueden surgir en la población y que, teóricamente, adquieren aislamiento reproductivo inmediato. La reproducción es crucial no solo como motor de aparición de nuevos citotipos, sino también en su mantenimiento en la población, y en su subsiguiente dispersión. La producción de gametos no reducidos es el mecanismo principal que permite la aparición de nuevos citotipos, aunque se desconoce su frecuencia en poblaciones naturales. En un escenario de cruzamiento aleatorio, el establecimiento de neopoliploides sufre una fuerte selección dependiente de frecuencia. Así, el éxito de los neopoliploides dependerá de un conjunto de características ecológicas que aumenten su éxito reproductivo y, consecuentemente, su probabilidad de persistir en la población con sus progenitores. Los modelos teóricos sugieren que ciertas características, tales como las tasas de formación de nuevos poliploides, su fecundidad, porte, capacidad competitiva, y diferenciación de nicho, son rasgos fundamentales que determinarán la persistencia de los neopoliploides en la población. No obstante, existen pocos estudios exhaustivos sobre la importancia de los efectos ecológicos generados por la duplicación del genoma, y los estudios que existen presentan limitaciones importantes. En este artículo proponemos realizar una revisión crítica del papel de la reproducción en la formación y establecimiento de nuevos citotipos, destacando aquellos aspectos que aún están por explorar.

Palabras clave: Autofecundación; barreras reproductivas; citometría de flujo; complejos de ploidía; cruzamiento aleatorio; especiación simpátrica; gametos no reducidos; neopoliploides; selección dependiente de la frecuencia

Castro, S., Loureiro, J.. 2014. The role of reproduction in the emergence and evolution of polyploid plants. *Ecosistemas* 23(3): 67-77. Doi.: 10.7818/ECOS.2014.23-3.09

Polyploidy, the heritable condition of having more than two sets of chromosome per nucleus, has long been recognized as a major mechanism in plant speciation, and is widespread in the evolutionary history of angiosperms. This phenomenon has been proposed as a mechanism of rapid sympatric speciation because new entities can arise in the population and theoretically achieve immediate reproductive isolation. Reproduction plays a central role being involved not only in the emergence of new cytotypes but also in their maintenance and subsequent dispersal. The production of unreduced gametes is currently considered as the main pathway for the emergence of new cytotypes despite the reduced information available about its frequency in natural populations. Under random mating, the establishment of neopolyploids is subjected to strong frequency-dependent selection; thus, their successful establishment will depend on a set of ecological features that increase the reproductive success and, consequently, the probability of the new formed polyploids to persist in the parental population. Theoretical models suggest that traits as the ability to (continuously) produce new cytotypes, their fecundity, life-history, competitive ability or niche differentiation are important features that determine the persistence of new formed polyploids. However, despite its importance, there are still few studies exploring ecological consequences of genome duplications. In this paper we review the role of reproduction in the emergence and establishment of new cytotypes, highlighting the questions that remain to be explored.

Key words: Flow cytometry; neopolyploids; polyploid complexes; random mating; reproductive barriers; self-fertilization; frequency dependent selection; sympatric speciation; unreduced gametes

Introducción

La poliploidía es una condición hereditaria consistente en la posesión de más de dos juegos de cromosomas por núcleo, y actualmente se considera un mecanismo clave en la evolución y diversificación de plantas (Soltis y Soltis 1999; Jiao et al. 2011). Las duplicaciones del genoma completas, han sido descritas repetidamente en la historia evolutiva de las plantas (Otto y Whiton 2000;

Cui et al. 2006; Soltis et al. 2009), y se han correlacionado con explosiones de diversidad (Soltis y Soltis 1999; Soltis et al. 2009). En realidad, se estima que el 15 % de los eventos de especiación en las angiospermas están relacionados con incrementos en ploidía (Wood et al. 2009). Contrariamente a otros procesos de especiación, la poliploidización puede conferir aislamiento reproductivo inmediato, y es considerada como un importante mecanismo de especiación simpátrica (Otto y Whiton 2000).

La poliploidía es un fenómeno común, no obstante su frecuencia y grado varían fuertemente entre distintas líneas evolutivas de plantas (revisado en Husband et al. 2013). En angiospermas, el número cromosómico es conocido para aproximadamente el 25 % de las especies (Stace 2000) y las duplicaciones del genoma son igualmente comunes en monocotiledóneas y dicotiledóneas. Sin embargo, las estimas de frecuencia en la historia evolutiva varían bastante dependiendo del método utilizado. Cuando la estima se basa en la proporción media de especies por género que tienen números cromosómicos mayores que el doble del número de base, Stebbins (1938) estimó que un 20 % al 40 % de angiospermas eran poliploides. Esta estimación es similar a la efectuada recientemente por Wood et al. (2009; 35 %), basada en datos filogenéticos actuales. Sin embargo, se considera que ambas subestiman el valor real, ya que ninguna considera duplicaciones genómicas asociadas a la génesis de nuevos géneros. Asumiendo números de base específicos, Grant (1963) estimó que un 57 % de todas las especies de plantas son poliploides, mientras que Goldblatt (1980) y Masterson (1994) incrementaron este valor hasta un 70 %. No obstante, estudios genómicos recientes relatan que todos los linajes evolutivos de las angiospermas podrían caracterizarse por eventos de poliploidización antiguos (Cui et al. 2006; Soltis et al. 2009). Por tanto, el enfoque más pertinente no sería la frecuencia de poliploidización en las angiospermas, sino el número de eventos de poliploidización que ha sufrido un determinado linaje (Soltis et al. 2010).

Aunque los recuentos cromosómicos sean fundamentales y puedan aportar información importante, el reciente incremento en el volumen de información disponible sobre la variabilidad de citotipos dentro y entre poblaciones es únicamente posible gracias al reciente desarrollo de la técnica de citometría de flujo. Esta técnica se desarrolló inicialmente para analizar células sanguíneas, pero con el desarrollo de metodologías eficaces en el aislamiento de núcleos de células vegetales, desarrolladas por Galbraith et al. (1983), su aplicación en la botánica y ecología de plantas se amplió continuamente hasta la actualidad (Cuadro 1; Fig. 1). Como consecuencia, durante las últimas décadas han sido publicados numerosos estudios detallados sobre la estructura citotípica de poblaciones naturales (Husband et al. 2013). La información obtenida hasta ahora, indica que 12–13 % de las especies de angiospermas son variables en el nivel de ploidía (Wood et al. 2009), sugiriendo que la poliploidía es un proceso dinámico y frecuente en la naturaleza. Sin embargo, es importante mencionar que los fenómenos de poliploidización –sean detectados por citometría de flujo o por recuentos cromosómicos– frecuentemente son inestables (Ramsey y Schemske 1998; Kreitschitz y Vallès 2003; Comai 2005).

El reciente desarrollo de herramientas genómicas ha permitido avances significativos en el conocimiento de la poliploidía, permitiendo el estudio de las consecuencias genéticas y epigenéticas de las duplicaciones del genoma a nivel molecular (Soltis et al. 2004; 2010). No obstante, otras áreas críticas de investigación, como la ecología, reproducción y fisiología de poliploides han recibido menos atención (Soltis et al. 2010). Sin embargo, estas áreas son fundamentales para comprender los determinantes ecológicos implicados en el éxito de linajes poliploides, como son los factores involucrados en la formación, establecimiento y dispersión de poliploides en poblaciones naturales (Thompson y Lumaret 1992; Bretagnolle y Thompson 1995).

Existen dos etapas fundamentales en la aparición de poliploides: la formación y el establecimiento y persistencia de las nuevas entidades (es decir, del neopoliploide). La reproducción asume una relevancia vital en estas dos etapas. Para comprender el proceso de formación de nuevas entidades citotípicas es fundamental conocer las vías, mecanismos citogenéticos y porcentajes de formación íntimamente relacionados con la producción de gametos no reducidos (Bretagnolle y Thompson 1995; Ramsey y Schemske

1998). Mientras que, para evaluar la probabilidad de que un nuevo citotipo se establezca con éxito es necesario obtener información sobre viabilidad y fertilidad de los nuevos citotipos, sobre niveles de cruzamiento selectivo (“assortative mating”), y sobre aislamiento reproductivo entre individuos de citotipos distintos, así como de los nichos ecológicos ocupados por el nuevo citotipo (Ramsey y Schemske 1998). En esta revisión se describe la importancia de la reproducción en el origen de estas nuevas entidades citogenéticas y de los cambios en la biología reproductiva resultantes de la aparición de nuevas líneas poliploides.

Por conveniencia, en este manuscrito el término diploide es usado para denominar el(los) individuo(s) parental(es) basal en un complejo poliploide dado; sin embargo, en algunos sistemas específicos el nivel menor de ploidía puede ser de otra magnitud (por ejemplo, tetra- y hexaploides en *Spartina pectinata* y *Achillea boreallis*, Kim et al. 2012; Ramsey 2011) aplicándoseles los mismos principios.

Cuadro 1. Citometría de flujo:

La citometría de flujo es una técnica que permite el análisis de las propiedades ópticas (dispersión de luz y fluorescencia) de partículas que fluyen en una suspensión líquida (Doležel et al. 2007). La dispersión de la luz aporta datos cuantitativos respecto al tamaño y complejidad de las partículas, mientras que, a través de la fluorescencia, se puede cuantificar cualquier componente que haya sido previamente señalado con colorantes fluorescentes. Los datos de cada partícula se obtienen en tiempo real en forma de histogramas mono- o biparamétricos. Los análisis a velocidades elevadas y con rigor permiten analizar en un corto periodo un gran número de partículas de interés, permitiendo la detección de eventos raros que de otra forma podrían pasar desapercibidos (Doležel et al. 2007).

La mayoría de las aplicaciones de la citometría de flujo en el área de la botánica se relacionan con el análisis del contenido de ADN nuclear, sea en términos relativos, como análisis del nivel de ploidía, o en términos absolutos, como estimaciones del tamaño del genoma. Las metodologías desarrolladas para este efecto se basan en el aislamiento y coloración de núcleos vegetales. El método más simple y eficaz ha sido desarrollado por Galbraith et al. (1983), que desde entonces, poco se ha alterado (Fig. 1). En la Figura 1 se muestra como los núcleos de la planta de interés son aislados simultáneamente con una porción de una planta de referencia con tamaño de genoma conocido (estandarización interna) y el ADN teñido con un fluorocromo que se intercala estequiométricamente con el ADN. La fluorescencia relativa emitida por los núcleos de las dos plantas y el conocimiento del tamaño de genoma de la planta de referencia permiten calcular el contenido de ADN de la planta de interés (Fig. 1). Nótese que la entidad de referencia no tiene que ser necesariamente material vegetal (por ejemplo existen estudios que utilizan glóbulos rojos de pollo) y la referencia puede ser añadida después del aislamiento de los núcleos del material de interés (estandarización externa). Sin embargo, en los análisis de plantas se recomienda el uso de referencias vegetales y el aislamiento simultáneo de las partículas para que los núcleos estén impactados similarmente por cualquier compuesto liberado durante el aislamiento (e.g., compuestos fenólicos), reduciendo su impacto negativo en la estimación del tamaño de genoma. Existen varias plantas de referencia que pueden ser utilizadas; las especies enumeradas en la Figura 1 son plantas que cubren toda la variabilidad de tamaños de genoma observados hasta el momento en plantas y son particularmente fáciles de analizar por su bajo contenido en compuestos secundarios. Toda la metodología de la citometría de flujo ha sido revisada en Doležel et al. (2007).

La rapidez y la fiabilidad del método abrieron la posibilidad de analizar el nivel de ploidía de un gran número de individuos de una población en un corto periodo, permitiendo la detección de citotipos minoritarios en poblaciones naturales, fundamental para la aplicación de esta metodología en la ecología y biología de poblaciones.

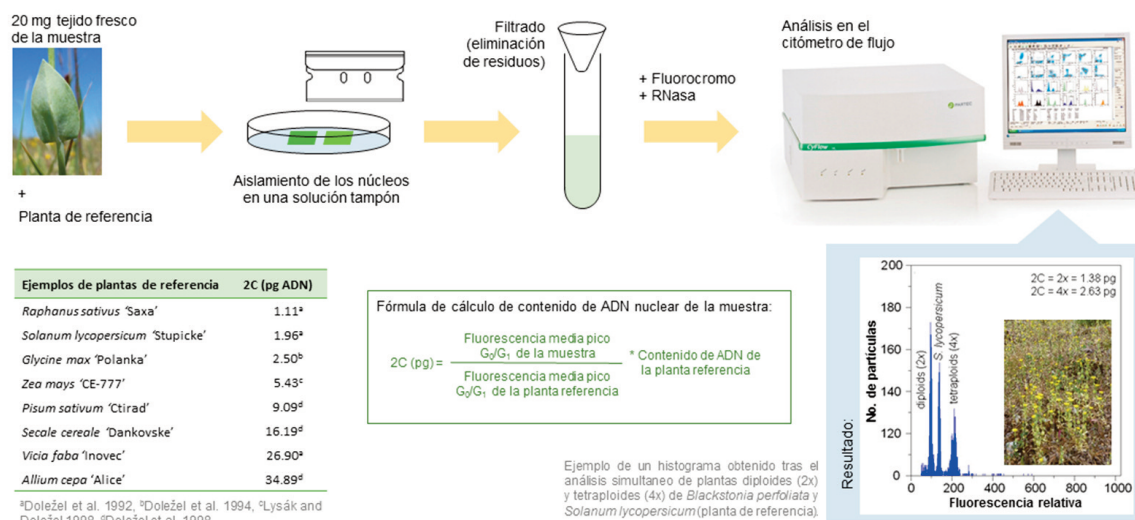


Figura 1. Protocolo para la preparación de muestras vegetales para análisis por citometría de flujo. El protocolo desarrollado por Galbraith et al. (1983) pasa por el laminado fino (chopping, acción mecánica con una lámina de afeitar) de una porción de hoja fresca de la muestra de interés, en conjunto con una porción de una planta de referencia de la cual ya se conozca el contenido de ADN, liberando los núcleos en una solución tampón (detergente); la solución se filtra para eliminar los residuos y el ARN es destruido con RNasa; después, la muestra se tiñe con un fluorocromo específico para el ADN (por ejemplo, yoduro de propidio y 4',6-diamidino-2-fenilindol - DAPI) y se analiza en el citómetro de flujo. El software del citómetro produce varios gráficos, siendo el histograma de la fluorescencia relativa de las partículas analizadas el más importante para la estimativa del contenido de ADN y ploidía (a través de la ecuación dada en la figura).

Figure 1. Protocol for the preparation of plant samples using flow cytometry. The protocol was originally developed by Galbraith et al. (1983) and involves the simultaneous chopping with a sharp razor blade of leaf tissue of the plant of interest and of a reference plant with known genome size, releasing the nuclei into a buffer solution; the solution is then filtered to remove the debris and RNase added to destroy doubled strand RNA; afterwards the sample is stained with a DNA-specific fluorochrome (for example, propidium iodide and 4',6-diamidino-2-phenylindole - DAPI) and analysed in the flow cytometer. The software of the flow cytometer generates several graphics, from which the histogram of relative fluorescence of the particles analyzed is the most important to estimate the genome size and ploidy level (using the formula provided in the figure).

Mecanismos de formación de poliploides

Los mecanismos de formación de nuevos citotipos fueron revisados por Harlan y deWet (1975), y después por Bretagnolle y Thompson (1995), y finalmente por Ramsey y Schemske (1998). Se han propuesto dos mecanismos generales para el origen de poliploides, uno a través de la duplicación somática y otro a través de la producción de gametos no reducidos. Durante algún tiempo la duplicación somática en meristemas se consideró el mecanismo principal de formación de nuevos citotipos, hasta que Harlan y deWet (1975) mostraron que la producción de gametos no reducidos es, en realidad, frecuente en la naturaleza. Estudios posteriores confirmaron estas observaciones, y la producción de gametos no reducidos es considerada actualmente como el mecanismo preponderante en la formación de nuevos citotipos en poblaciones naturales (Bretagnolle y Thompson 1995; Ramsey y Schemske 1998). Además de ser fundamental para la formación de nuevas entidades, la producción de gametos no reducidos es igualmente importante en etapas posteriores del ciclo de vida, tales como el establecimiento y persistencia de neopoliploides (Felber 1991; Rausch y Morgan 2005; Suda y Herlen 2013).

La producción de gametos no reducidos puede darse tanto en la componente masculina como en la femenina, es decir, bien a través de la producción de granos de polen, o bien a través de óvulos no reducidos (véase por ejemplo Parrott y Smith 1986; De Haan et al. 1992; Maceira et al. 1992; Bretagnolle 2001; Ramsey 2007). Según la literatura disponible, no parecen existir diferencias en la frecuencia de gametos no reducidos entre cada componente sexual. No obstante, la información es escasa, principalmente para la componente femenina, dada la mayor dificultad en estimar su ocurrencia. Además, debido a sus dificultades de detección, la contribución de cada componente sexual en la génesis de nuevos poliploides ha sido muy poco explorada.

Los granos de polen conteniendo gametos no reducidos pueden ser reconocidos por medio de caracterizaciones morfológicas o por citometría de flujo. Dada la fuerte correlación existente entre

el tamaño de la célula y el contenido del ADN nuclear (Price et al. 1973), en la mayoría de las especies estudiadas el diámetro del grano de polen diploide ($2n$) tiene un incremento de 30-40 % respecto a granos de polen haploide (n ; Ramsey y Schemske 1998); sin embargo, estas diferencias deben evaluarse con cuidado, ya que es posible que no existan en determinados grupos (por ejemplo, gramíneas; Bretagnolle y Thompson 1995). Debido a su capacidad de análisis de un elevado número de partículas en un corto período, la citometría de flujo se ha utilizado exitosamente para estudiar el tamaño del genoma de granos de polen de varias especies (por ejemplo, Maceira et al. 1992; Kron et al. 2007) permitiendo cuantificar el porcentaje de granos no reducidos. En cuanto al componente femenino, la producción de óvulos no reducidos ha sido fundamentalmente estudiada por análisis de la descendencia producida en polinizaciones recíprocas (por ejemplo, De Haan et al. 1992; Maceira et al. 1992). La producción de semillas tetraploides (detectables por citometría de flujo) en cruzamientos entre diploides-tetraploides indica la producción de óvulos no reducidos. No obstante, es importante recordar que el resultado de cruzamientos entre niveles de ploidía diferentes está fuertemente determinado por el peso de las componentes masculina y femenina en el endospermo ("endosperm balance number"; Johnston et al. 1980). Alternativamente, la frecuencia de gametos no reducidos puede ser estudiada durante la micro- y la mega-esporogénesis, usando técnicas básicas de microscopía óptica (Tavoletti et al. 1991a, y revisado en Bretagnolle y Thompson 1995).

Se estima que, en la naturaleza, la producción media de gametos no reducidos se sitúa alrededor del 0.56 %, excluyendo a los híbridos (Ramsey y Schemske 1998). Sin embargo, la producción de gametos no reducidos puede ser extremadamente variable tanto a nivel interespecífico (por ejemplo, *Achillea borealis*, 0.03-0.54 %, Ramsey 2007; *Trifolium pratense*, 3 %, Parrott y Smith 1984; *Dactylis glomerata*, 60 %, Maceira et al. 1992), como entre poblaciones e individuos de la misma especie (Bretagnolle 2001; Ramsey 2007). Estudios con especies cultivadas revelan que la capacidad de producir gametos no reducidos es frecuentemente

hereditaria y, consecuentemente, de fácil incremento en generaciones subsiguientes. Por ejemplo, tras pocas generaciones de selección artificial en *Trifolium pratense* fue posible aumentar el porcentaje de gametos no reducidos desde el 0.04 % hasta el 47.0 % (Parrott y Smith 1986) y del 9.0 % al 78.0 % en *Medicago sativa* (Tavoletti et al. 1991b). Como resultado de anomalías meióticas, los híbridos interespecíficos presentan producciones de gametos no reducidos superiores (en media 27.5 %; Ramsey y Schemske 1998). Los mecanismos genéticos responsables de la producción de gametos no reducidos son conocidos para diversos cultivares (revisado en Bretagnolle y Thompson 1995), y el reciente descubrimiento de varios genes asociados a frecuencias de gametos no reducidos elevadas permite explorar con mayor profundidad su base genética (Brownfield y Kohler 2011). Además de factores genéticos, los factores ambientales también pueden influir en la frecuencia de gametos no reducidos. En algunas especies se observó que situaciones de estrés creadas por temperatura o disponibilidad de nutrientes incrementaron significativamente la producción de gametos no reducidos (McHale 1983; Levin 2002; Ramsey 2007; Pécrix et al. 2011). Sin embargo, a pesar de los avances realizados en especies cultivadas, se sabe muy poco sobre la frecuencia y la variabilidad de este evento en poblaciones naturales.

¿Cómo contribuyen los gametos no reducidos a la formación de nuevos citotipos? Un nuevo poliploide puede surgir de dos formas distintas (Fig. 2): 1) por fusión de dos gametos no reducidos (**poliploidización bilateral**) originando, en una única generación, un poliploide potencialmente viable; o 2) por fusión de un gameto reducido con un gameto no reducido (**poliploidización unilateral**) originando un triploide ("triploid bridge"); esta entidad triploide produce gametos diploides y triploides, y puede producir descendencia tetraploide, ya sea por cruzamientos con individuos diploides, o por cruzamientos con otros triploides existentes en la población, o por autofecundación (Ramsey y Schemske 1998). Además, el número de entidades involucradas en la génesis del poliploide determina igualmente su naturaleza, definiéndose como autopoliploides

cuando estos surgen entre individuos de una misma especie, y como alopoliploides cuando resultan de hibridación interespecífica (Cuadro 2). A partir de estimas que indican que la probabilidad de formación de autopoliploides es superior a la de alopoliploides, y en estudios de varios grupos poliploides naturales, se ha sugerido que los autopoliploides son en realidad más frecuentes en la naturaleza de lo que se pensaba anteriormente (Ramsey y Schemske 1998; Parisod et al. 2010).

Establecimiento en la población de los parentales

Tras la aparición inicial de un nuevo citotipo (neopoliploide) en una población, este tendrá que competir con sus citotipos parentales por recursos abióticos y oportunidades de reproducción. Una vez más, la reproducción adquiere un papel central: sin barreras prezigóticas, la mayor posibilidad de emparejamiento no selectivo (*disassortative mating*) resultará en un gran perjuicio para el citotipo que sea menos frecuente, ya que la mayoría de sus gametos ($2n$) se perderá debido a la unión con gametos haploides (n) procedentes de individuos diploides, que son la mayoría en la población, originando por tanto triploides, teóricamente estériles. Estos eventos llevarán a la exclusión del citotipo minoritario en un corto período de tiempo (Levin 2002). En este sentido, la persistencia del neopoliploide en la población dependerá de la existencia de un conjunto de características que puedan aumentar su éxito reproductor. Entonces, ¿cuáles son las condiciones necesarias para la supervivencia y crecimiento en número (relativo a los parentales) de la subpoblación de neopoliploides?

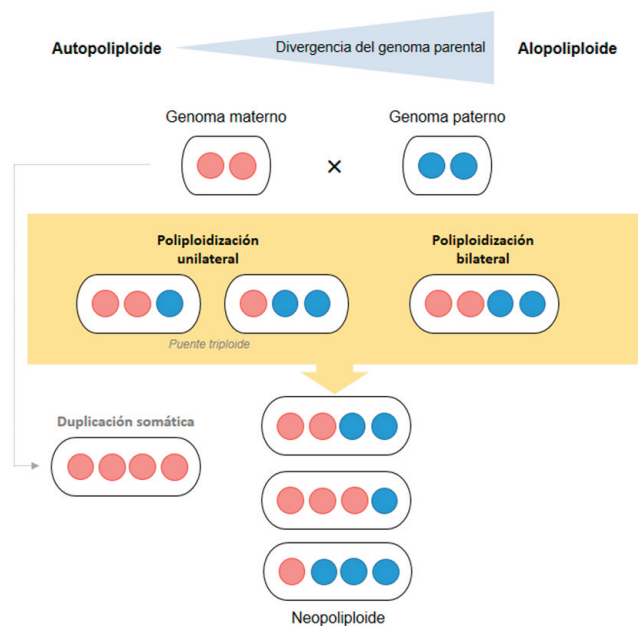


Figura 2. Vías de formación de poliploides. Los auto- y alopoliploides son formados por fusión de genomas similares o divergentes, respectivamente, normalmente por gametos no reducidos (la vía alternativa de duplicación somática se encuentra también representada, aunque sea poco frecuente en la naturaleza). A través de la fusión de un gameto reducido y un gameto no reducido puede producirse un estado intermedio triploide (puente triploide o triploid bridge) que se puede cruzar con uno de los parentales, o autofertilizarse (poliploidización unilateral); alternativamente, puede producirse un tetraploide por fusión de dos gametos no reducidos (poliploidización bilateral).

Figure 2. Pathways of polyploid formation. Auto- and allopolyploid formation involves the merging of similar or divergent genomes, respectively, frequently through the production of unreduced gametes (the alternative pathway through somatic chromosome doubling is also represented, despite of its rarity in nature). Through the fusion of one reduced and one unreduced gamete, an intermediate triploid (triploid bridge) can be produced that can be crossed with one of the parents or self-fertilized (unilateral polyploidization); alternatively, a tetraploid can be directly produced by the fusion of two unreduced gametes (bilateral polyploidization).

Cuadro 2.
Clasificación de los poliploides

Los poliploides pueden clasificarse según su naturaleza; sin embargo, su clasificación es difícil y polémica. Fundamentalmente, los poliploides se clasifican en auto- y alopoliploides (Kihara y Ono 1926). No obstante, existen dos clases de definición, la genética, basada en el comportamiento citológico, y la taxonómica, basada en el número de especies (una o dos) que contribuyen para la formación del poliploide. Desde el punto de vista citogenético, un autopoliploide se caracteriza por la formación de multivalentes en la meiosis, por la presencia de herencia polisómica y, cuando son producidos artificialmente, por un desarrollo lento y una fertilidad reducida, mientras que un alotetrapoliploide tiene un comportamiento citogenético similar a los diploides, es decir, con bivalentes y herencia disómica (Stebbins 1947; Jackson y Casey 1982; Ramsey y Schemske 1998). Estas dos designaciones son, en realidad, extremos de un gradiente, ya que la homología entre cromosomas parentales y los patrones de herencia pueden ser extremadamente variables y dependientes del grado de divergencia entre los parentales (Stebbins 1947; Grant 1981; Ramsey y Schemske 1998; 2002), lo que dificulta fuertemente la clasificación del poliploide y genera categorías intermedias (alopoliploides segmentales; Stebbins 1947; Stift et al. 2008). La designación basada en la taxonomía define los autopoliploides cuando estos surgen entre individuos de la misma especie, por fusión de gametos no reducidos de individuos distintos o del mismo individuo tras autofecundación, y alopoliploide cuando resultan de hibridación interespecífica por duplicación del genoma tras la formación de un híbrido diploide o por hibridación con un autopoliploide (Kihara y Ono 1926; Clausen et al. 1945). Esta clasificación, aunque polémica por el concepto de especie, es la más comúnmente seguida por muchos investigadores (por ejemplo, Kihara y Ono 1926, Clausen et al. 1945, Grant 1981, Ramsey y Schemske 1998, Soltis et al. 2004) y la que se ha adoptado en este artículo.

Este fenómeno atrajo la atención de varios investigadores que desarrollaron modelos para explorar como distintas combinaciones de factores podían predecir qué condiciones eran necesarias para el establecimiento de neopoliploides en poblaciones naturales. Inicialmente estos modelos presentaban un escenario extremadamente restringido para el éxito del neopoliploide (Levin 1975; Fowler y Levin 1984, Felber 1991; Rodríguez 1996a). Sin embargo, con el aumento del conocimiento sobre la naturaleza de los poliploides y con la inclusión de más características asociadas al incremento de éxito del neopoliploide (por ejemplo, por autofecundación, gametos no reducidos, depresión endogámica), se observó que las probabilidades de que el neopoliploide se estableciera en poblaciones naturales no eran tan pequeñas como se pensaba inicialmente (Baack 2005; Rausch y Morgan 2005; Suda y Herben 2013). Los modelos existentes (ver próxima sección) indican que existe una amplia gama de variables que son igualmente válidas e importantes. El valor que cada una de estas variables tendrá en la persistencia o desaparición del neopoliploide depende del sistema de estudio y de su historia evolutiva.

Modelos teóricos propuestos

El primer modelo desarrollado por Levin (1975) prevé que el citotipo menos frecuente esté en desventaja (*"frequency-dependent mating disadvantage"*). Si se asume que los dos citotipos (neopoliploide y diploide parental) 1) producen un número igual de gametos por individuo, 2) se reproducen aleatoriamente, y 3) producen semillas triploides inviables tras cruzamientos entre citotipos, entonces la ocurrencia de cruzamientos entre neopoliploide y neopoliploide, y el número de semillas producido por planta con el nuevo nivel de ploidía, será proporcional a la frecuencia de neopoliploides en la población. No obstante, Levin (1975) lanzó la posibilidad de que las desventajas derivadas de bajas frecuencias se pudieran reducir por la capacidad de autofecundarse propia del nuevo citotipo, lo que fue confirmado posteriormente por otros autores (Rausch y Morgan 2005).

Fowler y Levin (1984) y Rodríguez (1996a, 1996b) investigaron qué parámetros ecológicos podían explicar la persistencia y coexistencia de dos citotipos, particularmente su capacidad de competición y ocupación de distintos nichos, y procesos estocásticos. Fowler y Levin (1984) alargaron el modelo del citotipo minoritario añadiendo las ecuaciones del modelo competitivo de Lotka-Volterra y de diferenciación de nicho (esta última es proporcional a la reducción del flujo de polen). Los autores observaron que el neopoliploide puede sustituir el parental si tiene una ventaja competitiva muy superior o, en el caso de poblaciones pequeñas, como resultado de procesos estocásticos. Rodríguez (1996b) mostró también que en las plantas perennes aumenta la probabilidad de establecimiento y dispersión frente a las anuales.

Hasta ese momento, estos modelos solo consideraban la manutención de neopoliploides en la población parental, sin prestar atención a los procesos involucrados en su formación, concretamente la producción continuada de gametos no reducidos (Felber 1991; Felber y Bever 1997). Como se ha mencionado antes, la producción de gametos no reducidos varía sustancialmente en la naturaleza, y consecuentemente influye sobre la probabilidad de establecimiento de un neopoliploide. Felber (1991) exploró la importancia de la producción frecuente de gametos no reducidos por parte de sus parentales y las variaciones en la fertilidad y viabilidad de los citotipos en el crecimiento de la subpoblación del neopoliploide. De nuevo, solo un incremento sustancial permitirá sobrepasar la problemática de que el citotipo esté en minoría. Felber y Bever (1997) añadieron también a su modelo los individuos triploides y demostraron que su éxito (dependiente del éxito de los diploides y tetraploides) puede cambiar el equilibrio de la población, asumiendo un rol fundamental en la coexistencia de los distintos citotipos. Similarmente, Husband (2004) mostró, a través de simulaciones computacionales, que el éxito de los triploides, en conjunto con la producción de gametos no reducidos por los diploides parentales, puede facilitar la fijación del neopoliploide en la población, al contrario de lo que sería de esperar (*"triploid block"*).

Recientemente, la heterogeneidad del hábitat y la dispersión no aleatoria de los granos de polen y de las semillas han sido introducidas en otros modelos (Li et al. 2004; Baack 2005). La incorporación de estas variables ha resultado en una disminución significativa del número de gametos no reducidos necesarios para la manutención del neopoliploide (en este caso neotetraploide) en la población (Li et al. 2004). A través de modelos espaciales estocásticos y utilizando *Ranunculus adoneus* como modelo de estudio, Baack (2005) consideró también la importancia de la estructura espacial para el éxito de los tetraploides. La dispersión local puede promover cruzamientos entre individuos del mismo citotipo y disminuir la interferencia sexual, aumentando la probabilidad de establecimiento, incluso en presencia de bajas tasas de autofecundación o de ventajas reducidas para el neopoliploide. En estas circunstancias, las condiciones consideradas fundamentales (como diferenciación ecológica, eficacia biológica elevada de los triploides, o formación de gametos no reducidos), podrían no ser, en realidad, un prerrequisito tan importante para la especiación del neopoliploide.

Similarmente Rausch y Morgan (2005), a través del uso de modelos deterministas y estocásticos que incluían variables importantes en la reproducción (autofecundación, depresión endogámica, producción de gametos no reducidos), han demostrado que las variaciones en estos parámetros influyen significativamente en el conjunto de condiciones necesario para el establecimiento de neopoliploides. En neopoliploides, altas tasas de autofertilización y baja depresión endogámica permiten sobrepasar la desventaja del citotipo minoritario y facilitan el establecimiento del nuevo citotipo en la población. Felber (1991) demostró también que los neopoliploides pueden mantenerse en bajas frecuencias mientras se produzcan gametos no reducidos.

Finalmente, Suda y Herben (2013) han desarrollado un modelo gamético para complejos diploide-poliploide basados en frecuencias de citotipos observadas en poblaciones naturales. El modelo prevé un equilibrio en la frecuencia de los citotipos en función de parámetros como la proporción de gametos no reducidos y la fertilidad del poliploide. Los autores han demostrado que un modelo simple, basado en la estructura gamética de la población (esto es, en el número y ploidía de los gametos producidos), es suficiente para explicar la diversidad de patrones observados en la naturaleza, y que los parámetros calculados por el modelo son similares a los reportados en la naturaleza.

En resumen, los modelos construidos hasta ahora agregan diversas variables explicativas que podrán estar involucradas, con distintas medidas, en el éxito del neopoliploide en la población parental. Sin embargo, la información disponible de poblaciones naturales, sea a través de observaciones de campo o de experiencias manipulativas, es aún bastante escasa. Los modelos también consideran algunas suposiciones *a priori* que necesitan confirmación experimental. Por ejemplo, varios modelos asumen la ocurrencia de cruzamientos aleatorios entre diploides y neopoliploides, cuando, en realidad, ya se demostró en diversos estudios que el emparejamiento selectivo mediado por distintas barreras prezigóticas podía favorecer a los neopoliploides durante la fase inicial de establecimiento (ver adelante sección *Coexistencia de distintos citotipos en simpatria*). En presencia de cruzamientos aleatorios, estos implicarán la transferencia de granos de polen de los dos citotipos y la presencia de cargas de polen mixtas. Aunque ya existen algunos estudios (Husband et al. 2002, Peckert y Chrték 2006; Koutecký et al 2011), aún se sabe muy poco sobre el éxito y los resultados de estas polinizaciones mixtas. De este modo, para entender las fases iniciales de establecimiento de neopoliploides, es fundamental comprender el éxito de este tipo de polinizaciones. Otra asunción presente en varios modelos (Levin 1975; Fowler y Levin 1984; Felber 1991; Rodríguez 1996a; Rausch y Morgan 2005) es el que los híbridos triploides son inviables o estériles (*"triploid block"*). Sin embargo, esta asunción es contraria a uno de los mecanismos propuestos para origen de nuevos citotipos, el puente triploide (*"triploid bridge"*; Ramsey y Schemske 1998). Además, varios estudios han demostrado la existencia de triploides con dis-

tintos grados de fertilidad (entre otros, Husband 2004; Peckert y Chrtek 2006), confirmando que si el éxito de los triploides es suficientemente alto, la cantidad de gametos no reducidos necesarios para fijar los neopoliploides en la población es menor (Felber y Bever 1997). Futuros estudios sobre esta temática son esenciales para entender la naturaleza y el éxito de los triploides y su contribución al origen y el establecimiento de los neopoliploides.

Estudios experimentales de la teoría de la exclusión del citotipo minoritario

A pesar del desarrollo de los numerosos modelos para prever el destino de un nuevo citotipo en distintas condiciones, el número de estudios empíricos es escaso. Las primeras observaciones, anteriores al modelo de Levin (1975), se hicieron en especies cultivadas, específicamente en *Oryza sativa* (Hageberg y Ellerstrom 1959) y *Zea mays* (Cavanah y Alexander 1963). En ambos casos, el éxito y la frecuencia de los citotipos fue cuantificado a lo largo del tiempo en poblaciones artificiales compuestas por diploides y tetraploides. En el caso del arroz, el citotipo minoritario disminuyó en número (independientemente de su ploidía) debido a una producción superior de los triploides abortivos por comparación con el citotipo mayoritario (Hageberg y Ellerstrom 1959). Así, la producción de triploides aumentó con la disminución de la frecuencia del citotipo minoritario, como previó Levin (1975; 2002). En el maíz, el número de individuos tetraploides disminuyó siempre, independientemente de su frecuencia, debido a la superioridad competitiva de los granos de polen haploides, por comparación con los diploides (Cavanah y Alexander 1963); en este escenario, un tetraploide tendrá dificultades en mantenerse en la población sin otras ventajas competitivas.

El primer y único estudio en el que se ha utilizado poblaciones artificiales se debe a Husband (2000). Este autor evaluó la eficacia biológica dependiente de la frecuencia, utilizando diploides y tetraploides naturales de *Chamaerion angustifolium*. El experimento incluyó la caracterización de citotipos, y su relación con la inversión reproductiva y con factores involucrados en el aislamiento prezigótico, como la fenología floral y el comportamiento de los polinizadores. Los tetraploides de esta especie produjeron menos flores que los diploides, pero cada flor produjo, de media, un número superior de óvulos. La fenología floral se solapó en un 80 %, permitiendo el flujo de polen durante una larga fracción del periodo de floración. El éxito del diploide se correlacionó negativamente con su frecuencia en la población (como predijo Levin 1975), mientras que, contrariamente a lo esperado, el éxito del tetraploide se debió mayoritariamente a los patrones de visita de los polinizadores: estos prefirieron las inflorescencias de los diploides, pero la proporción de vuelos sucesivos entre tetraploides aumentó más de lo esperado cuando la frecuencia del tetraploide disminuyó, favoreciendo la polinización selectiva. La utilización de poblaciones artificiales compuestas por proporciones variables de diploides y tetraploides permitió confirmar que la exclusión del citotipo minoritario puede existir en poblaciones naturales.

Aparte del trabajo de Husband (2000), la hipótesis de exclusión del citotipo minoritario ha sido estudiada de forma indirecta a través de estudios observacionales. Por ejemplo, Macieira et al. (1993) hicieron comparaciones entre parcelas mixtas y puras de diploides y tetraploides de *Dactylis glomerata* y señalaron que el éxito de ambos citotipos es inferior cuando crecen conjuntamente. Por su parte, Buggs y Pannell (2006) mostraron que la elevada capacidad de autofertilización del hexaploide *Mercurialis annua* permitió su mantenimiento en la población. Este escenario expresa la necesidad imperiosa de realizar más estudios experimentales para comprender la dinámica de las zonas de contacto (es decir, el área en la que los distintos citotipos se dan simultáneamente y pueden interactuar; Cuadro 3). A continuación, se revisan los mecanismos involucrados en la coexistencia de distintos citotipos en simpatria y lo que se conoce sobre observaciones en poblaciones naturales.

Coexistencia de distintos citotipos en simpatria

Los modelos teóricos prevén que, en zonas de contacto, las poblaciones mixtas de varios citotipos sean escasas y evolutivamente inestables. Sin embargo, diversos estudios demuestran que la ocurrencia de poblaciones mixtas compuestas por varios citotipos son, en realidad, frecuentes en condiciones naturales (véase por ejemplo Baack 2004; Kolář et al 2009; Ståhlberg 2009; Trávníček et al. 2011; Kim et al. 2012; revisado en Husband et al. 2013). En estas poblaciones, la coexistencia de diferentes citotipos puede representar una fase de transición en la que frecuentemente se forman neopoliploides (Felber 1991; Kolář et al. 2009) o una fase estable en la que un conjunto de barreras reproductivas interviene en cruzamientos selectivos (véase, entre otros, Thompson y Merg 2008; Jersáková et al. 2010). Estas posibilidades llevan a la aparición de las zonas de contacto de distintas naturalezas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Zonas de contacto

Uno de los primeros pasos en el estudio de los complejos de poliploides es la descripción de la diversidad y distribución geográfica de los citotipos en la naturaleza. Los patrones geográficos son la base para explorar los procesos implicados en la formación, establecimiento y consecuente evolución de los poliploides. Por consiguiente, las zonas de contacto entre distintos citotipos son laboratorios naturales para estudiar la evolución de las interacciones reproductivas entre niveles de ploidía y procesos evolutivos en tiempo real (Thompson y Lumaret, 1992; Petit et al. 1999; Lexer y van Loo 2006). Una zona de contacto se puede caracterizar de formas distintas y complementarias según: 1) patrones geográficos, 2) historia evolutiva del complejo, y finalmente 3) interacciones entre citotipos.

1) Patrón geográfico: la distribución de los citotipos dentro de un determinado complejo puede ser simpátrica, parapátrica o alopatrica, si los diferentes citotipos crecen mezclados, adyacentes o disjuntos, respectivamente. Los patrones de distribución de los citotipos in situ reflejan, entre otras cosas, la dinámica de la duplicación del genoma, las preferencias ecológicas de los distintos citotipos, las interacciones entre citotipos y su capacidad de dispersión (Petit y Thompson 1999; Husband et al. 2013).

2) Historia evolutiva del complejo: se pueden definir dos tipos de zonas de contacto según el momento de formación de los neopoliploides (Petit et al. 1999) - zonas de contacto primarias, que resultan de la formación repetida de neopoliploides en la población diploide (por ejemplo, Kim et al. 2012), y zonas de contacto secundarias, que resultan del contacto entre citotipos alopatricos tras la migración o expansión del área de distribución (por ejemplo, *Dactylorhiza maculata*, Ståhlberg 2009; *Centaurea stoebe*, Mráz et al. 2012), teniendo los citotipos generalmente distribuciones parapátricas y un elevado aislamiento. La existencia de estos dos tipos de zonas de contacto se puede observar incluso en el mismo complejo (por ejemplo en el género *Melampodium*, Stuessy et al. 2004; *Dianthus broteri*, Balao et al. 2009; o en *Knutia arvensis* agg. Kolář et al. 2009).

3) Naturaleza de las interacciones entre citotipos: dependiendo de la capacidad de que los distintos citotipos coexistan en poblaciones naturales y de su éxito reproductivo, es posible encontrar zonas de contacto en mosaico cuando los citotipos ocupan nichos ecológicos diferentes, o zonas de tensión con tasas de flujo de genes variables en función de la densidad de cada citotipo (Petit y Thompson 1999).

Entonces, ¿cómo pueden los diferentes citotipos coexistir en equilibrio en la misma población?

Diploides y poliploides pueden coexistir en una misma población si la existencia de cruzamientos selectivos interviene en el aislamiento reproductivo entre ellos. Los cruzamientos selectivos reducen el número de polinizaciones entre citotipos, disminuyendo la desventaja del citotipo en minoría y permitiendo su mantenimiento y su fijación en la población. Sin embargo, el cruzamiento selectivo solo es posible si la poliploidización genera un conjunto de nuevos atributos en los que la selección pueda actuar. Efectiva-

mente, la duplicación del genoma fue descrita como un proceso que suscita diversas alteraciones en el individuo a diferentes niveles: tiene impactos significativos en el tamaño del genoma y de la célula, en la regulación genética y en procesos del desarrollo, conduciendo, potencialmente, a alteraciones inmediatas en la morfología, reproducción y tolerancia ecológica (Levin 2002; Buggs y Pannell 2007; Oswald y Nuismer 2011; Manzaneda et al. 2012; Hao et al. 2013). Estos cambios pueden estar directamente implicados en la capacidad de que el neopoliploide se establezca en la población y se disperse.

El aislamiento reproductivo entre dos entidades citológicas puede alcanzarse a través de distintas barreras. Los cruzamientos selectivos pueden conseguirse a través de una distribución heterogénea de citotipos en la misma población, debido a distintos requisitos o preferencias de hábitat. Esta segregación espacial genera un mosaico de individuos en el cual las plantas con el mismo nivel de ploidía se distribuyen de forma agregada y se ha descrito como una barrera reproductiva en diversos complejos de diploides-poliploides (por ejemplo, *Anthoxanthum alpinum*, Felber-Girard et al. 1996, *Ranunculus adoneus*, Baack 2004; *Knautia arvensis* agg., Kolář et al. 2009; *Dactylorhiza maculata* s.l., Ståhlberg 2009; *Solidago altissima*, Richardson y Hanks 2011). Las divergencias en el periodo de floración, que reducen la superposición del periodo reproductivo, también disminuyen la probabilidad de cruzamiento entre citotipos distintos (Van Dijk y Bijlsma 1994). Hasta ahora, esta barrera fenológica parece que difícilmente ha conducido a un aislamiento reproductivo completo, sin embargo, ha contribuido, a distintos niveles, para la segregación entre citotipos en algunos complejos poliploides (*Arrhenatherum elatius*, Petit et al. 1997; *Heuchera grossulariifolia*, Segraves y Thompson 1999; Nuismer y Cunningham 2005, *Chamerion angustifolium*, Husband y Sabara, 2004, Martin y Husband 2012, *Gymnadenia conopsea* s.l., Jersáková et al. 2010). Las diferencias en la morfología floral que resulten en la deposición de los granos de polen en zonas específicas del cuerpo del polinizador se han descrito como mecanismos de aislamiento entre especies próximas (Grant 1994). No obstante, en complejos poliploides, las diferencias de este tipo fueron, hasta ahora, poco exploradas (pero ver Segraves y Thompson 1999; Jersáková et al. 2010; Borges et al. 2012). También la poliploidización está frecuentemente asociada a un aumento global en el tamaño de varios órganos, como las flores. En este sentido las alteraciones morfológicas y fisiológicas de la flor pueden mediar distintos comportamientos y preferencias de los polinizadores, lo que posibilita a la disminución del flujo de polen entre citotipos. El aislamiento reproductivo causado por el comportamiento de los polinizadores fue descrito en varios sistemas poliploides (*Chamerion angustifolium*, Husband y Schemske 2000, Husband y Sabara 2004, Kennedy et al. 2006; *Heuchera grossulariifolia*, Segraves y Thompson 1999; Thompson y Merg 2008; pero ver Castro et al. 2011, Jersáková et al. 2010; Borges et al. 2012 para ejemplos contrarios). Estas barreras previas a la polinización pueden traer consigo ventajas, ya que reducen el coste de la reproducción asociado a las pérdidas de polen en estigmas incompatibles y a los atascos del estigma, con consecuentes pérdidas de óvulos (Harder y Wilson 1998; Barrett 2002).

Si la polinización entre citotipos no es evitada, existen varias barreras reproductivas que pueden minimizar sus efectos negativos y prevenir la fecundación (y consecuente producción de descendencia con menor éxito), llevando a la manutención de los citotipos en la población. Por ejemplo, la competición entre granos de polen en cargas de polen mixtas y las interacciones entre gametófito masculino y femenino pueden diferenciarse entre citotipos, determinando la composición citogenética de la descendencia (Cavanah y Alexander 1963; Husband et al. 2002; Peckert y Chrtek 2006). Alternativamente, se pueden observar alteraciones en el sistema de reproducción, dependientes del contexto de polinización, como la ruptura del sistema de incompatibilidad y la inducción de la autogamia tras la recepción de cargas de polen mixtas ('mentor effect'; Mráz 2003; Hörandl y Tensch 2009; Koutecký et al. 2011); o las al-

teraciones permanentes en la estrategia reproductiva, como el cambio de alogamia a autogamia (Barringer 2007) o de un sistema sexual hacia un sistema partenogenético (Kao 2007). Todas estas estrategias permitirían la producción de descendencia en escenarios perjudiciales por la baja frecuencia de individuos.

Las barreras mencionadas actuarán conjuntamente y determinarán el flujo de polen entre y dentro de los citotipos, influenciando la composición citogenética de la descendencia. Así, es necesario evaluar en el futuro si pequeñas diferencias generadas por la duplicación del genoma que incrementen la ventaja del citotipo minoritario favoreciendo su éxito reproductivo podrían ser seleccionadas y conducir a la divergencia entre citotipos y a la especiación de la nueva entidad.

Efectos de la duplicación del genoma en el sistema de reproducción

La poliploidización ha sido propuesta como una mediadora de alteraciones en la capacidad de autofecundación, concretamente por incrementos en las tasas de autofecundación en comparación con los parentales diploides (Grant 1956; Stebbins 1957; ver también Mable 2004; Comai 2005). Esta idea fue comprobada en algunos complejos poliploides (Petit et al. 1997; Castro et al. 2011; Borges et al. 2012) y recientemente ha sido revisada taxonómicamente a gran escala (Barringer 2007; Husband et al. 2008). Basándose en 235 especies de angiospermas, y utilizando un análisis filogenético y un análisis cruzado entre especies, Barringer (2007) demostró que los poliploides presentan tasas de autofecundación superiores a los diploides. También Husband et al. (2008), en un estudio con 10 pares de especies diploides-poliploides, confirmó esta hipótesis, demostrando que la tasa de fecundaciones cruzadas es menor en los poliploides. Curiosamente, se observaron diferencias de acuerdo con el origen del poliploide; la mayoría de los alopoliploides se autofertilizan, mientras que los autopoliploides presentan tasas de fertilización cruzada significativamente superiores, lo que explica las elevadas frecuencias de alopoliploides observadas en plantas autocompatibles (Grant 1956; Stebbins 1957). Estas observaciones confirman los resultados obtenidos para la especie autopoliploide *Chamerion angustifolium*, en los que el coste inicial de la autofecundación fue bajo, estimulando la dispersión de las autofecundaciones en los neopoliploides. No obstante, la baja depresión endogámica detectada a través de generaciones sugiere que la predominancia de la autofecundación podrá ser transitoria, ya que la selección natural podrá favorecer sistemas de reproducción mixtos o cruzados en los autopoliploides (Husband et al. 2008). Por otro lado, Mable (2004) no encontró una asociación entre autocompatibilidad y nivel de ploidía, ni señaló que la frecuencia de los poliploides sería inferior en grupos taxonómicos con sistemas de incompatibilidad funcional. Este escenario sugiere que una alteración en el nivel de autoincompatibilidad podrá ser fundamental en las primeras fases tras la aparición del nuevo citotipo, especialmente porque en esta fase la frecuencia de parejas sexuales es baja. Sin embargo, su ruptura permanente y su posterior conservación puede no suceder a largo plazo (Mable 2004; Husband et al. 2008).

Basada en la ruptura de la incompatibilidad tras la poliploidización, se propuso una nueva hipótesis relacionando la poliploidización con la separación de los sexos (dioecia) y, paradójicamente, con la promoción de fertilización cruzada (Miller y Venable 2000). Miller y Venable (2000) sugieren que la poliploidización es un mecanismo importante en la evolución de la separación de los sexos. Particularmente, las altas tasas de autofecundación producidas por la ruptura de autoincompatibilidad incrementarían los niveles de depresión endogámica que, por su parte, favorecerían el establecimiento y dispersión de individuos mutantes femeninos (estériles para la componente masculina y, por tanto, incapaces de autofecundarse). No obstante, se calcula que el coste asociado a la autofecundación a través de depresión endogámica es inferior en los poliploides (Lande y Schemske 1985; Ronfort 1999; Husband et al. 2008; ver también Ozimec y Husband 2011). Así, son necesarios

más estudios en una gama diversificada de especies, para entender los patrones de los sistemas de reproducción entre poliploides y diploides parentales.

Se ha propuesto que la poliploidización y la reproducción asexual también podrían estar conectadas (Gustafsson 1948), incluyendo multiplicación clonal y apomixis. La reproducción asexual puede ser selectivamente ventajosa, ya que facilita el establecimiento del nuevo poliploide en la población de sus parentales, disminuyendo los efectos negativos de su baja frecuencia (Stebbins 1938; Otto y Whitton 2000; ver también Baldwin y Husband 2013). Stebbins (1941) notó que muchas plantas apomícticas son también poliploides; efectivamente, en la literatura pueden ser encontradas diversas transiciones hacia la apomixia en complejos poliploides (por ejemplo, Quarin et al. 2001; Krahulcová y Rotreklová 2013). En realidad, ambos los procesos (poliploidización y apomixia) pueden ser originados por mecanismos similares, ya que ambos implican gametos no reducidos y/o hibridación, permitiendo la recuperación de la fertilidad. Sin embargo, la dinámica de la apomixia es, en realidad, extremadamente compleja y aún está por comprender (revisada en Asker y Jerling 1992; Whitton et al. 2008; ver también Kao 2007; Neiman et al. 2013). La correlación entre poliploidía y clonalidad es revisada también por Vallejo-Marín (2014) en este número de Ecosistemas.

¿Efecto de la duplicación del genoma o divergencia tras poliploidización?

Como ha sido mencionado anteriormente, la poliploidización fue tradicionalmente considerada como un fenómeno mediador de diferenciación ecológica. No obstante, el valor adaptativo de la duplicación del genoma ha sido poco explorado. Pese a su importancia, la gran mayoría de los estudios publicados hasta ahora compararon pares de especies congénicas o citotipos de una determinada especie, sin tomar en consideración la escala temporal, es decir, el tiempo que pasó desde la formación del poliploide. En este sentido, no es posible determinar si las diferencias (o su ausencia) se deben a subsecuentes adaptaciones tras el origen del neopoliploide, o si se deben únicamente a la duplicación del genoma. En este contexto, la detección de neopoliploides en poblaciones naturales, por medio de citometría de flujo (Kron et al. 2007) o, en alternativa, la síntesis de neopoliploides en laboratorio a través de agentes químicos mutagénicos (como por ejemplo la colchicina; Eigsti 1938), permiten una oportunidad singular de cuantificar experimentalmente las consecuencias inmediatas de la duplicación del genoma a distintos niveles. La comparación entre diploides y neopoliploides permite explorar las consecuencias de la poliploidización *per se*, mientras que la comparación entre neopoliploides y poliploides establecidos permite explorar los cambios acumulados tras su formación. Los neopoliploides permiten así testar los efectos inmediatos generados por la duplicación del genoma y su rol en el establecimiento y persistencia del nuevo citotipo.

Hasta ahora los estudios experimentales, en poblaciones naturales o en invernadero, que incluyeron neopoliploides son escasos y se concentran en complejos autoploidos (véase por ejemplo *Chamerion angustifolium*, Husband et al. 2008; Maherali et al. 2009; Martin y Husband 2012, 2013; *Heuchera grossulariifolia*, Oswald y Nuismer 2011; *Achillea borealis*, Ramsey 2011; y *Spartina pectinata* Kim et al. 2012). En *Chamerion angustifolium* hay evidencias de divergencia en rasgos fisiológicos (Maherali et al. 2009) y reproductivos (Husband et al. 2008) como resultado de la duplicación del genoma; sin embargo, se ha propuesto que la mayor fracción de divergencia de los tetraploides podría ocurrir después de su formación, y no como consecuencia directa de la poliploidización (Martin y Husband 2013). Del mismo modo se observó que la respuesta evolutiva del tiempo de floración depende del número de copias del genoma y del tiempo tras la formación del neopoliploide, lo que insinúa que los nuevos poliploides pueden tener genomas más dinámicos que los poliploides establecidos (Martin y Husband 2012). En *Heuchera grossulariifolia*, la duplicación del genoma ha generado divergencia fenotípica inmediata en rasgos importantes

para el establecimiento de las nuevas entidades citogenéticas, como por ejemplo en el crecimiento de plantas, floración, y número y dimensión de sus flores (Oswald y Nuismer 2011). Curiosamente, los tetraploides presentaron una menor variación fenotípica que los diploides para varios rasgos fenotípicos. Similarmente a lo observado en otros trabajos (Otto y Whitton 2000), los tetraploides crecieron más lentamente, florecieron más tarde y presentaron flores más grandes (Oswald y Nuismer 2011). En *Achillea borealis*, los trasplantes recíprocos demuestran que los hexaploides presentan un éxito superior a los tetraploides en sistemas dunares; por comparación con los neohexaploides, se comprobó que un 70 % de esa ventaja se adquiere inmediatamente tras la duplicación del genoma (Ramsey 2011). En una zona de contacto primaria de *Spartina pectinata* fue reportada una elevada variabilidad morfológica en neohexaploides de esta especie, con aumentos en tamaño de estomas, biomasa y periodo de floración (Kim et al. 2012). Finalmente, se observó que la expresión de apomixia está directamente relacionada con duplicaciones del genoma en neotetraploides de *Paspalum notatum* (Quarin et al. 2001). Los cambios inmediatos generados por poliploidización, junto con el potencial de selección divergente sobre distintas líneas poliploides parecen por lo tanto ser importantes para la diversificación y subsistencia de las líneas poliploides (Oswald y Nuismer 2011).

Conclusión

Con la implantación de la citometría de flujo en los estudios de biología poblacional y el consecuente aumento en la capacidad de análisis de numerosas muestras de campo es esperable un incremento significativo de la detección de entidades poliploides en la naturaleza. En las últimas décadas se han realizado avances significativos en el estudio de la genética, epigenética y genómica de los poliploides, sin embargo, otras áreas igualmente importantes como la ecología, biología reproductiva y fisiología de los poliploides permanecen muy poco exploradas. Además, y aunque ya se conocen algunos de los mecanismos implicados en las primeras fases del proceso de especiación de una nueva entidad citotípica, la mayor parte de los estudios se han centrado en especies cultivadas. Por ejemplo, la tasa de formación de gametos no reducidos, fundamental en la aparición de neopoliploides, es mayoritariamente desconocida en poblaciones naturales, tal y como se desconoce la importancia relativa de los distintos mecanismos de formación de neopoliploides en poblaciones naturales, así como los factores que causan su formación y establecimiento. En realidad, encontrar una explicación integradora para el establecimiento de los neopoliploides no es una tarea simple, considerando que su éxito depende fuertemente del contexto en el que se originaron. Las hipótesis más aceptadas necesitan cotejarse en un contexto filogenético, mientras que las manipulaciones experimentales son fundamentales para evaluar la veracidad e importancia relativa de las distintas hipótesis existentes. Es también fundamental estudiar complejos auto- y aloploidos para explorar y distinguir los efectos de la duplicación del genoma de los de la hibridación. En este contexto, el uso de neopoliploides es crucial para evaluar qué factores son consecuencia directa de duplicaciones del genoma, y cuales son producto de selección natural posterior a la poliploidización. Ambos enfoques son necesarios para entender los procesos evolutivos asociados a la poliploidía y a su elevada incidencia, particularmente en algunos grupos de plantas.

Referencias

- Asker, S., Jerling, L. 1992. *Apomixis in plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Baack, E.J. 2004. Cytotype segregation on regional and microgeographic scales in snow buttercups (*Ranunculus adoneus*: Ranunculaceae). *American Journal of Botany* 91:1783-1788.
- Baack, E.J. 2005. To succeed globally, disperse locally: effects of local pollen and seed dispersal on tetraploid establishment. *Heredity* 94:538-546.
- Balao, F., Casimiro-Soriguer, R., Talavera, M., Herrera, J., Talavera, S. 2009. Distribution and diversity of cytotypes in *Dianthus broteri* as evidenced by genome size variations. *Annals of Botany* 104:965-973.

- Baldwin, S.J., Husband, B.C. 2011. The association between polyploidy and clonal reproduction in diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium*. *Molecular ecology* 22:1806-1819.
- Barrett, S.C.H. 2002. Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88:154-159.
- Barringer, B.C. 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. *American Journal of Botany* 94:1527-1533.
- Borges, L.A., Souza, L.G.R., Guerra, M., Machado, I.C., Lewis, G.P., Lopes, A.V. 2012. Reproductive isolation between diploid and tetraploid cytotypes of *Libidibia ferrea* (= *Caesalpinia ferrea*) (Leguminosae): ecological and taxonomic implications. *Plant Systematics and Evolution* 298:1371-1381.
- Bretagnolle, F. 2001. Pollen production and spontaneous polyploidization in diploid populations of *Anthoxanthum alpinum*. *Biological Journal of the Linnean Society* 72:241-247.
- Bretagnolle, F., Thompson, J.D. 1995. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants. *New Phytologist* 129:1-22.
- Brownfield, L., Köhler, C. 2011. Unreduced gamete formation in plants: mechanisms and prospects. *Journal of Experimental Botany* 62:1659-1668.
- Buggs, R.J., Pannell, J.R. 2006. Rapid displacement of a monoecious plant lineage is due to pollen swamping by a dioecious relative. *Current Biology* 16:996-1000.
- Buggs, R.J., Pannell, J.R. 2007. Ecological differentiation and diploid superiority across a moving ploidy contact zone. *Evolution* 61:125-140.
- Comai, L. 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics* 6:836-846.
- Castro, S., Münzbergová, Z., Raabová, J., Loureiro, J. 2011. Breeding barriers at a diploid-hexaploid contact zone in *Aster amellus*. *Evolutionary Ecology* 25:795-814.
- Cavanah, J.A., Alexander, D.E. 1963. Survival of tetraploid maize in $2n-4n$ plantings. *Crop Science* 3:329-331.
- Clausen, J., Keck, D.D., Hiesey, W.M. 1945. *Experimental studies on the nature of species. II. Plant evolution through amphiploidy and autopolyploidy, with examples from the Madiinae*. Carnegie Institution of Washington, Washington, Estados Unidos.
- Cui, L., Wall, P.K., Leebens-Mack, J.H., Lindsay, B.G., Soltis, D.E., Doyle, J.J., Soltis, P.S., Carlson, J.E., Arumuganathan, K., Barakat, A., Albert, V.A., Ma, H., dePamphilis, C.W. 2006. Widespread genome duplications throughout the history of flowering plants. *Genome Research* 16:738-749.
- De Haan, A., Maciera, N.O., Lumaret, R., Delay, J. 1992. Production of $2n$ gametes in diploid subspecies of *Dactylis glomerata* L. 2. Occurrence and frequency of $2n$ eggs. *Annals of Botany* 69:345-350.
- Doležel, J., Greilhuber, J., Suda, J. 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols* 2:2233-2244.
- Eigsti, O.J. 1938. A cytological study of colchicine effects in the induction of polyploidy in plants. *Botany* 28:56-63.
- Felber, F. 1991. Establishment of a tetraploid cytotype in a diploid population. *Journal of Evolutionary Biology* 4:195-207.
- Felber, F., Bever, J.D. 1997. Effect of triploid fitness on the coexistence of diploids and tetraploids. *Biological Journal of the Linnean Society* 60:95-106.
- Felber-Girard, M., Felber, F., Buttler, A. 1996. Habitat differentiation in a narrow hybrid zone between diploid and tetraploid *Anthoxanthum alpinum*. *New Phytologist* 133:531-540.
- Fowler, N.L., Levin D.A. 1984. Ecological constraints on the establishment of a novel polyploid in competition with its diploid progenitor. *American Naturalist* 124:703-711.
- Galbraith, D., Harkins, K., Maddox, J., Ayres, N., Sharma, D., Firoozabady, E. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science* 220:1049-1051.
- Goldblatt, P. 1980. Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. En: Lewis, W.H. (ed.), *Polyploidy: biological relevance*, pp 219-240. Plenum Press, New York, USA.
- Grant, V. 1956. The influencer of breeding habits on the outcome of natural hybridization in plants. *The American Naturalist* 90:319-322.
- Grant, V. 1963. *The origin of adaptations*. Columbia University Press, New York, USA.
- Grant, V. 1981. *Plant speciation*. Columbia University Press, New York, USA.
- Grant, V. 1994. Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 91:3-10.
- Gustafsson, A. 1948. Polyploidy, life-form, and vegetative reproduction. *Hereditas* 34:1-22.
- Hagberg, A., Ellerstrom, S. 1959. The competition between diploid, tetraploid, and aneuploid rye. *Hereditas* 45:369-416.
- Hao, G.Y., Lucero, M.E., Sanderson, S.C., Zacharias, E.H., Holbrook, N.M. 2013. Polyploidy enhances the occupation of heterogeneous environments through hydraulic related trade-offs in *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae). *New Phytologist* 197:970-978.
- Harder, L.D., Wilson, W.G. 1998. A clarification of pollen discounting and its joint effects with inbreeding depression on mating system evolution. *The American Naturalist* 152:684-695.
- Harlan, J.R., de Wet, J.M.J. 1975. On Ö. Winge and a prayer: The origins of polyploidy. *The Botanical Review* 41:361-390.
- Hörandl, E., Tensch, E. 2009. Introgression of apomixis into sexual species is inhibited by mentor effects and ploidy barriers in the *Ranunculus auricomus* complex. *Annals of Botany* 104:81-89.
- Husband, B.C. 2000. Constraints on polyploid evolution: a test of the minority cytotype exclusion principle. *Proceedings of the Royal Society B* 267:217-223.
- Husband, B.C. 2004. The role of triploid hybrids in the evolutionary dynamics of mixed-ploidy populations. *Biological Journal of the Linnean Society* 82:537-546.
- Husband, B.C., Schemske, D.W. 2000. Ecological mechanisms of reproductive isolation between diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium*. *Journal of Ecology* 88:689-701.
- Husband, B.C., Sabara, H.A. 2004. Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid progenitors in fireweed, *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *American Journal of Botany* 85:1688-1694.
- Husband, B.C., Schemske, D.W., Burton, T.L., Goodwillie, C. 2002. Pollen competition as a unilateral reproductive barrier between sympatric diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium*. *Proceedings of the Royal Society B* 269:2565-2571.
- Husband, B.C., Ozimec, B., Martin, S.L., Pollock, L. 2008. Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: current trends and insights from synthetic polyploids. *International Journal of Plant Science* 169:195-206.
- Husband, B.C., Baldwin, S.J., Suda J. 2013. The incidence of polyploidy in plants: major patterns and evolutionary processes. En: Greilhuber, J., Wendel, J.F. (eds.), *Plant Genomic Diversity Vol II*, pp 255-276. Springer, Vienna, Alemania.
- Jackson, R.C., Casey, J. 1982. Cytogenetic analyses of autopolyploids: models and methods for triploids to octoploids. *American Journal of Botany* 69:487-501.
- Jersáková, J., Castro, S., Sonk, N., Milchreit, K., Schödelbaurová, I., Tolasch, T., Dötterl, S. 2010. Absence of pollinator-mediated pre-mating barriers in mixed-ploidy populations of *Gymnadenia conopsea* s.l. (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology* 24:1199-1218.
- Jiao, Y., Wickett, N.J., Ayyampalayam, S., Chanderbali, A.S., Landherr, L., Ralph, P.E., Tomsho, L.P., Hu, Y., Liang, H., Soltis, P.S., Soltis, D.E., Clifton, S.W., Schlarbaum, S.E., Schuster, S.C., Ma, H., Leebens-Mack, J., dePamphilis, C.W. 2011. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. *Nature* 473:97-100.
- Johnston, S.A., den Nijs, T.P.N., Peloquin S.J., Hanneman R.E. 1980. The significance of genetic balance to endosperm development in interspecific crosses. *Theoretical and Applied Genetics* 57: 5-9.
- Kao, R.H. 2007. Asexuality and the coexistence of cytotypes. *New Phytologist* 175:764-772.
- Kennedy, B.F., Sabara, H.A., Haydon, D., Husband, B.C. 2006. Pollinator mediated assortative mating in mixed ploidy populations of *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *Oecologia* 150:398-408
- Kihara, H., Ono, T. 1926. Chromosomenzahlen und systematische Gruppierung der Rumex-Arten. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie* 4:475-481
- Kim, S., Rayburn, A.L., Boe, A., Lee, D.K. 2012. Neopolyploidy in *Spartina pectinata* Link: 1. Morphological analysis of tetraploid and hexaploid plants in a mixed natural population. *Plant Systematics and Evolution* 298:1073-1083.

- Kolář, F., Štech, M., Trávníček, P., et al. 2009. Towards resolving the *Knautia arvensis* agg. (Dipsacaceae) puzzle: primary and secondary contact zones and ploidy segregation at landscape and microgeographic scales. *Annals of Botany* 103:963–974.
- Koutecký, P., Badurová, Tereza; Štech, M., Košnar, J., Karásek, J. 2011. Hybridization between diploid *Centaurea pseudophrygia* and tetraploid *C. jacea* (Asteraceae): the role of mixed pollination, unreduced gametes, and mentor effects. *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 93-106.
- Krahulcová, A., Rotreklová, O. 2010. Use of flow cytometry in research on apomictic plants. *Preslia* 82:23-39.
- Kreitschitz, A., Vallès, J. 2003. New or rare data about chromosome numbers in several taxa of the genus *Artemisia* L. (Asteraceae) in Poland. *Folia Geobotanica* 38:333-343.
- Kron, P., Suda, J., Husband, B.C. 2007. Applications of flow cytometry to evolutionary and population biology. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 38:847-876.
- Lande, R., Schemske, D.W. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. *Evolution* 39:24–40.
- Levin, D.A. 1975. Minority cytotype exclusion in local plant populations. *Taxon* 24:35-43.
- Levin, D.A. 2002. *The role of chromosomal change in plant evolution*. Oxford University Press, New York, Estados Unidos.
- Lexer, C., van Loo, M. 2006. Contact zones: Natural labs for studying evolutionary transitions. *Current Biology* 16:R407-R409.
- Li, B.-H., Xu X.-M., Ridout, M.S. 2004. Modelling the establishment and spread of autotetraploid plants in a spatially heterogeneous environment. *Journal of Evolutionary Biology* 17: 562–573.
- Mable, B.K. 2004. Polyploidy and self-compatibility: is there an association? *New Phytologist* 162:803-811.
- Maceira, N.O., De Haan, A.A., Lumaret, R., Billon, M., Delay, J. 1992. Production of 2n gametes in diploid subspecies of *Dactylis glomerata* L. 1. Occurrence and frequency of 2n pollen. *Annals of Botany* 69:335-343.
- Maceira, N.O., Jacquard, P., Lumaret, R. 1993. Competition between diploid and derivative autotetraploid *Dactylis glomerata* L. from Galicia. Implications for the establishment of novel polyploid populations. *New Phytologist* 124:321-328.
- Maherali, H., Walden A.E., Husband, B.C. 2009. Genome duplication and the evolution of physiological responses to water stress. *New Phytologist* 184: 721-731.
- Manzaneda, A.J., Rey, P.J., Bastida, J.M., Weiss-Lehman, T., Raskin, E. and Mitchell-Olds, T. 2012. Environmental aridity is associated with cytotype segregation and polyploidy occurrence in *Brachypodium distachyon* (Poaceae). *New Phytologist* 193:797-805.
- Martin, S.L., Husband B.C. 2012. Whole genome duplication affects evolvability of flowering time in an autotetraploid plant. *PLOS One* 7:e44784.
- Martin, S.L., Husband B.C. 2013. Adaptation of diploid and tetraploid *Chamerion angustifolium* to elevation but not local environment. *Evolution* 67:1780-1791.
- Masterson, J. 1994. Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* 264:421–423.
- McHale, N.A. 1983. Environmental induction of high frequency 2n pollen formation in diploid *Solanum*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 25: 609–615.
- Miller, J.S., Venable, D.L. 2000. Polyploidy and the evolution of gender dimorphism in plants. *Science* 289:2335–2338.
- Mráz, P. 2003. Mentor effect in the genus *Hieracium* s.str. (Compositae, Lactuceae). *Folia Geobotanica* 38:345-350.
- Mráz, P., Španiel, S., Keller, A., Bowmann, G., Farkas, A., Šingliarová, B., Rohr, R.P., Broennimann, O., Müller-Schärer, H. 2012. Anthropogenic disturbance as a driver of microspatial and microhabitat segregation of cytotypes of *Centaurea stoebe* and cytotype interactions in secondary contact zones. *Annals of Botany* 110:615-627.
- Neiman, M., Kay, A.D., Krist, A.C. 2013. Can resource cost of polyploidy provide an advantage to sex? *Heredity* 110:152-159.
- Nuismer, S.L., Cunningham, B.M. 2005. Selection for phenotypic divergence between diploid and autotetraploid *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution* 59:1928-1935.
- Oswald, B.P., Nuismer, S.L. 2011. Neopolyploidy and diversification in *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution* 65:1667-1679.
- Otto, S.P., Whitton, J. 2000. Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics* 34:401-437.
- Ozimec, B., Husband, B.C. 2011. Effect of recurrent selfing on inbreeding depression and mating system evolution in an autopolyploid plant. *Evolution* 65:2038–2049.
- Parisod, C., Holderegger, R., Brochmann, C. 2010. Evolutionary consequences of autopolyploidy. *New Phytologist* 186:5-17.
- Parrott, W.A., Smith, R.R. 1984. Production of 2n pollen in red clover. *Crop Science* 24:469-472.
- Parrott, W.A., Smith, R.R. 1986. Recurrent selection for 2n pollen formation in red clover. *Crop Science* 26:1132-1135.
- Peckert, T., Chrtek, J. 2006. Mating interactions between coexisting diploid, triploid and tetraploid cytotypes of *Hieracium echinoides* (Asteraceae). *Folia Geobotanica* 41:323-334.
- Pécirx, Y., Rallo, G., Folzer, H., Cigna, M., Gudín, S., Le Bris, M. 2011. Polyploidization mechanisms: temperature environment can induce diploid gamete formation in *Rosa* sp. *Journal of Experimental Botany* 62:3587-3597.
- Petit, C., Thompson, J.D. 1999. Species diversity and ecological range in relation to ploidy level in the flora of the Pyrenees. *Evolutionary Ecology* 13:45–66.
- Petit, C., Lesbros, P., Ge, X., Thompson, J.D. 1997. Variation in flowering phenology and selfing rate across a contact zone between a diploid and tetraploid *Arrhenatherum elatius* (Poaceae). *Heredity* 79:31–40.
- Petit, C., Bretagnolle, F., Felber, F. 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. *Trend in Ecology and Evolution* 14:306-311.
- Price, H.J., Sparrow, A.H., Nauman, A.F. 1973. Correlations between nuclear volume, cell volume and DNA content in meristematic cells of herbaceous angiosperms. *Experientia* 29:1028-1029.
- Quarin, C.M., Espinoza, F., Martínez, E.J., Pessino, S.C., Bovo, O.A. 2001. A rise of ploidy level induces the expression of apomixis in *Paspalum notatum*. *Sexual Plant Reproduction* 13:243-249.
- Ramsey, J. 2007. Unreduced gametes and neopolyploids in natural populations of *Achillea borealis* (Asteraceae). *Heredity* 98:143-150.
- Ramsey, J. 2011. Polyploidy and ecological adaptation in wild yarrow. *Proceedings of the national Academy of sciences USA* 108:7096–7101.
- Ramsey, J., Schemske, D.W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:467-501.
- Ramsey, J., Schemske, D.W. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33:589–639.
- Rausch, J.H., Morgan, M.T. 2005. The effect of self-fertilization, inbreeding depression and population size on autopolyploid establishment. *Evolution* 59:1867–1875.
- Richardson, M.L., Hanks, L.M. 2011. Differences in spatial distribution, morphology, and communities of herbivorous insects among three cytotypes of *Solidago altissima* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 98: 1595-1601.
- Rodríguez, D.J. 1996a. A model for the establishment of polyploidy in plants. *American Naturalist* 147:33–46.
- Rodríguez, D.J. 1996b. A model for the establishment of polyploidy in plants. *Journal of Theoretical Biology* 180:189-196.
- Ronfort, J. 1999. The mutation load under tetrasomic inheritance and its consequences for the evolution of the selfing rate in autotetraploid species. *Genetical Research* 74:31–42.
- Segraves, K.A. Thompson, J.N. 1999. Plant polyploidy and pollination: floral traits and insect visits to diploid and tetraploid *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution* 53:1114-1127.
- Soltis, D.E., Soltis, P.S. 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 14:348-352.
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Tate, J.A. 2004. Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. *New Phytologist* 161:173-191.
- Soltis, D.E., Albert, V.A., Leebens-Mack, J., Bell, C.D., Paterson, A., Zheng, C., Sankoff, D., Wall, P.K., Soltis, P.S. 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany* 96:336-348.

- Soltis, D.E., Buggs, R.J.A., Doyle, J.J., Soltis, P.S. 2010. What we still don't know about polyploidy. *Taxon* 59:1387-1403.
- Stace, C.A. 2000. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. *Taxon* 49:451-477.
- Ståhlberg, D. 2009. Habitat differentiation, hybridization and gene flow patterns in mixed populations of diploid and autotetraploid *Dactylorhiza maculata* s.l. (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology* 23:295-328.
- Stebbins, G.L. 1938. Cytological characteristics associated with the different growth habits in the dicotyledons. *American Journal of Botany* 25:189-198.
- Stebbins, G.L. 1941. Apomixis in the angiosperms. *Botanical Review* 7:507-542.
- Stebbins, G.L. 1947. Types of polyploids: their classification and significance. *Advances in Genetics* 1:403-429.
- Stebbins, G.L. 1957. Self-fertilization and population variability in the higher plants. *The American Naturalist* 91:337-354.
- Stift, M., Berenos, C., Kuperus, P., van Tienderen, P.H. 2008. Segregation models for disomic, tetrasomic and intermediate inheritance in tetraploids: A general procedure applied to *Rorippa* (Yellow cress) microsatellite data. *Genetics* 179:2113-2123.
- Stuessy, T.F., Weiss-Schneeweiss, H., Keil, D.J. 2004. Diploid and polyploid cytotype distribution in *Melampodium cinereum* and *M. leucanthum* (Asteraceae, Heliantheae). *American Journal of Botany* 91:889-898.
- Suda, J., Herben, T. 2013. Ploidy frequencies in plants with ploidy heterogeneity: fitting a general gametic model to empirical population data. *Proceedings of the Royal Society B* 280: 20122387.
- Tavoletti, S., Mariani, A., Veronesi, F. 1991a. Cytological analysis of macro- and microsporogenesis of a diploid alfalfa clone producing male and female $2n$ gametes. *Crop Science* 31:1258-1263.
- Tavoletti, S., Mariani, A., Veronesi, F. 1991b. Phenotypic recurrent selection for $2n$ pollen and $2n$ egg production in diploid alfalfa. *Euphytica* 57:97-102.
- Thompson, J.D., Lumaret, R. 1992. The evolutionary dynamics of polyploid plants: origins, establishment and persistence. *Trends in Ecology and Evolution* 7:302-307.
- Thompson, J.N., Merg, K.F. 2008. Evolution of polyploidy and the diversification of plant-pollinator interactions. *Ecology* 89:2197-2206.
- Trávníček, P., Kubátová, B., Čurn, V., Rauchová, J., Krajníková, E., Jeršáková, J., Suda, J. 2011. Remarkable coexistence of multiple cytotypes of the *Gymnadenia conopsea* aggregate (the fragrant orchid): evidence from flow cytometry. *Annals of Botany* 107:77-87.
- Vallejo-Marín, M. 2014. La correlación entre poliploidía y clonalidad. Somatido al número especial de *Ecosistemas* 23(3): 78-82.
- Van Dijk, P., Bijlsma, R. 1994. Simulations of flowering time displacement between two cytotypes that form inviable hybrids. *Heredity* 72:522-535.
- Whitton, J., Sears, C.J., Baack, E.J., Otto, S.P. 2008. The dynamic nature of apomixis in the angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* 169:169-182.
- Wood, T.E., Takebayashi, N., Barker, M.S., Mayrose, I., Greenspoon, P.B., Rieseberg, L.H. 2009. The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the national Academy of sciences USA* 106: 13875-13879.