



Informe Final
Microruteo, Rescate y Relocalización
de Flora Terrestre
Sector Quebrada el Diablo - Michilla



Preparado por:

UNIVERSIDAD DE ANTOFAGASTA - ASISTENCIA TÉCNICA S.A.

www.uatsa.cl

Julio, 2012

INDICE

1	RESUMEN EJECUTIVO	5
2	ANTECEDENTES	7
3	OBJETIVOS	8
4	METODOLOGÍA.....	8
4.1	MICRORUTEO, RESCATE Y RELOCALIZACIÓN DE FLORA NATIVA EN QUEBRADA EL DIABLO.....	8
4.2	RESCATE Y RELOCALIZACIÓN DE FLORA EN DIFERENTES ESTADOS DE CONSERVACIÓN	9
4.2.1	<i>Rescate de material vegetativo y semillas de Nolana balsamiflua</i>	<i>9</i>
4.2.2	<i>Rescate de material vegetativo de Eulychnia iquiquensis.</i>	<i>9</i>
5	RESULTADOS	10
5.1	MICRORUTEO, RESCATE Y RELOCALIZACIÓN DE FLORA NATIVA EN QUEBRADA EL DIABLO.....	10
5.2	RESCATE Y RELOCALIZACIÓN DE FLORA EN DIFERENTES ESTADOS DE CONSERVACIÓN	16
5.2.1	<i>Rescate de material vegetativo y semillas de Nolana balsamiflua.</i>	<i>16</i>
5.2.2	<i>Experiencias de enraizamiento y germinación de semillas.....</i>	<i>18</i>
5.3	RESCATE DE MATERIAL VEGETATIVO DE EULYCHNIA IQUIQUENSIS.	18
5.3.1	<i>Sobrevivencia de ejemplares Eulychnia iquiquensis en vivero.</i>	<i>20</i>
5.4	ESTADO ACTUAL DE LAS POBLACIONES DE FLORA NATIVA EN QUEBRADA EL DIABLO-MICHILLA	22
5.4.1	<i>Estado de la Población de Nolana balsamiflua.</i>	<i>22</i>
5.4.2	<i>Estado de la Población de Eulychnia iquiquensis.</i>	<i>24</i>
6	REFORMULACION DE ACTIVIDADES	26
6.1	RESCATE Y RELOCALIZACIÓN NOLANA BALSAMIFLUA	26
6.1.1	<i>Colecta y viabilidad de semillas de Nolana balsamiflua.....</i>	<i>26</i>
6.1.2	<i>Germinación de las semillas de Nolana balsamiflua.....</i>	<i>28</i>
6.1.3	<i>Evaluación sistema de reproducción en Nolana balsamiflua.....</i>	<i>29</i>
6.2	RESCATE Y RELOCALIZACIÓN EULYCHNIA IQUIQUENSIS.....	30
6.3	RESULTADOS DE LA REFORMULACIÓN.....	31
6.3.1	<i>Colecta y viabilidad de semillas de Nolana balsamiflua.....</i>	<i>31</i>
6.3.2	<i>Germinación de las semillas de Nolana balsamiflua.....</i>	<i>37</i>
6.3.3	<i>Sistema reproductivo en Nolana balsamiflua.....</i>	<i>39</i>
6.4	EULYCHNIA IQUIQUENSIS	40
7	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	42
8	BIBLIOGRAFIA.....	44
9	ANEXOS.....	47

INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Listado de especies de plantas vasculares registradas en las inmediaciones del trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza, noviembre 2009 (campaña 1 microruteo)..	11
TABLA 2: Abundancia de ejemplares de las especies presentes en sector de servidumbre del trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza, noviembre 2009 (campaña 1 microruteo)..	12
TABLA 3: Listado de especies de plantas vasculares registradas en las inmediaciones del trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza, febrero 2010 (campaña 2 microruteo).	12
TABLA 4: Abundancia de ejemplares de las especies presentes en sector de servidumbre del trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza, febrero 2010 (campaña 2 microruteo).	13
TABLA 5: Tratamientos de germinación para <i>Nolana balsamiflua</i>	29
TABLA 6: Coordenadas de la ubicación de ejemplares de <i>Nolana balsamiflua</i> en el sector de Quebrada El Diablo, Michilla	33
TABLA 7: Número total de semillas y el número y porcentaje de semillas sanas y predadas respectivamente	34
TABLA 8: Resultados de la viabilidad de semillas	36
TABLA 9: Número de flores cruzadas, y producción de frutos y semillas en <i>Nolana balsamiflua</i> luego de cuatro ensayos de polinización manual en el desierto de Atacama en Chile.	40
TABLA 10: Coordenadas de las individuos de <i>Eulychnia iquiquensis</i>	40

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Trazado y áreas de importancia relativa identificadas durante el recorrido del microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo.	10
Figura 2: Distribución de organismos en el sector 1 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo (Campaña 1).	13
Figura 3: Distribución de organismos en el sector 1 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo (Campaña 2).	14
Figura 4: Distribución de organismos en el sector 2 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo. (Campaña 1)	14
Figura 5: Distribución de organismos en el sector 2 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo. (Campaña 2)	15
Figura 6: Distribución de organismos en el sector 3 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo.	15
Figura 7: Distribución de organismos en el sector 3 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo.	16
Figura 8: Proceso de rescate de ejemplares de suspiros en el sector de influencia del trazado del acueducto-concentraducto de Minera Esperanza.	17
Figura 9: Ejemplares de <i>Eulychnia iquiquensis</i> presentes en el área del trazado del acueducto-concentraducto de Minera Esperanza, se observa la falta de vigor de los ejemplares y humedad en el sector.....	19
Figura 10: Proceso de colecta de material vegetativo de ejemplares presentes en el área de trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza.	20
Figura 11: Características del material colectado de <i>Eulychnia iquiquensis</i>	21
Figura 12: Glomerulos de <i>Eulychnia iquiquensis</i> mantenidos en vivero en el Instituto Antofagasta de Recursos Naturales de la Universidad de Antofagasta. Las fotografías superiores muestran los ejemplares al inicio de la colecta y las inferiores a Enero de 2011.	21
Figura 13: Estado de conservación de ejemplares en el sector de influencia de la instalación de acueducto-concentraducto de Minera Esperanza a) Línea base, b) Microruteo.....	25
Figura 14: Flor embolsada de <i>Nolana balsamiflua</i> luego del cruzamiento	27
Figura 15: Lepidóptero polinizando flor de <i>Nolana balsamiflua</i>	27
Figura 16: Semillas cortadas donde se observa claramente el embrión.	35
Figura 17: Vista de embrión con reacción positiva al 2, 3, 5 cloruro de trifenil tetrazolium	36
Figura 18: Semillas donde no se tiñó el embrión	37
Figura 19. Porcentaje de germinación de semillas versus tratamientos en <i>Nolana balsamiflua</i>	38
Figura 20. Diferentes situaciones de las plántulas obtenidas.....	39
Figura 19: Diferentes situaciones en la fase de corte del brazo de <i>Eulychnia iquiquensis</i>	41
Figura 20 Cama de descanso de los individuos de <i>Eulychnia iquiquensis</i> cortados.....	41

1 RESUMEN EJECUTIVO

La RCA 212/2008 que aprobó el Proyecto Esperanza estipuló la ejecución de un microruteo de flora en las inmediaciones del trazado del acueducto-concentraducto que Minera Esperanza construyó entre el sector Mina y Michilla. El microruteo reveló la presencia de 14 especies de plantas vasculares, 6 de ellas asociadas directamente al área de influencia. Las principales abundancias estuvieron determinadas por especies de las familias Aizoaceae, Nolanaceae y Cactaceae.

De las especies de flora con problemas de conservación, destacan la presencia de *Eulychnia iquiquensis* (Rumpa de Iquique) y *Nolana balsamiflua* (suspiro), -sinonimia de *Alona balsamiflua*- las cuales presentaron baja densidad poblacional.

La totalidad de los individuos de especies de flora con problemas de conservación informadas en los estudios de línea base fueron rescatados, con las cuales se desarrollaron pruebas que permitieran establecer programas de propagación.

Las pruebas desarrolladas en vivero no arrojaron resultados positivos en las experiencias realizadas con esquejes y semillas de *Nolana balsamiflua*. Situación similar se observó con los glomérulos de *Eulychnia iquiquensis* mantenidos en condiciones controladas, los cuales tampoco prosperaron.

Dados los resultados obtenidos, se modificaron las actividades necesarias para obtener propágulos de las especies en estudio, modificándose las técnicas utilizadas con anterioridad, observándose a la fecha resultados promisorios con las experiencias desarrolladas tanto con las semillas de *Nolana balsamiflua* como con su sistema reproductivo, el cuál finalmente arrojó resultados que se verán reflejados en una publicación científica.

Por otro lado, las condiciones ambientales actuales de aridización del borde costero, así como el estado de estas poblaciones en su actual rango de distribución, sumado al mal estado fitosanitario de los ejemplares de *Eulychnia iquiquensis*, afectados por la presencia de larvas de insectos en sus tejidos, estarían explicando el escaso vigor vegetativo que evidencia esta población, lo cual restringe fuertemente los resultados que se espera obtener en el proceso de propagación de esta especie cactácea.

2 ANTECEDENTES

De acuerdo a la línea base del EIA del Proyecto Esperanza, el sector de Quebrada El Diablo, próximo a Michilla, es una zona naturalmente muy pobre en manifestaciones de flora y, consecuentemente, en formaciones vegetales, por lo que los impactos sobre estos componentes son, y de acuerdo a la escala del proyecto, muy reducidos.

No obstante, en dicho sector, existen algunas pequeñas formaciones de especial interés pues contienen especies de flora con problemas de conservación, como es el caso de la cactácea *Eulychnia iquiquensis* (Rumpa de Iquique) categorizada como En Peligro, y de la Nolanaceae (actualmente Solanaceae) *Nolana balsamiflua* (Suspiro) categorizada como Rara.

Dado el nivel de desarrollo de la ingeniería del proyecto presentado en el EIA, se determinó que la intervención del proyecto sobre estas poblaciones no se había definido con precisión, desconociéndose el número exacto de individuos que habrían de ser afectados por las obras. No obstante, en el capítulo de evaluación de impactos del EIA se consideró que debido al estatus de conservación de estas especies, las obras constituyen un impacto relevante, por lo que se ha propuesto la implementación de un plan de microruteo, rescate, relocalización y/o repoblación de las mencionadas especies.

Como primera etapa medular en dicho plan, se ha complementado la línea de base, evaluándose la presencia, abundancia y estado de los individuos de las especies con problemas de conservación, a través de un microruteo o recorrido en detalle sobre el eje del trazado en aquellos sectores donde se manifiestan formaciones vegetales.

3 OBJETIVOS

1. Ejecutar un microruteo de flora nativa que permita determinar los individuos de especies necesarias de rescatar y relocalizar en la Quebrada El Diablo
2. Diseñar un plan de monitoreo de flora nativa en base al estudio de microruteo que permita evaluar los cambios que experimente la zona durante la actividad de construcción del acueducto de Minera Esperanza.
3. Evaluar el manejo de estacas y semillas *Nolana balsamiflua* para la generación de nuevos ejemplares para la relocalización en Quebrada El Diablo.
4. Desarrollar un plan de rescate y manejo de ejemplares de *Eulychnia iquiquensis* presentes en el área de influencia del proyecto.

4 METODOLOGÍA

4.1 *Microruteo, rescate y relocalización de flora nativa en Quebrada El Diablo*

Los estudios de microruteo se realizaron en el área de influencia directa del sector del trazado del acueducto - concentraducto que Minera Esperanza instaló en el sector de la Quebrada el Diablo. Para ello, profesionales especialistas realizaron recorridos a pie por el sector de trazado. En dicho recorrido se hizo un reconocimiento de la flora a lo ancho de 20 m a ambos lados del trazado, donde esto fue posible dadas las condiciones topográficas del lugar.

Durante el recorrido, se georeferenciaron cada una de los ejemplares individualizando especie y estado de conservación de la planta, registrando número de plantas vivas o muertas. Además, se tomaron muestras de herbario de cada una de las plantas registradas, para su correcta identificación taxonómica en laboratorio.

Esta actividad fue realizada en dos campañas en el sector de estudio, utilizando la misma metodología en ambas ocasiones.

4.2 *Rescate y relocalización de flora en diferentes estados de conservación*

Basados en los resultados obtenidos durante la actividad de microruteo, se definió el rescate y relocalización de todos aquellos individuos que se encontraran en alguna categoría de conservación, las cuales eventualmente podrían ser afectadas por las actividades de construcción del acueducto-concentraducto. Dependiendo de la especie bajo manejo, se definieron diferentes estrategias para su rescate, las cuales se describen a continuación:

4.2.1 *Rescate de material vegetativo y semillas de *Nolana balsamiflua**

En el caso del Suspiro, se procedió a coleccionar todas aquellas plantas que se encontrasen tanto en la línea de trazado como en el área de servidumbre aledaña, de manera coleccionar material vegetativo que permitiera evaluar técnicas para el enraizamiento y posterior propagación de este organismo.

Simultáneo al rescate de los ejemplares que se verían afectados, se procedió a la colecta de semillas las cuales que se utilizarían en las experiencias de germinación. La recolección de las semillas fue en forma manual directamente en el sitio de rescate del material vegetativo. Todo el material coleccionado (vegetativo y semillas) fue trasladado hasta las instalaciones del vivero con el que cuenta el Instituto Antofagasta de Recursos Naturales de la Universidad de Antofagasta (IARnR), en donde se procedió a realizar las respectivas pruebas tanto con estacas como con las semillas coleccionadas en cada uno de los sectores de rescate.

4.2.2 *Rescate de material vegetativo de *Eulychnia iquiquensis*.*

Para el caso de esta cactácea, se realizó el rescate de todo el material disponible en ejemplares que se encontraran en el trazado definitivo del ducto, definido con la Ingeniería de detalle.

La colecta del respectivo material se realizó en forma manual, mediante cortes con sierra y tijera podadora, extrayéndose el material disponible y que presentara algún grado de viabilidad.

El material colectado fue adecuadamente dispuesto en bandejas de transporte, siendo trasladados hasta las instalaciones del Instituto Antofagasta de Recursos Naturales de la Universidad de Antofagasta (IARnR), en donde se realizó la preparación del material, a través de un proceso de secado a la sombra, por un periodo de 2 semanas, de manera de evitar la posible proliferación de hongos que dañaran el material colectado.

Posterior a este proceso, cada uno de los trozos de tejidos fue dispuesto en un sustrato adecuado para el desarrollo de cactáceas (tierra y gravilla), proporcionándole riego manual con agua destilada de manera de evitar la interferencia de sustancias no metálicas en el establecimiento, desarrollo y sobrevivencia de los ejemplares.

5 RESULTADOS

5.1 *Microruteo, rescate y relocalización de flora nativa en Quebrada El Diablo*

Durante la actividad de microruteo, se cubrió una distancia total de 6 km, identificándose la presencia de 4 zonas de importancia en base a la riqueza de especies y presencia de especies objetivos que se vieran afectadas por la construcción del la pista del ducto. En la figura 1 se presenta el trazado realizado, así como las zonas consideradas en la caracterización de la flora presente en el área.



Figura 1: Trazado y áreas de importancia relativa identificadas durante el recorrido del microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo.

Durante la primera evaluación realizada se registró un total de 14 especies de plantas vasculares en el sector aledaño a la instalación del ducto que Minera Esperanza construyó entre el sector Mina y Costa. (Tabla 1). Del total de especies registradas, 5 de ellas se encontraron presentes en el área de servidumbre del trazado del acueducto-concentraducto, ubicándose el resto de las especies presentes en sectores adyacentes, entre 50 a 70 m de la construcción.

TABLA 1: Listado de especies de plantas vasculares registradas en las inmediaciones del trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza, noviembre 2009 (campana 1 microruteo).

			Familia	Especie	
Gymnospermae		1	Ephedraceae	<i>Ephedra breana</i> Phil.	
Angiospermae	Dicotyledoneae	2	Aizoaceae	<i>Tetragonia angustifolia</i> Barn.	
		3	Asteraceae	<i>Ophryosporus triangularis</i> Meyen	
		4		<i>Proustia cuneifolia</i> D. Don	
		5	Cactaceae	<i>Cumulopuntia sphaerica</i> (Förster) Anderson	
		6		<i>Eulychnia iquiquensis</i> (Schum.) Britton et Rose	
		7	Nolanaceae	<i>Nolana balsamiflua</i> Gaud.	**
		8		<i>Nolana linearifolia</i> Phil.	
		9		<i>Nolana clivicola</i> (Johnst.) Johnst.	
		10		<i>Nolana peruviana</i> (Gaud.) Johnst.	
		11		<i>Nolana sedifolia</i> Poepp. cfr	
		12	Solanaceae	<i>Lycium chañar</i> Phil.	
		13		<i>Solanum chilense</i> DC	
			Monocotyledoneae	14	Bromeliaceae

** Sólo en el fondo de la quebrada

En términos de abundancia, las especies que presentaron un mayor número de ejemplares fueron *Nolana linearifolia* y *Tetragonia angustifolia* y *Eulychnia iquiquensis*. (Tabla 2)

TABLA 2: Abundancia de ejemplares de las especies presentes en sector de servidumbre del trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza, noviembre 2009 (campaña 1 microruteo).

Espece	Número de Individuos
<i>Tegragonia angustifloia</i> Barn.	4
<i>Eulychnia iquiquensis</i> (Schum.) Britton et Rose	3
<i>Nolana linearifolia</i> Phil.	8
<i>Nolana clivicola</i> (Johnst.) Johnst.	1
<i>Nolana peruviana</i> (Gaud.) Johnst.	1

En términos espaciales, las mayores abundancias estuvieron asociadas a los sectores 1 y 2, predominando la presencia de las familias Aizoaceae y Nolanaceae. En las figuras 2 y 4 se presenta la distribución de las especies observadas en dichas áreas.

Durante la segunda campaña, se logró la observación de un total de 6 especies de flora vascular en las inmediaciones del área de influencia del trazado. Del total de especies registradas, solo 4 de ellas se encontraron en el área de servidumbre del acueducto-concentraducto de Minera Esperanza (Tabla 3)

TABLA 3: Listado de especies de plantas vasculares registradas en las inmediaciones del trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza, febrero 2010 (campaña 2 microruteo).

			Familia	Espece	
Gymnospermae		1	Ephedraceae	<i>Ephedra breana</i> Phil.	
Angiospermae	Dicotyledoneae	2	Aizoaceae	<i>Tegragonia angustifloia</i> Barn.	
		3	Asteraceae	<i>Ophryosporus triangularis</i> Meyen	
		4	Nolanaceae	<i>Nolana balsamiflua</i> Gaud.	**
		5		<i>Nolana linearifolia</i> Phil.	
		6		<i>Nolana peruviana</i> (Gaud.) Johnst.	

** Solo en el fondo de la quebrada

Durante la segunda campaña de microruteo las mayores abundancias correspondieron a *Nolana linearifolia* y *Tetragonia angustifolia* (Tabla 4), estando asociadas principalmente a los sectores 1 y 2 del trazado (Figuras 3 y 5)

TABLA 4: Abundancia de ejemplares de las especies presentes en sector de servidumbre del trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza, febrero 2010 (campaña 2 microruteo).

Especie	Número de Individuos
<i>Tetragonia angustifolia</i> Barn.	3
<i>Nolana linearifolia</i> Phil.	6
<i>Nolana clivicola</i> (Johnst.) Johnst.	1
<i>Nolana peruviana</i> (Gaud.) Johnst.	1

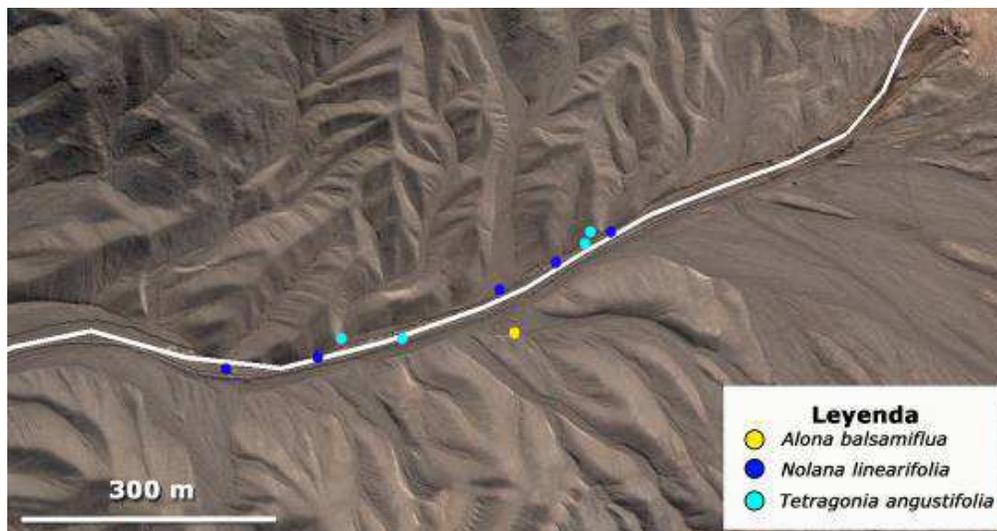


Figura 2: Distribución de organismos en el sector 1 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo (Campaña 1).

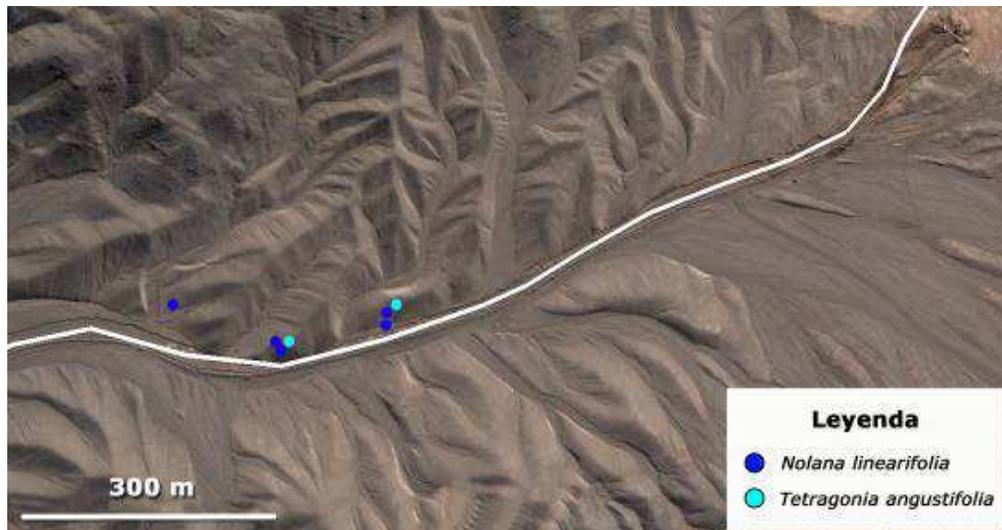


Figura 3: Distribución de organismos en el sector 1 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo (Campaña 2).

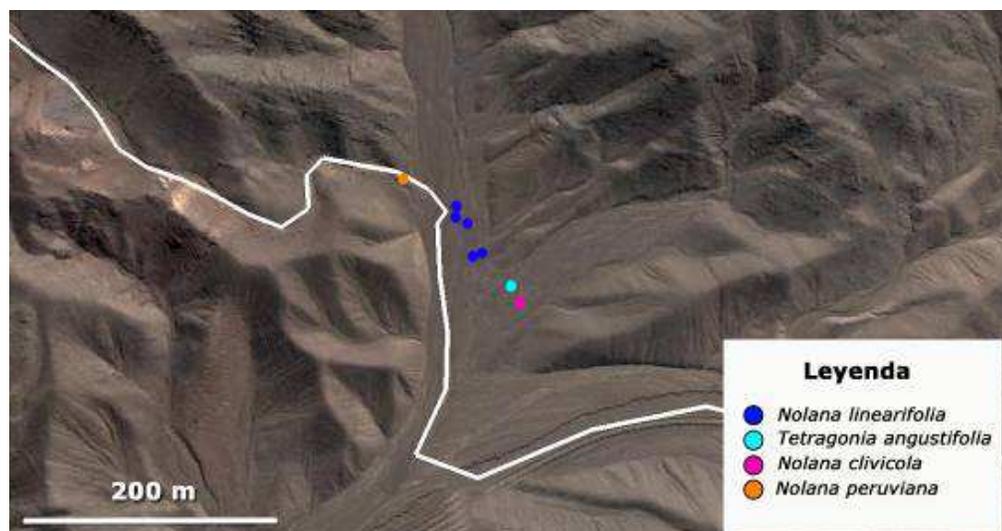


Figura 4: Distribución de organismos en el sector 2 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo. (Campaña 1)

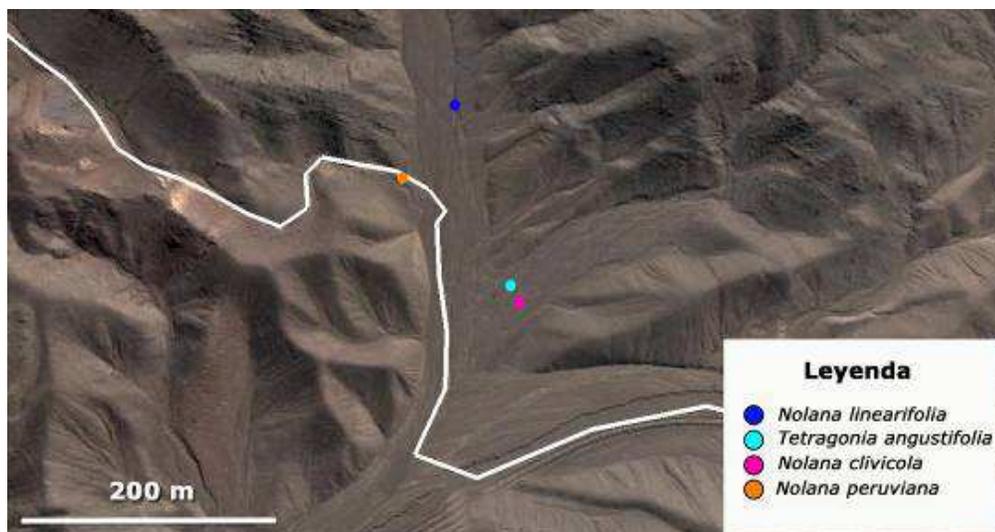


Figura 5: Distribución de organismos en el sector 2 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo. (Campaña 2)

La familia Cactaceae presentó una alta mortalidad en el sector, con valores superiores al 90%. Sólo se observaron unos pocos ejemplares vivos, principalmente en los sectores 3 y 4, en donde alcanzó bajas densidades. En la figura 4 y 5 se presenta la distribución espacial de estos organismos.



Figura 6: Distribución de organismos en el sector 3 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo.



Figura 7: Distribución de organismos en el sector 3 del recorrido de microruteo de flora en el sector de Quebrada el Diablo.

5.2 Rescate y relocalización de flora en diferentes estados de conservación

5.2.1 Rescate de material vegetativo y semillas de *Nolana balsamiflua*.

Los resultados del microruteo indicaron la baja presencia de la especie objetivo pero sí de otra especie de suspiro (*Nolana linearifolia*), siendo determinada la especie en base a la muestras colectadas previamente en el área, las cuales fueron determinadas en su oportunidad por botánicos especialistas en este grupo de flora vascular, y posteriormente validadas en base a lo descrito por Reiche, 1897.

Aunque el material vegetativo no correspondía a la especie en estudio, de igual modo se decidió realizar los esfuerzos necesarios para rescatar y recuperar el material vegetativo presente, realizándose la extracción de todo el material que presentara posibilidades de desarrollo en invernadero, así como también, de semillas de los ejemplares de *Nolana linearifolia* que se encontraran en los sectores más críticos del trazado proyectado por Minera Esperanza.

Para ello, se procedió a remover y rescatar la totalidad del material vegetativo que pudiera comprometerse con los movimientos de tierra necesarios para la construcción de esta obra. La remoción de los ejemplares se realizó a través de cortes con tijera podadora, siendo el material dispuesto en telas para su posterior transporte. Una vez

removido el tejido vegetal, se colectó la mayor parte de las semillas presentes entre los restos de tejidos muertos, así como entre los sedimentos presentes bajo los ejemplares colectados; lo cual se realizó en forma manual in situ, y posteriormente mediante un harnero en las instalaciones del vivero con el que cuenta el Instituto Antofagasta de Recursos Naturales de la Universidad de Antofagasta.

En la figura 8 se grafica las actividades realizadas durante el rescate de los ejemplares de suspiro.



Figura 8: Proceso de rescate de ejemplares de suspiros en el sector de influencia del trazado del acueducto-concentraducto de Minera Esperanza.

5.2.2 Experiencias de enraizamiento y germinación de semillas

Posterior a la colecta del material vegetativo se realizaron experiencias de enraizamiento del material colectado, utilizando como inductor la Hormona enraizante comercial Keri root.

Los resultados iniciales indicaban un buen comportamiento ante el tratamiento, sin embargo posterior a tres semanas la calidad de los tejidos de los organismos se deterioraron, lo cual se evidenció por la pérdida total de los esquejes que fueron utilizados en las experiencias. Lo anterior refleja eventualmente la sensibilidad de este organismo tanto al traslado como al tratamiento utilizado, al ser altamente dependiente de humedad en forma de rocío.

Para el caso de las semillas, estas fueron tratadas mediante protocolos ya utilizados en otras especies silvestres, aplicándose tratamientos de hidratación por 48 horas y siembra en sustrato. Adicionalmente, se aplicaron técnicas de reblandecimiento mediante ácido sulfúrico y siembra en polímero.

De la totalidad de los protocolos aplicados a las semillas colectadas durante el rescate de los ejemplares adultos, ninguno entregó resultados positivos, por lo cual es posible que la mayor parte de las semillas no fueran viables o bien que las técnicas aplicadas no sean adecuadas para esta especie, por lo cual se deberá evaluar otras técnicas que permitan determinar finalmente la calidad de semillas disponibles en las áreas en las cuales se encuentran estos ejemplares.

5.3 *Rescate de material vegetativo de Eulychnia iquiquensis.*

Los resultados del microruteo evidenciaron el estado de conservación en el cual se encontraban los ejemplares de *Eulychnia iquiquensis*, observándose un 10% de los ejemplares presentes en el sector presentaban algún grado de vigor que permitiera la colecta de material para su posterior propagación.

Dada esta situación, para el caso de esta cactácea, se realizó el rescate de todo el material disponible en los ejemplares que se verían afectados por los movimientos de tierras necesarios para la construcción e instalación del acueducto – concentraducto de

Minera Esperanza. Se colectó todo aquel tejido que presentara evidencias de sobrevivencia a las condiciones ambientales que esta especie se ha visto expuesta.

En la Figura 9 se presentan los ejemplares presentes en el trazado, en donde se puede apreciar el estado fitosanitario y de vigor vegetativo que presentaban estas cactáceas, observándose en algunos de ellos pérdida de material vegetativo, producto de la ausencia de humedad y otros factores en el sector.

La colecta del material se realizó en forma manual, mediante sierra y tijera podadora, extrayéndose la mayor cantidad de brazos que poseyera cada uno de los ejemplares.

En la figura 10 se grafica el proceso de colecta del material. De acuerdo a los compromisos, se debía colectar a lo menos 10 trozos por cada ejemplar, los cuales permitieran generar igual número de organismos para su relocalización. La figura 11 muestra las características del material colectado durante esta actividad.



Figura 9: Ejemplares de *Eulychnia iquiquensis* presentes en el área del trazado del acueducto-concentraducto de Minera Esperanza, se observa la falta de vigor de los ejemplares y humedad en el sector

5.3.1 Supervivencia de ejemplares *Eulychnia iquiquensis* en vivero.

La totalidad de los tejidos vegetales colectados durante el rescate de *Eulychnia iquiquensis* fueron tratados de acuerdo a técnicas disponibles para el desarrollo de cactáceas. Durante los primeros meses de establecimiento no se observaron pérdidas mortales o pérdidas del material colectado, observándose en los últimos meses una disminución gradual de vigor, sin ser evidentes las causas de esto (hongos u otras potenciales enfermedades).



Figura 10: Proceso de colecta de material vegetativo de ejemplares presentes en el área de trazado del acueducto - concentraducto de Minera Esperanza.



Figura 11: Características del material colectado de *Eulychnia iquiquensis*.

En la figura 12 se presenta el estado de los propágulos de esta cactácea, que se mantienen en el vivero del Instituto Antofagasta de Recursos Naturales de la Universidad de Antofagasta (IARnR).



Figura 12: Glomerulos de *Eulychnia iquiquensis* mantenidos en vivero en el Instituto Antofagasta de Recursos Naturales de la Universidad de Antofagasta. Las fotografías superiores muestran los ejemplares al inicio de la colecta y las inferiores a Enero de 2011.

5.4 Estado Actual de las poblaciones de flora nativa en Quebrada El Diablo-Michilla

5.4.1 Estado de la Población de *Nolana balsamiflua*.

La flora costera del extremo norte de Chile había sido muy poco estudiada hasta los registros realizados por Pinto durante El Niño de 1997 en la Región de Tarapacá (Muñoz et al, 2001). En ese trabajo se indica la presencia de 72 especies de plantas vasculares, de las cuales 31 (43%) son endémicas de Chile, 38 (52,8%) son nativas no endémicas y tres (4,2%) son adventicias. De las especies endémicas, 26 (36,1%) habitan sectores costeros entre las Regiones de Tarapacá y Coquimbo, sólo cinco especies endémicas sobrepasan este rango de distribución, tres hasta la Región de Valparaíso, y dos hasta las Regiones del Maule y Biobío. A la vez, cuatro especies corresponden a endémicas locales, es decir, están presentes sólo en la Región de Tarapacá. Anterior a este estudio, los antecedentes bibliográficos para la zona eran escasos y fragmentados (Johnston, 1929a 1929b). Por otro lado, existían muy pocas colectas de material vegetativo, donde destacan las realizadas durante el último tiempo por Sielfeld en 1992. (Sielfeld et al, 1995)

Nolana balsamiflua es una especie de la familia Nolanaceae (actualmente Solanaceae) que corresponde a una forma arbustiva anual, la cual de acuerdo a su estado de conservación se ha categorizado como Rara. Las especies de este grupo están adaptadas a ambientes de lomas áridas en las zonas costeras de Perú y Chile (Dillon et al, 2007), las cuales, cuando las condiciones de agua son favorables para el crecimiento, incrementan su floración por largos periodos de tiempo. (Tu et al, 2008)

Como ya se ha indicado, la flora nativa de las áreas costeras del norte de Chile ha sido escasamente estudiada, dedicándose los esfuerzos a la identificación botánica y caracterización de las floraciones en dichos sistemas, evaluándose en los últimos años los efectos que podría tener la ausencia de precipitaciones sobre el establecimiento y desarrollo de estas poblaciones.

En la actualidad, para estas especies vegetales la información disponible respecto de la producción de semillas, germinación y necesidades para su desarrollo es nula. Esto se

refleja en la literatura disponible sobre este grupo, la cual es escasa y ha estado referida principalmente a estudios filogenéticos, sin mayor aporte sobre qué factores determinan el desarrollo y establecimiento de estos organismos. (Tu et al. 2008)

Los estudios en ecofisiología de la germinación, banco y longevidad de semillas en especies nativas de Sudamérica son muy escasos, y hasta ahora no han sido analizados bajo una perspectiva común (Figueroa et al 2004).

La disponibilidad de agua vía precipitaciones es considerada uno de los principales factores limitantes de la germinación y establecimiento en plantas de desiertos (Bewley & Black 1994, Baskin & Baskin 1998, Gutiérrez et al. 2000).

Los resultados de los estudios de microruteos y de identificación taxonómica en el sector han indicado una muy baja presencia de ejemplares de *Nolana balsamiflua* en el área de influencia (solo 1 ejemplar), observándose la presencia de estos sólo en la parte inferior de la Quebrada el Diablo, correspondiendo la totalidad de los ejemplares observados en el área del trazado a la especie *Nolana linearifolia*.

Pese a estos resultados, y como una medida de compensación de los impactos que se pudieren haber generado durante la construcción del ducto es que se propuso intentar desarrollar los protocolos necesarios para el desarrollo de ejemplares a través de estacas y semillas. Los resultados obtenidos para el caso de estacas hasta el momento no han entregado resultados positivos, situación similar a lo observado con las semillas colectadas, lo cual estaría eventualmente explicado por la calidad de las semillas o bien por la fecha de colecta de estos propágulos.

Por otro lado, la ausencia de conocimiento respecto de la tolerancia de las semillas a la desecación, tiempo de sobrevivencia de embriones y variabilidad local de la humedad, temperatura y ciclos propios de los ejemplares, complica aún más la determinación de las técnicas adecuadas para la obtención de resultados adecuados para obtener ejemplares a través de la germinación de semillas, al incrementarse el número de variables que estaría en juego para “activar “ aquellas semillas producidas naturalmente por los ejemplares de *Nolana balsamiflua*.

5.4.2 Estado de la Población de *Eulychnia iquiquensis*.

Eulychnia iquiquensis, Rumpa o copao de Iquique es una especie endémica de la costa del norte de Chile, siendo en la actualidad la especie emblemática de los ecosistemas de niebla del acantilado costero de Arica a Antofagasta, ya que corresponde a la especie dominante en el sector. Sin embargo, las poblaciones de esta cactácea a lo largo del acantilado costero en el norte de Chile han sufrido una declinación alarmante.

Es así como actualmente esta especie se encuentra catalogadas como En peligro para el caso de la región de Tarapacá, y Vulnerable en el caso de las regiones de Antofagasta y Atacama.

Esta declinación estaría explicada principalmente por el proceso de aridización que ha sufrido estas áreas costeras en los últimos tiempos producto del cambio climático. Es por ello que la formación de neblina costera o "camanchaca", que se presenta a lo largo de la Cordillera de la Costa (700 y 1000 m de altitud) determina el desarrollo de la vegetación que conforma los ecosistemas de niebla costeros.

Es así, como ciclos La Niña y El Niño, determinan el comportamiento del régimen de precipitaciones y del aumento en el grosor de la capa de niebla (300 a 1000 m de altitud) (Pinto 2010), al ser la neblina costera una de las principales fuentes de agua para pequeñas comunidades vegetales que se desarrollan en las quebradas y vertientes occidentales de la Cordillera de la Costa (Armesto et al. 1993, Dillon & Hoffmann 1997)

Para el desarrollo del Microruteo, Rescate y Relocalización de flora en Sector Quebrada el Diablo – Michilla, se evaluó la presencia y estado de la población de la Rumpa de Iquique que existen en el sector.

Durante los estudios realizados en el sector de influencia del acueducto-concentraducto se observó un alto porcentaje de mortalidad, con valores que bordearon el 90 % especialmente en el tramo del ducto en la ladera norte de la Quebrada del Diablo (Figura 1). Por otro lado, la población estuvo caracterizada por la presencia de ejemplares seniles, no observándose organismos juveniles en el sector de influencia del proyecto.

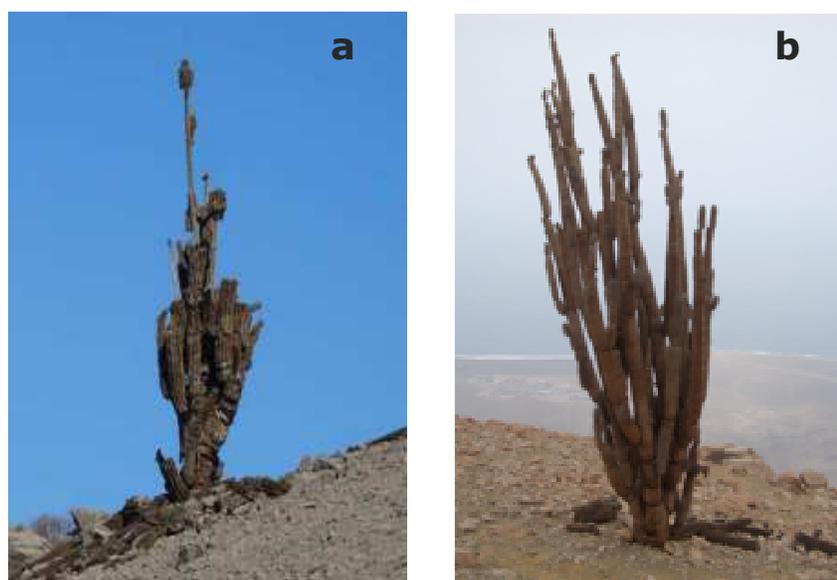


Figura 13: Estado de conservación de ejemplares en el sector de influencia de la instalación de acueducto-concentraducto de Minera Esperanza a) Línea base, b) Microruteo

La condición de los ejemplares observados en este levantamiento no difiere de los informados durante los estudios de línea base, así como tampoco con lo que ha sido observado en otros ambientes similares. Es así como Pinto (2007a , 2007b) y Pinto & Leubert (2009) ha indicado que en otros ambientes costeros de niebla del norte de Chile, como son los sectores de Cerros Camaraca en Arica, Quebrada la Chimba - Antofagasta y Chipana – Iquique, las mortalidades observadas superan el 70%, siendo la única excepción la población de ejemplares presentes en Morro Moreno – Antofagasta, lugar en donde el bosque de *Eulychnia* se encuentra en muy buenas condiciones.

La humedad proveniente de precipitaciones y de la condensación costera determina el desarrollo y floración de las especies de vegetación nativa, siendo vital para la germinación de semillas (De la Maza, 2009). La reducción del vigor de los ejemplares y su respectivo decaimiento estaría eventualmente inducida por la variabilidad local así como también por la variabilidad inducida por el ciclo La Niña-El Niño, y el consecuente cambio climático en el régimen de humedad relativa y precipitaciones.

Las actuales condiciones de la población de *Eulychnia* son poco promisorias, y evidencia el deterioro que esta comunidad vegetal ha sufrido en los últimos siglos. Por

ello, los esfuerzos deberían concentrarse en la conservación y estudio de las dinámicas de las poblaciones que se encuentren menos afectadas por la variabilidad ambiental.

6 REFORMULACION DE ACTIVIDADES

Dados los resultados obtenidos durante las experiencias previas, se decidió reformular y readecuar las actividades y metodologías necesarias para el cumplimiento de los compromisos ambientales para la mitigación de los efectos de la construcción del acueducto-concentraducto de Minera Esperanza.

6.1 *Rescate y relocalización *Nolana balsamiflua**

6.1.1 *Colecta y viabilidad de semillas de *Nolana balsamiflua*.*

Con la finalidad de obtener semillas de la especie *Nolana balsamiflua* se procedió a revisar el estado fenológico de poblaciones aledañas al área de influencia del proyecto, y así proceder a iniciar los ensayos de germinación.

Dado que con la formulación anterior no se obtuvo germinación de semillas, y que la especie se encontraba en etapa de floración al momento de la visita a terreno, se procedió a realizar ensayos de polinización cruzada para asegurar un mejor pool genético, de manera de incrementar la variabilidad genética de los propágulos generados, y por tanto se espera que las semillas sean de mejor calidad.

Para evitar pérdida de semillas por dispersión, éstas se embolsaron con tul, ya que este material deja pasar la luz y el aire sin problemas a la vez que retiene las semillas (Figura 14). La bolsa se mantendrá hasta que se evidencie claramente que existe formación de semillas lo que se verificará cada semana.



Figura 14: Flor embolsada de *Nolana balsamiflua* luego del cruzamiento

Durante las actividades de campo en donde se realizaron las experiencias de polinización cruzada, se pudo verificar la necesidad de polinizadores naturales para la formación de semillas, correspondiendo este polinizador a un individuo del grupo de las Lepidópteras. (Figura 15)



Figura 15: Lepidóptero polinizando flor de *Nolana balsamiflua*.

Junto con la colecta de las semillas tratadas, se colectarán semillas obtenidas en forma natural para verificar la viabilidad de cada uno de los grupos de semillas antes de dar inicio a los ensayos de germinación.

Para determinar la viabilidad de las semillas de *Nolana balsamiflua*, se procederá a cortarlas dejando expuesto el embrión y posteriormente sumergirlas en una solución de cloruro de trifenil tetrazolium para verificar la reacción de viabilidad, lo que se determina por un cambio de color en el embrión, dado una reacción química entre el CO₂ de la respiración y el cloruro de trifeniltetrazolium.

6.1.2 Germinación de las semillas de *Nolana balsamiflua*

Una vez obtenida la información de viabilidad, se procederá a iniciar un programa de germinación de semillas (Tabla 5) que contempla colocar 10 semillas por placa (considerando 10 réplicas) bajo diferentes regímenes de temperatura y fotoperiodo, además de estratificación considerando las temperaturas promedios de la zona de influencia del proyecto. Si la viabilidad de las semillas se encuentra por debajo del 70% se procederá a aumentar proporcionalmente el número de placas por tratamiento, hasta asegurar un mínimo de 100 plántulas. Es necesario aumentar el número de plántulas disponibles ante cualquier eventualidad de mortalidad por diferentes motivos que analizaremos en su momento. Las placas serán regadas periódicamente para evitar que las semillas se sequen durante el período de germinación. La hidratación es un proceso extremadamente importante en la germinación de las semillas.

TABLA 5: Tratamientos de germinación para *Nolana balsamiflua*

Código	Tratamientos
1	Agua destilada
2	Agua destilada + alusa
3	Agua destilada + escarificación
4	Agua destilada + alusa + escarificación
5	Giberelinas
6	Giberelinas + alusa
7	Giberelinas + escarificación
8	Giberelinas + alusa + escarificación

Una vez germinadas las semillas y que estas primeras plántulas alcancen una altura aproximada de 5 cm, serán trasladadas a un vivero que se construirá en terreno y cercano al lugar de plantación definitivo. Cuando estas plántulas alcancen una altura de aproximadamente 30 cm, serán trasladadas a su lugar definitivo, el cual deberá tener las mismas características de donde fue sacado, es decir, se verificará la altitud, exposición, tipo de suelo, etc. Aquí se procederá a monitorear periódicamente las plántulas y regarlas cada vez que sea necesario y hasta que se cumpla el plazo de un año. El objetivo de que alcancen un año de control es asegurarnos de que pasen por sus diferentes etapas fenológicas, incluyendo las de floración y fructificación.

6.1.3 Evaluación sistema de reproducción en *Nolana balsamiflua*

Para estimar el potencial sistema reproductivo de *N. balsamiflua*, realizamos cuatro ensayos de polinización manual (Kearns & Inouye 1993). De este modo, para estimar si este arbusto es capaz de producir semillas en ausencia de polen (*i.e.* agamospermia), efectuamos una prueba de apomixis en 82 botones florales, correspondientes a 21 individuos, los cuales fueron emasculados (*i.e.* escisión de las anteras) y embolsados, hasta el momento de la evaluación en la producción de semillas, para evitar cualquier contacto entre los estigmas y el polen transportado por potenciales polinizadores.

Similarmente, para verificar si este arbusto es capaz de producir semillas luego de recibir polen de la misma flor en ausencia de polinizadores que transporten el polen dentro de la flor (*i.e.* autogamia), efectuamos una prueba de autopolinización automática embolsando 110 botones florales no emasculados, correspondientes a 26 individuos, hasta el momento de la evaluación de la producción de semillas. Para estimar si este arbusto es capaz de producir semillas con polen del mismo individuo, pero transportado por sus polinizadores (*i.e.* geitonogamia), realizamos una prueba embolsando 41 botones florales correspondiente a 13 individuos, los cuales fueron previamente emasculados y luego polinizados manualmente con polen endógeno cuando los estigmas estuvieron receptivos. Finalmente, realizamos una cuarta prueba emasculando 104 botones florales, correspondientes a 23 individuos, los que al momento de la receptividad estigmática fueron polinizados manualmente con polen exógeno para estimar la magnitud en la producción de semillas con polen proveniente de otros individuos de la población (*i.e.* xenogamia).

Los resultados de estos tratamientos fueron registrados verificando la proporción de frutos y semillas producidos por flor cruzada experimentalmente cuando los ovarios alcanzaron la madurez, previo a la dispersión de las semillas. Luego, para determinar el grado de auto-compatibilidad, estimamos el índice de auto-incompatibilidad (ISI, por su sigla en inglés) como la proporción entre las semillas producidas por flor cruzada en las pruebas de geitonogamia y xenogamia (Ruiz-Zapata & Arroyo 1978). De este modo, valores de ISI cercanos al 0 indican auto-incompatibilidad, mientras que valores cercanos a 1 son indicadores de auto-compatibilidad (Ruiz-Zapata & Arroyo 1978).

6.2 *Rescate y relocalización Eulychnia iquiquensis*

Para la especie *Eulychnia iquiquensis* se procedió a revisar el estado fitosanitario IN-SITU de estos, para lo cual se tomó muestra de los ejemplares para determinar cuál es el motivo del pésimo estado en que se encuentran. Una vez obtenida esta información se procederá a buscar individuos sanos en toda el área del proyecto y así obtener

esquejes para poder reproducir la especie. Con el fin de obtener y mantener la variabilidad genética de la población se procederá a tomar esquejes de diferentes individuos.

Es importante ubicar el brazo más sano del individuo a cortar para asegurar el establecimiento posterior. Una vez cortado el brazo, con un machete, se procederá a dejar secar y cicatrizar las heridas producidas por el corte. Para esto se construirá un sitio de descanso en el mismo lugar donde se sacó el individuo. Posteriormente se procederá a colocar enraizante comercial en el lugar del corte y se esperará un tiempo de aproximadamente 40 a 50 días a que este produzca raíces, y luego se plantará en un sector predeterminado para ello y que considere las mismas características ambientales que el lugar de origen del individuo.

Dado que para esta especie en particular se trabajará con individuos que provienen de un lugar diferente al afectado por la construcción del concentrado, se procederá a sacar sólo un brazo de un individuo sano, y que se encuentre lo más cerca posible del individuo que fue sacado con motivo de la construcción del concentrado.

Al igual que con *Nolana balsamiflua*, se procederá a efectuar controles periódicos de esta especie los que contemplarán estado fitosanitario general, turgencia, largo de las espinas, inclinación de las espinas y estado fenológico. La presencia o ausencia de espinas es un dato muy importante ya que al ser hojas modificadas presentan la función de absorción de agua y por tanto se encontrará en directa relación con la turgencia y vigor del individuo.

6.3 Resultados de la reformulación.

6.3.1 Colecta y viabilidad de semillas de *Nolana balsamiflua*

Para la especie *Nolana balsamiflua* se procedió a colectar semillas en diferentes individuos cuyas coordenadas UTM (Datum WGS84) se encuentran en la Tabla 5. Estas semillas se colectaron con la finalidad de ejecutar ensayos de germinación y

posterior desarrollo de plántulas para recuperar los individuos que fueron extraídos al momento de realizar trabajos en el área del proyecto.

En primera instancia, se procedió a limpiar las semillas colectadas y separar las semillas que a simple vista se encontraban en buen estado fitosanitario de aquellas que presentaban signos de predación o alguna otra anomalía física. De las semillas aparentemente buenas se tomará el 10% para proceder a realizar ensayos de viabilidad.

Para desarrollar esta metodología, se procedió a cortar las semillas por la mitad de forma de dejar expuesto el embrión y posteriormente sumergirlas en una solución de 2,3,5 cloruro de trifeniltetrazolium, y así verificar la reacción de esta solución con la fase de respiración del embrión.

En la Tabla 6 se presenta el número de semillas limpias de cada uno de los individuos registrados en el área del proyecto. En términos generales aproximadamente el 60% de las semillas se encuentran en buen estado fitosanitario y por tanto serán las que se utilizarán para determinar la viabilidad del pool total de semillas.

Del total de semillas sanas se tomó el 10% de ellas para realizar los ensayos de viabilidad. En la Figura 16 se muestra la forma y posición del embrión, el que aparentemente se encuentra en buen estado. En la Tabla 7 se presentan los resultados obtenidos para determinar la viabilidad de las semillas de *Nolana balsamiflua*.

TABLA 6: Coordenadas de la ubicación de ejemplares de *Nolana balsamiflua* en el sector de Quebrada El Diablo, Michilla.

Ejemplar	Este	Norte
1	371682	7488170
2	371709	7488137
3	371605	7487993
4	371584	7487947
5	371583	7487944
6	371564	7487937
7	371521	7487877
8	371503	7487875
9	371456	7487795
10	371432	7487763
11	371426	7487746
12	371438	7487721
13	371411	7487654
14	371400	7487657
15	371400	7487645
16	371382	7487629
17	371431	7487730
18	371442	7487754

TABLA 7: Número total de semillas y el número y porcentaje de semillas sanas y predadas respectivamente.

Ejemplar	Total Semillas	Semillas Sanas	Semillas Sanas (%)	Semillas Predadas	Semillas Predadas (%)
1	22	10	45,45	12	54,55
2	20	11	55,00	9	45,00
3	20	17	85,00	3	15,00
4	924	568	61,47	356	38,53
5	430	313	72,79	117	27,21
6	87	75	86,21	12	13,79
7	304	230	75,66	74	24,34
8	153	84	54,90	69	45,10
9	64	35	54,69	29	45,31
10	365	253	69,32	112	30,68
11	82	82	100,00	0	0,00
12	36	26	72,22	10	27,78
13	219	123	56,16	96	43,84
14	61	48	78,69	13	21,31
15	41	35	85,37	6	14,63
16	219	151	68,95	68	31,05
17	64	64	100,00	0	0,00
18	170	96	56,47	74	43,53
Totales		2221		1060	



Figura 16: Semillas cortadas donde se observa claramente el embrión.

Es interesante observar que a pesar de la gran cantidad de semillas que produce esta especie, solo el 60% de ellas presentan un estado fitosanitario adecuado como para poder germinar en forma natural, es decir, se encuentran viables. Estos resultados también se condicen claramente con lo que se observa en terreno, en el cual no es factible observar plántulas que nos indiquen que esta especie se estuviese reproduciendo por medio de reproducción sexual y por tanto, aparentemente, el único tipo de reproducción que estaría predominando es el vegetativo. En la Figura 17 se muestra el embrión teñido lo que demuestra que este está respirando normalmente y en la Figura 18 se muestran aquellos embriones que no se tiñeron y por tanto no se encuentran vivos.

TABLA 8: Resultados de la viabilidad de semillas.

Ejemplar	Total Semillas	Semillas probadas	Semillas viables	Semillas viables (%)	Semillas no viables	Semillas no viables (%)
1	10	1	1	100,00	0	0,00
2	11	1	1	100,00	0	0,00
3	17	2	2	100,00	0	0,00
4	568	57	50	87,72	7	12,28
5	313	31	21	67,74	10	32,26
6	75	8	5	62,50	3	37,50
7	230	23	14	60,87	9	39,13
8	84	8	4	50,00	4	50,00
9	35	4	2	50,00	2	50,00
10	253	25	21	84,00	4	16,00
11	82	8	5	62,50	3	37,50
12	26	3	2	66,67	1	33,33
13	123	12	7	58,33	5	41,67
14	48	5	3	60,00	2	40,00
15	35	4	2	50,00	2	50,00
16	151	15	10	66,67	5	33,33
17	64	6	4	66,67	2	33,33
18	96	10	7	70,00	3	30,00



Figura 17: Vista de embrión con reacción positiva al 2, 3, 5 cloruro de trifenil tetrazolium



Figura 18: Semillas donde no se tiño el embrión

6.3.2 Germinación de las semillas de *Nolana balsamiflua*

En cuanto a la germinación de las semillas podemos observar que claramente el mejor tratamiento para provocar la germinación de las semillas de *Nolana balsamiflua* es la adición de un compuesto que acelere la germinación como lo son las giberelinas. El segundo factor importante para la germinación es la escarificación de las semillas, las cuales poseen una testa muy dura que seguramente es ablandada por la presencia de hongos en terreno.

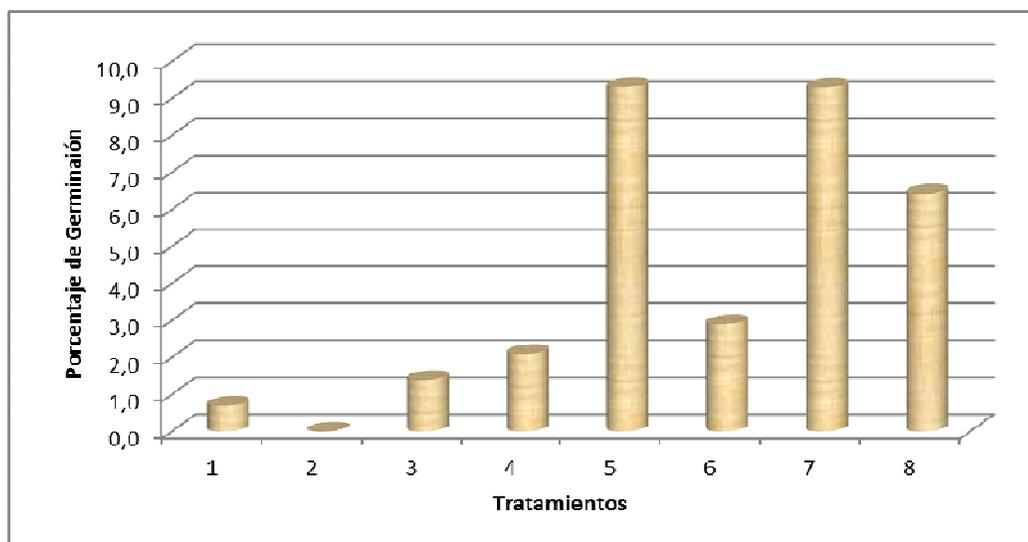


Figura 19. Porcentaje de germinación de semillas versus tratamientos en *Nolana balsamiflua*.

A pesar de la cantidad de semillas que han germinado a la fecha, solo 26 de ellas han podido llegar a ser trasplantadas en la próxima fase que implica el traspaso de la placa a vasos con vermiculita. Junto con esto de estas 26 semillas trasplantadas solo 5 se encuentran vivas. Una razón para esto es que las almacigueras no sean del tamaño apropiado y otra, quizás la más importante, sea que la vermiculita, al ser un sustrato estéril, no aporta ningún nutriente a nuestras plántulas. Por este motivo, se procedió a realizar una mezcla de tierra más vermiculita para poder ingresar nutrientes del lugar de desarrollo natural, a nuestras plántulas. Junto a esto se les trasladó a un sector con un poco más de altitud y sin temperaturas tan elevadas con la finalidad de imitar mejor las condiciones naturales de esta especie.

Es importante destacar también que a la fecha han germinado dos semillas que corresponden a un grupo que no fue regado con giberelinas, pero que si fueron escarificadas y tapadas con alusa. Se espera que si las semillas siguen siendo regadas apropiadamente y controladas periódicamente, todas las semillas, independiente del tratamiento aplicado, debieran de germinar. A pesar de esto y para asegurar una buena obtención de plántulas se procederá a elegir el tratamiento que haya dado mejores resultados en ensayos posteriores.



Figura 20. Diferentes situaciones de las plántulas obtenidas

6.3.3 Sistema reproductivo en *Nolana balsamiflua*

La producción de semillas difirió significativamente dependiendo de la presencia o ausencia de polen, el origen del polen, así como de la presencia o ausencia de vectores polínicos (Tabla 1). De hecho, ninguna flor produjo semillas mediante la prueba de agamosperma indicando, por lo tanto, que esta planta requiere de polen que fecunde los óvulos para producir semillas (Tabla 1). Similarmente, las flores expuestas a los ensayos de autogamia y geitonogamia no produjeron semillas indicando que *N. balsamiflua* no es capaz de producir semillas con polen endógeno aun cuando esta sea asistida por polinizadores (Tabla 1). Por el contrario, el ensayo de xenogamia dio cuenta de un 51,4% en el éxito de fructificación, produciendo 1,5 semillas por flor cruzada experimentalmente. Consecuentemente, el ISI dio 0,00 indicando que *N. balsamiflua* es un arbusto completamente auto-incompatible y, por lo tanto, completamente dependiente de polinizadores para la producción de semillas.

TABLA 9: Número de flores cruzadas, y producción de frutos y semillas en *Nolana balsamiflua* luego de cuatro ensayos de polinización manual en el desierto de Atacama en Chile.

Ensayo de polinización	No. de plantas	No. de flores	No. de frutos / flor	No. de semillas / flor
Agamospermia	21	82	0.000	0.000
Autogamia	26	110	0.000	0.000
Geitonogamia	13	41	0.000	0.000
Xenogamia	23	104	0.514	1.542

6.4 *Eulychnia iquiquensis*

Para el caso de los ejemplares de *Eulychnia iquiquensis* se procedió a recorrer el área del proyecto con la finalidad de detectar individuos que se encontraran en un buen estado fitosanitario. Considerando que de acuerdo a lo indicado anteriormente solo el 10% o menos del total de los individuos registrados en la población presentan tales condiciones, solo se observaron 6 individuos cuya ubicación se indican en la Tabla 8.

TABLA 10: Coordenadas de las individuos de *Eulychnia iquiquensis*

Ejemplar	Este	Norte
1	371698	7488741
2	371630	7488697
3	371636	7488659
4	371689	7488659
5	371694	7488602
6	371725	7488693

Una vez seleccionados y georeferenciados los ejemplares, se procedió a cortar un brazo (el que presentara mejores características de vigor en el individuo) con la ayuda de un machete (Figura 19), y luego colocados sobre una cama de malla Rachel (Figura 20) hasta que se sequen las heridas producidas por el corte. Se mantendrán en esta situación hasta por aproximadamente 15 días y posteriormente se les colocará un enraizante para luego trasplantarlos a su lugar definitivo.



Figura 19: Diferentes situaciones en la fase de corte del brazo de *Eulychnia iquiquensis*



Figura 20 Cama de descanso de los individuos de *Eulychnia iquiquensis* cortados.

7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se ha incrementado el número de especies registradas en el sector (14) en comparación a la información entregada por los estudios de línea base.

Los resultados de los estudios de microruteos y de identificación taxonómica en el sector han indicado que la presencia de ejemplares de *Nolana balsamiflua* en el área de influencia es baja, observándose sólo ejemplares en la parte inferior de la quebrada el Diablo, correspondiendo la totalidad de los ejemplares observados en el área de influencia del proyecto a la especie *Nolana linearifolia*.

Pese a estos resultados, y como una medida de compensación de los impactos que se pueden haber generado durante la construcción del ducto es que se desarrollaron de igual forma los experimentos de enraizamiento, los cuales no entregaron resultados promisorios, situación similar a lo observado con las semillas colectadas, lo cual estaría explicado por la calidad de las semillas o bien por la fecha de colecta de estos propágulos, ante lo cual se realizaron nuevas experiencias con semillas colectadas directamente de ejemplares presentes en el sector bajo de la quebrada, los cuales han reportado resultado positivos a los nuevos tratamientos empleados.

El actual estado de aridización de la zona costera, ha generado impactos importantes sobre la disponibilidad del recurso hídrico, siendo este un elemento vital en los procesos de germinación, propagación, desarrollo y establecimiento de formaciones vegetales.

Eulychnia iquiquensis es la especie emblemática de los ecosistemas de niebla del acantilado costero del norte de Chile. Corresponde a la especie dominante en el sector, sin embargo, la declinación de la población a lo largo del acantilado costero en el norte de Chile es alarmante. Esto debido al proceso de aridización de los últimos tiempos producto del cambio climático.

El alto porcentaje de mortandad (90 %) registrado para el tramo del ducto en la ladera norte de la Quebrada del Diablo, es similar a lo registrado en Cerro Camaraca en Arica (Pinto, 2007a). En tanto en otros ecosistemas de niebla costeros, el porcentaje de mortandad fluctúa alrededor del 70 % (Ecosistemas de niebla como La Chimba en Antofagasta y Chipana en Iquique según

Pinto, 2007a y b). Una excepción a ello ocurre en Morro Moreno, en donde la población de *Eulychnia* se encuentra en muy buenas condiciones, primero producto principalmente por el aislamiento geográfico que posee en comparación a las demás poblaciones que no se encuentran separadas por barreras geográficas y luego por las características del microclima que se genera en el sector de Morro Moreno.. Esto refleja la situación actual de desecamiento que ha estado afectando en los últimos tiempos a los ecosistemas de niebla a lo largo del acantilado nortino, siendo estos cambios inducidos fuertemente por la variabilidad climática local, así como por los cambios inducidos por el Ciclo La Niña-El Niño en los regímenes de humedad y precipitaciones (De la Maza et al, 2009).

Los ejemplares de esta cactácea inicialmente soportaron las condiciones de cultivo en vivero, sin embargo posteriormente (alrededor de 1 año) el material ha presentado altas mortalidades, lo cual estaría evidenciando la mala calidad del material colectado, al tratarse de organismos que presentaban un bajo vigor o bien a trozos que se mantenían aparentemente vivos en ejemplares que ya habrían expirado, situación que ha sido observada ampliamente en ambientes de acantilados costeros a lo largo del norte de Chile y que ha sido ampliamente informado por Pinto, 2007a y b

En el caso de *Eulychnia iquiquensis*, dados los antecedentes expuestos en este reporte, la probabilidad de éxito en el cumplimiento de la medida de compensación es muy escasa, o casi nula.

8 BIBLIOGRAFIA

- Armesto J.J., P.E. Vidiella & J.R. Gutierrez (1993) Plant communities of the fog-free coastal desert of Chile: plant strategies in a fluctuating environment. *Revista Chilena de Historia Natural* 66: 271-282.
- Baskin C. & J. Baskin (1998) *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press. San Diego. 666 pp.
- Bewley J.D. & M. Black (1994) *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York and London. 445 pp.
- De La Maza, M., M. Lima, P. L. Meserve, J. R. Gutiérrez & F. M. Jaksic 2009. Primary production dynamics and climate variability: ecological consequences in semiarid Chile *Global Change Biology* 15, 1116–1126
- Dillon M.O. & A.E. Hoffmann (1997) Lomas Formation of the Atacama Desert: Northern Chile. En: Davis SD, VH Heywood, O Herrera-MacBryde, J Villa-Lobos & AC Hamilton (eds) *Centres of Plant Diversity: A Guide and Strategy for their Conservation*: 528-535. The World's Wide Fund for Nature (WWF) and IUCN- The World Conservation Union, Cambridge.
- Dillon, M.O., T. Tu, A. Soejima, T. Yi, Z. Nie, A. Tye & J. Wen. 2007. Phylogeny of *Nolana* (Solanoideae-Solanaceae) inferred from granule-bound starch synthase I (GBSSI or Waxy) marker. *Taxon* 56: 1000-1011.
- Figuroa, J.A. P. Leon-Lobos, L. A. Cavieres, H. Pritchard & M. Way 2004. Ecofisiología de semillas en ambientes contrastantes de Chile: un gradiente desde ecosistemas desérticos a templados-húmedos En: *Fisiología ecológica en plantas Mecanismos y respuestas a estrés En los ecosistemas* Ed: H. Cabrera Valparaíso (Chile) 81 – 98.

- Gutiérrez J.R., G. Arancio & F.M. Jaksic (2000) Variation in vegetation and seed bank in a Chilean semi-arid community affected by ENSO 1997. *Journal of Vegetation Science* 11: 641-648.
- Johnston, I.M. 1929a. The coastal flora of the departments of Chanaral and Taltal. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 85: 1-138.
- Johnston, I.M. 1929b. The flora of the Nitrate Coast. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 85: 138-163.
- Kearns, C.A. & D.W. Inouye. 1993. *Techniques for Pollination Biologists*. Colorado, U.S.A: University Press of Colorado. Colorado.
- Muñoz-Schick, M., R. Pinto, A. Mesa & A. Moreira-Muñoz. 2001. "Oasis de neblina" en los cerros costeros del sur de Iquique, región de Tarapacá, Chile, durante el evento El Niño 1997-1998. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 389-405.
- Pinto, R. 2007a. Estado de conservación de *Eulychnia iquiquensis* (Schumann) Britton et Rose (Cactaceae) en el extremo norte de Chile. *Gayana Botánica* 64(1):97-108.
- Pinto, R. 2007b. Relevamiento de la Flora de la Reserva Nacional La Chimba. CONAF II Región, 53 pp.
- Pinto, R. & F. Leubert. 2009. Datos sobre la flora vascular del desierto costero de Arica y Tarapacá, Chile y sus relaciones fitogeográficas con el sur de Perú. *Gayana Bot.* 66(1):29-50.
- Pinto, R. 2010. Estudio de la flora costera, evento el niño 2009, Región de Tarapacá. Comisión Nacional de Medio Ambiente, 30 pp.

- Reiche, C. 1897. Estudios críticos sobre la flora de Chile. Anales de la Universidad de Chile 97: 725-790.
- Ruiz-Zapata, T. & M.T.K. Arroyo. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous forest in Venezuela. Biotropica 10: 221-230.
- Sielfeld, W., E. Miranda & J. Torres. 1995. Información preliminar sobre los oasis de niebla de la costa de la primera región de Tarapacá. Programa de Recursos Hídricos y Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat, Iquique, 55 pp.
- Tu, T., M. O. Dillon, H. Sun, and J. Wen. 2008. Phylogeny of *Nolana* (Solanaceae) of the Atacama and Peruvian deserts inferred from sequences of four plastid markers and the nuclear *LEAFY* second intron. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49:561-573.

9 ANEXOS

Coordenadas, riqueza, abundancia de especies y porcentajes de mortalidad de la flora vascular presente en el área de influencia de la construcción del acueducto-concentraducto de Minera Esperanza (Campaña 1 y 2 de microruteo respectivamente)

Coordenadas UTM		altitud	Nolana linearifolia		Tegragonia angustifolia		Nolana clivicola		Nolana sedifolia cfr		Nolana paruviana		Eulychnia liquensis		Cumulopuntia shpaerica		Lycium chañar		Ephedra breana		Proustia cuneifolia		Ophryosporus triangularis		Deuterococchia chrysantha		
Datum WGS 84		m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v
373692	7489475	796	3	2																							
373653	7489447	793	2		1	3																					
373630	7489440	793			1																						
373624	7489434	790			1																						
373613	7489469	797	3	2	1	1																					
373592	7489413	789	2	1																							
373554	7489398	786	1																								
373549	7489394	786	1																								
373543	7489390	785	1	2																							
373534	7489388	783		1																							
373528	7489380	783	1																								
373448	7489356	777	1																								
373445	7489350	774	1					1																			
373433	7489348	775	1		1		1																				
373430	7489354	774			1																						
373417	7489342	774	1																								
373404	7489339	772	1																								
373399	7489337	773	1																								
373391	7489335	773	1																								
373387	7489333	773			1																						
373382	7489332	771	1																								
373381	7489332	770	1																								
373375	7489331	770	1																								
373369	7489328	770	2																								
373347	7489318	769			1																						
373318	7489304	765	1				1																				
373211	7489292	759	3		1			1																			
373216	7489308	761	1																								
373206	7489303	757			1																						
373171	7489314	753	1																								
373151	7489326	753	1																								
373131	7489336	751	1																								
373127	7489338	751	1	2	1																						
373063	7489353	745	1	1																							
372974	7489358	739	1																								
372886	7489420	736					1																				
372881	7489428	736				1																					
372877	7489434	736						1																			
372858	7489455	737	1																								
372851	7489465	737	1																								
372827	7489501	739		1																							
372834	7489490	738	1																								
372780	7489531	743							1				1														
371703	7488753	781						1																			
371700	7488746	780											1														
371663	7488708	783													1												
371612	7488683	775																6									
371609	7488703	766																1			2						
371610	7488688	767																									
371612	7488676	765																									
371629	7488652	771																									
371595	7488618	748																	2								
371493	7488457	703																									
371474	7488418	696																									
371488	7488419	694														2				3	3						
371483	7488407	690																									
371490	7488395	685																									
371498	7488389	676																									
371487	7488365	675																									
436030	7647941	748																									
371485	7488399	684																				2	1				
371477	7488393	684																						2	2		
371454	7488384	688												1													
371452	7488380	687																									
371444	7488384	683																									
371428	7488341	673																									
371400	7488302	662												1													
371386	7488261	652												1													
371345	7488218	638												1													
Total			40	12	10	6	1	5	1	0	1	0	13	189	0	3	4	10	7	5	5	2	2	2	0	3	
% mortalidad				23		38		83						91		100		71		42		29		50		100	

Coordenadas UTM	altitud	Nolana linearifolia		Tegragonia angustifolia		Nolana clivicola		Nolana peruviana		Ephedra breana		Ophryosporus triangularis	
		v	m	v	m	v	m	v	m	v	m	v	m
Datum WGS 84	m												
373445	7489350		774				1						
373364	7489369		770		1								
373367	7489366		768	1									
373358	7489348		766	1									
373358	7489339		765	1									
373352	7489332		764		1								
373208	7489300		750	1									
373205	7489302		749		1								
372780	7489531		743						1				
373066	7489353		738	1									
372829	7489577		736		1								
371683	7488158		429	1									
371672	7488165		427	1									
371672	7488151		424										1
371673	7488150		422	1									
371670	7488144		423	1									
371651	7488118		414	1									1
371649	7488115		413		1								
371644	7488100		412							1			
371642	7488087		409										
371636	7488082		408	1					1				
371626	7488073		407	3									
371627	7488060		407		1								
371620	7488048		405										1
371618	7488042		404	1									
371607	7488026		401	1									
371607	7488024		400	1									
371605	7488020		399	1									
371605	7488010		399	1									
371602	7488010		398	1									
371588	7487990		395	1									
371582	7487978		393	1									
371582	7487978		393	1									
371573	7487966		390										
371583	7487952		391										
371526	7487880		378										
371507	7487872		376										
371495	7487853		373	2									
371493	7487851		373	1									
371492	7487842		372	2									
371487	7487829		371	1									1
371473	7487812		366										1
371470	7487808		367						1				1
371468	7487805		366	1									
371455	7487783		363							1			
371449	7487768		362							1			
371444	7487761		359	1									
371443	7487761		362							1			
371427	7487734		359										1
371434	7487722		358										1
371410	7487690		352	1									
371410	7487681		352	1									
371402	7487662		350										
371392	7487655		348	2									
Total			35	1	5	0	1	0	3	0	4	0	8
% mortandad				3	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Borrador artículo

**“NOLANA BALSAMIFLUA(GAUDICH.) MESA (SOLANACEAE), UN ARBUSTO
VULNERABLE DEL DESIERTO DE ATACAMA TOTALMENTE DEPENDIENTE DE
POLINIZADORES PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS”**

1 *NOLANA BALSAMIFLUA*(GAUDICH.) MESA (SOLANACEAE), UN ARBUSTO
2 VULNERABLE DEL DESIERTO DE ATACAMA TOTALMENTE DEPENDIENTE DE
3 POLINIZADORES PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

4

5 *NOLANA BALSAMIFLUA* (SOLANACEAE), A VULNERABLE SHRUB OF THE
6 ATACAMA DESERT TOTALLY DEPENDENT ON POLLINATORS FOR SEED SET

7

8

RESUMEN

9

10 La dependencia de polinizadores para el transporte de polen es de gran importancia para la
11 reproducción de las plantas con flores. Evaluamos el sistema reproductivo putativo en una
12 población del arbusto amenazado del Desierto de Atacama, *Nolana balsamiflua*, realizando
13 cuatro ensayos de polinización manual para estimar su capacidad de producir semillas
14 mediante agamospermia, autogamia, geitonogamia y xenogamia. La producción de semillas
15 difirió significativamente dependiendo del origen del polen así como de la presencia de un
16 vector polínico. De hecho, ninguna flor produjo semillas por la prueba de agamospermia
17 indicando, por lo tanto, que esta planta requiere de polen que fecunde los óvulos para
18 producir semillas. Similarmente, las flores expuestas a los ensayos de autogamia y
19 geitonogamia no produjeron semillas indicando que *N. balsamiflua* no es capaz de producir
20 semillas a través de autopolinización aun cuando esta es asistida por polinizadores. Por el
21 contrario, el ensayo de xenogamia dio cuenta de un 51,4% en el éxito de fructificación,
22 produciendo 1,5 semillas por flor cruzada experimentalmente. Esto apunta a considerar que
23 esta planta depende totalmente de polinizadores para el transporte de polen entre los
24 diferentes individuos en la población con el propósito de asegurar su reproducción. Por lo
25 tanto, para la conservación de esta especie es absolutamente mandatorio incorporar sus
26 polinizadores dentro de los programas de manejo.

27

28 **Palabras claves:** xenogamia, dependencia de polinizadores, producción de semillas,
29 ambientes áridos.

2

30

31

ABSTRACT

32

33 The dependency on pollinators by plants for outcross pollen transportation is of great
34 importance for plant reproduction. We evaluated the putative breeding system in one
35 population of the threatened shrub of the Atacama Desert, *Nolana balsamiflua*, by
36 performing four hand pollination trials to estimate its seed production
37 through agamospermy, autogamy, geitonogamy, and xenogamy. Seed set differed
38 significantly depending on the origin of pollen as well as on the presence of a pollen
39 vector. In fact, no flower produced seeds by the agamospermy test, therefore indicating that
40 this plant totally depends on pollen to fertilize its ovules and thus produces seeds. Similarly,
41 flowers exposed to the autogamy and geitonogamy tests did not set seeds, thus indicating
42 that *N. balsamiflua* is not capable of seed setting through self-pollination even when it is
43 assisted by pollinators. By contrast, the xenogamy test accounted for by 51.4% of fruiting
44 success, producing 1.5 seeds per experimentally crossed flower. This points to consider that
45 this plant totally relies on pollinators for pollen transportation between different
46 individuals within the population in order to ensure its reproduction. Therefore, to conserve
47 this species is absolutely mandatory to incorporate its pollinators into any management
48 program.

49

50 **Keywords:** xenogamy, pollinator-dependency, seed production, arid environments.

51

52

INTRODUCCIÓN

53

54 El sistema reproductivo de la plantas es un rasgo de historia de vida que determina la forma
55 en que los genes se transmiten dentro y entre los diferentes individuos y poblaciones de una
56 determinada especie (Lovett-Doust&Lovett-Doust 1988, Richards 1997).Por lo tanto, su
57 determinación es de gran importancia para comprender los estadios iniciales del ciclo
58 reproductivo y, finalmente, la vulnerabilidad de las poblaciones enfrentadas a distintas
59 perturbaciones ambientales, sean de origen humano o natural (Aizen& Vázquez 2006).

60 En términos simples, hay cuatro vías putativas por las cuales las plantas pueden
61 producir semillas: agamosperma, autogamia, geitonogamia y xenogamia (Lovett-
62 Doust&Lovett-Doust 1988, Richards 1997). En las plantas con flores, la agamosperma es
63 la reproducción asexual a través de semillas, las cuales son producidas en ausencia de polen
64 que fertilice los óvulos. Por el contrario, la autogamia representa la reproducción sexual a
65 través de semillas en un proceso en el cual los óvulos son fertilizados con el polen
66 producido por la misma flor, aunque en ausencia de un vector polínico (*i.e.* polinizador)
67 que movilice el polen desde las anteras hasta los estigmas. Al igual que ocurre en la
68 autogamia, la geitonogamia se refiere a la producción de semillas mediante la fertilización
69 de los óvulos con polen producido por flores distintas a la productora de la semilla, pero
70 correspondiente al mismo individuo, el cual, sin embargo, es transportado por
71 polinizadores. Finalmente, la xenogamia representa la producción de semillas mediante la
72 fecundación de los óvulos de una determinada planta con polen proveniente de otros
73 individuos de la población o, incluso, poblaciones vecinas (Lovett-Doust&Lovett-Doust
74 1988, Richards 1997).

75 Ciertamente, la xenogamia es la única vía reproductiva que permite el intercambio
76 de genes entre los individuos, permitiendo así modificar el acervo genético de las
77 poblaciones y, consecuentemente, su adaptabilidad frente a eventuales modificaciones
78 ambientales (Lovett-Doust&Lovett-Doust 1988, Richards 1997). No obstante, el empleo de
79 este mecanismo plantea la dependencia porpolinizadores, lo cual redundo en una mayor

4

80 vulnerabilidad de las plantas frente a perturbaciones ambientales, sean de origen humano o
81 natural, debido no solo a los posibles impactos directos sobre el contingente poblacional de
82 las plantas, sino también a los impactos indirectos que ocurren a través de las
83 modificaciones del contingente poblacional de sus polinizadores (Aizen & Vázquez 2006).

84 En Chile, los sistemas reproductivos se han estudiado en numerosa especies, aunque
85 mayormente en aquellas habitantes del centro y sur del país (e.g. Arroyo & Squeo 1990,
86 Humaña & Valdivia 2004, Humaña *et al.* 2008, Valdivia & Niemeyer 2006, Valdivia *et al.*
87 2010). De hecho, las especies que se desarrollan en el Desierto de Atacama se encuentran
88 notablemente ausentes de este tipo de evaluaciones, pese a la vulnerabilidad que pueden
89 enfrentar sus poblaciones debido a las restricciones impuestas por sus sistemas
90 reproductivos y los factores extrínsecos como las perturbaciones antrópicas.

91 El objetivo del presente trabajo es estimar el sistema reproductivo putativo del
92 arbusto endémico y vulnerable *Nolana balsamiflua* (Gaudich.) Mesa (Solanaceae), en una
93 población amenazada cercana a Mejillones, para así establecer las potenciales vías de
94 producción de semillas de esta especie y, finalmente, discutir aspectos relacionados con su
95 manejo y conservación.

96

97

METODOS

98

99 SITIO Y ESPECIE EN ESTUDIO

100

101 El trabajo de campo se desarrolló en la temporada reproductiva desde diciembre de 2011 y
102 marzo de 2012, en dos quebradas costeras, cercanas entre sí, ubicadas en la Región de
103 Antofagasta, Chile (22°42'S, 70°15'W). En el sitio de estudio el clima es hiperárido con
104 magros aportes hídricos provenientes casi exclusivamente de la niebla oceánica matinal y
105 lluvias intermitentes cada 4 a 7 años (Luebert & Pliscoff 2006). La vegetación corresponde
106 al Matorral Desértico Tropical Costero de *Ephedra breana* y *Eulychnia iquiquensis*, el cual

5

107 es extremadamente xeromórfico, con extensas áreas desprovistas de vegetación que son
108 interrumpidas por quebradas donde la concentración de nieblas matinales permite el
109 desarrollo de una cobertura vegetal escasa (véase Luebert & Pliscoff 2006).

110 *Nolana balsamiflua* es un arbusto endémico de Chile, habitante de la costa de la
111 Región de Antofagasta. Pequeño, de 1 a 1,5 m. de altura, perenne, erecto, muy ramificado,
112 densamente poblado de hojas, glanduloso, pubescente. Las flores son hermafroditas,
113 campanuladas, lilas de 2,5 a 3 cm de long. Presentan estambres desiguales de 9 a 12 mm.,
114 con estilos de 5 cm de long. y estigmas capitados. Los frutos están compuestos por 2 a 3
115 mericarpos (Eggl 2004). Filogenéticamente se encuentra fuertemente emparentada con *N.*
116 *linearifolia* y *N. sessiliflora*, conformando un clado enteramente endémico del Desierto de
117 Atacama (Tu *et al.* 2008).

118

119 SISTEMA REPRODUCTIVO

120

121 Para estimar el potencial sistema reproductivo de *N. balsamiflua*, realizamos cuatro ensayos
122 de polinización manual (Kearns&Inouye 1993). De este modo, para estimar si este arbusto
123 es capaz de producir semillas en ausencia de polen (*i.e.* agamospermia), efectuamos una
124 prueba de apomixis en 82 botones florales, correspondientes a 21 individuos, los cuales
125 fueron emasculados (*i.e.* escisión de las anteras) y embolsados, hasta el momento de la
126 evaluación en la producción de semillas, para evitar cualquier contacto entre los estigmas y
127 el polen transportado por potenciales polinizadores. Similarmente, para verificar si este
128 arbusto es capaz de producir semillas luego de recibir polen de la misma flor en ausencia de
129 polinizadores que transporten el polen dentro de la flor (*i.e.* autogamia), efectuamos una
130 prueba de autopolinización automática embolsando 110 botones florales no emasculados,
131 correspondientes a 26 individuos, hasta el momento de la evaluación de la producción de
132 semillas. Para estimar si este arbusto es capaz de producir semillas con polen del mismo
133 individuo, pero transportado por sus polinizadores (*i.e.* geitonogamia), realizamos una
134 prueba embolsando 41 botones florales correspondiente a 13 individuos, los cuales fueron
135 previamente emasculados y luego polinizados manualmente con polen endógeno cuando

6

136 los estigmas estuvieron receptivos. Finalmente, realizamos una cuarta prueba emasculando
137 104 botones florales, correspondientes a 23 individuos, los que al momento de la
138 receptividad estigmática fueron polinizados manualmente con polen exógeno para estimar
139 la magnitud en la producción de semillas con polen proveniente de otros individuos de la
140 población (*i.e.* xenogamia).

141 Los resultados de estos tratamientos fueron registrados verificando la proporción de
142 frutos y semillas producidos por flor cruzada experimentalmente cuando los ovarios
143 alcanzaron la madurez, previo a la dispersión de las semillas. Luego, para determinar el
144 grado de auto-compatibilidad, estimamos el índice de auto-incompatibilidad (ISI, por su
145 sigla en inglés) como la proporción entre las semillas producidas por flor cruzada en las
146 pruebas de geitonogamia y xenogamia (Ruiz-Zapata & Arroyo 1978). De este modo,
147 valores de ISI cercanos al 0 indican auto-incompatibilidad, mientras que valores cercanos a
148 1 son indicadores de auto-compatibilidad (Ruiz-Zapata & Arroyo 1978).

149 Finalmente, estimamos la viabilidad de las semillas producidas por los tratamientos
150 de polinización manual mediante la prueba bioquímica de tetrazolio, disectando una semilla
151 por fruto producido en cada tratamiento y exponiendo el embrión a la solución de tetrazolio
152 por 24 h en condiciones de oscuridad. Solo aquellas semillas que evidenciaron tinción
153 fueron consideradas viables.

154

155 RESULTADOS

156

157 La producción de semillas difirió significativamente dependiendo de la presencia o
158 ausencia de polen, el origen del polen, así como de la presencia o ausencia de vectores
159 polínicos (Tabla 1). De hecho, ninguna flor produjo semillas mediante la prueba de
160 agamosperma indicando, por lo tanto, que esta planta requiere de polen que fecunde los
161 óvulos para producir semillas (Tabla 1). Similarmente, las flores expuestas a los ensayos de
162 autogamia y geitonogamia no produjeron semillas indicando que *N. balsamiflua* no es
163 capaz de producir semillas con polen endógeno aun cuando esta sea asistida por

7

164 polinizadores (Tabla 1). Por el contrario, el ensayo de xenogamia dio cuenta de un 51,4%
165 en el éxito de fructificación, produciendo 1,5 semillas por flor cruzada experimentalmente.
166 Consecuentemente, el ISI dio 0,00 indicando que *N. balsamiflua* es un arbusto
167 completamente auto-incompatible y, por lo tanto, completamente dependiente de
168 polinizadores para la producción de semillas.

169 De las 32 semillas analizadas para su viabilidad, correspondientes a la prueba de
170 xenogamia, 30 (93,8%) resultaron viables.

171

172

173

174

175

DISCUSIÓN

176

177 *Nolana balsamiflua* es un arbusto amenazado del Desierto de Atacama, el cual se encuentra
178 completamente impedido de auto-fecundarse ya sea en ausencia o presencia de
179 polinizadores; razón por la cual depende completamente de polinizadores para asistir su
180 reproducción mediante el movimiento de polen solo entre individuos distintos de la
181 población, lo que da origen a semillas mayormente viables.

182 Aun cuando se ha reportado que la agamospermia ocurre en 30 familias de plantas
183 con flores, siendo especialmente común en rosáceas y gramíneas, las especies
184 agamospérmicas usualmente corresponden a los derivados poliploides de la hibridación
185 entre reproductores incompatibles (Holsinger 2000). Por ello, a pesar de que a la fecha no
186 existe ningún reporte del cariotipo de *N. balsamiflua* que la señale como una especie
187 poliploide, no existe evidencia para sospechar que la agamospermia es una de vía
188 reproductivas legítima de esta especie a lo largo de todo su rango geográfico de
189 distribución, más allá de la población aquí estudiada.

190 Por otra parte, la ausencia de producción de semillas por auto-fecundación tanto en
191 ausencia de vectores polínicos, como en su presencia, señalan a esta especie como incapaz
192 de realizar aseguramiento reproductivo bajo condiciones ambientales adversas (Eckert *et al.*
193 2006). Esta situación coloca a *N. balsamiflua* bajo un contexto de vulnerabilidad ya que
194 este hecho se presentaría como una fuerte restricción para mantener contingentes
195 poblacionales viables bajo escenarios ecológicos cambiantes (Aizen & Vázquez 2006,
196 Eckert *et al.* 2006). Más aun, si consideramos la profusa floración de esta especie con un
197 tope en el éxito de fructificación en torno al 50%, podemos concluir que esta especie realiza
198 un gran esfuerzo reproductivo para atraer agentes polinizadores, produciendo más flores de
199 las que pueden llegar a fructificar, pese a las condiciones hídricas altamente desfavorables
200 (Galen 2005). Desafortunadamente, no existe ningún reporte a la fecha que señale la
201 identidad de los polinizadores de esta especie así como los patrones naturales de
202 fructificación y producción de semillas.

203 Observando el sistema reproductivo en su conjunto y las condiciones ambientales
204 desfavorables de aridez en que se desarrolla esta especie es factible concluir que cualquier
205 actividad antrópica que se ejecute al interior o en las inmediaciones de las poblaciones de
206 *N. balsamiflua* podría impactar fuerte y negativamente su persistencia futura, no solo por
207 los impactos directos sobre las plantas, sino también por los impactos indirectos a través de
208 sus polinizadores (Aizen & Vázquez 2006, Eckert *et al.* 2006). Esta situación no solo se
209 presenta actualmente como una amenaza latente, sino también ha sido probablemente la
210 causa que posicionó a *N. balsamiflua* entre las especies vulnerables que habitan el Desierto
211 de Atacama (Benoit 1989).

212 Ciertamente, la amenaza que actualmente exhibe *N. balsamiflua* obliga a la
213 realización de planes de manejo y mitigación cuando las actividades económicas propias de
214 esta región (*e.g.* emplazamientos mineros) plantean dudas sobre la persistencia de las
215 poblaciones de esta especie. Sin embargo y a la luz de los resultados aquí expuestos,
216 cualquier tipo de emprendimiento al respecto deberá necesariamente ejecutarse
217 considerando sus polinizadores como un elemento clave para su sobrevivencia y, por
218 consiguiente, para el éxito de cualquier estrategia de conservación.

219

220 AGRADECIMIENTOS

221

222 Agradecemos el financiamiento otorgado por Minera Esperanza para la realización de este
223 trabajo, así como las facilidades técnicas dadas por Universidad de Antofagasta Asistencia
224 Técnica S.A.

225

226 REFERENCIAS

227

228 AIZEN, M.A. & D.P. VÁZQUEZ. 2006. Flower performance in human-altered habitats. En:
229 L.D. Harder & S.C.H. Barrett (eds), Ecology and Evolution of Flowers, pp: 159–179.
230 Oxford University Press.

231 ARROYO, M.T.K. & F.A. SQUEO. 1990. Relationship between plant breeding systems and
232 pollination. En: S. Kawano (ed.), Biological Approaches and Evolutionary Trends
233 in Plants, pp: 205-227. Academic Press, London.

234 BENOIT, I. 1989. Red List of Chilean Terrestrial Flora. Corporación Nacional Forestal,
235 Santiago, Chile.

236 ECKERT, C.G., K.E. SAMIS & S. DART. 2006. Reproductive assurance and the evolution
237 of uniparental reproduction in flowering plants. En: L.D. Harder & S.C.H.
238 Barrett (eds.), Ecology and Evolution of Flowers, pp. 183-203. Oxford University
239 Press.

240 EGGLI, U. 2004. Illustrated Handbook of Succulent Plants. Springer.

241 GALEN, C. 2005. It never rains but then it pours: the diverse effects of water on flower
242 integrity and function. En: E.G. Reekie & F.A. Bazzaz (eds.), Reproductive
243 Allocation in Plants, pp: 75-93. Elsevier Academic Press.

244 HOLSINGER, K.E. 2000. Reproductive systems and evolution in vascular plants.
245 Proceedings of the National Academy of Science, USA 97: 7037-7042.

10

- 246 HUMAÑA, A.M. & C.E. VALDIVIA. 2004. Sistema reproductivo en *Crinodendron*
247 *patagua* Mol.(Elaeocarpaceae), un árbol endémico de Chile central. *Gayana*
248 *Botánica* 61: 55-59.
- 249 HUMAÑA, A.M., M.A. CISTERNAS & C.E. VALDIVIA. 2008. Breedingsystem and
250 pollination of selected orchids of the genus *Chloraea* from central Chile. *Flora* 203:
251 469-473.
- 252 KEARNS, C.A. & D.W. INOUE. 1993. *Techniques for Pollination Biologists*. Colorado,
253 U.S.A: University Press of Colorado. Colorado.
- 254 LOVETT-DOUST, J. & L. LOVETT-DOUST. 1988. *Plant Reproductive Ecology, Patterns*
255 *and Strategies*. Oxford University Press.
- 256 LUEBERT, F. & P. PLISCOFF. 2006. *Sinopsis Bioclimática y Vegetacional de Chile*.
257 Editorial Universitaria, Santiago.
- 258 RICHARDS, A.J. 1997. *Plant Breeding System*. Chapman and Hall, London. xii + 529 pp.
- 259 RUIZ-ZAPATA, T. & M.T.K. ARROYO. 1978. Plant reproductive ecology of a
260 secondary deciduous forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.
- 261 TU, T., M.O. DILLON, H. SUN & J. WEN. 2008. Phylogeny of *Nolana* (Solanaceae) of the
262 Atacama and Peruvian deserts inferred from sequences of four plastid markers and
263 the nuclear LEAFY second intron. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49: 561-
264 573.
- 265 VALDIVIA, C.E. & H.M. NIEMEYER. 2006. Do pollinators simultaneously select for
266 inflorescence size and amount of floral scents? An experimental assessment on
267 *Escallonia myrtoidea*. *Austral Ecology* 31: 897-903.
- 268 VALDIVIA, C.E., M.A. CISTERNAS & G.S. VERDUGO. 2010. Reproductive biology
269 aspects of two species of the genus *Gavilea* (Orchidaceae, Chloraeinae) in
270 populations from Central Chile. *Gayana Botánica* 67: 44-51.

271

272 Tabla 1. Número de flores cruzadas, y producción de frutos y semillas en *Nolana*
 273 *balsamiflua* luego de cuatro ensayos de polinización manual en el desierto de Atacama en
 274 Chile.

275

276 Table 1. Number of crossed flowers, and fruit and seed set of *Nolana balsamiflua* following
 277 four hand pollination trials at the Atacama Desert in Chile.

278

279

Ensayo de polinización	No. de plantas	No. de flores	No. de frutos/flor	No. of semillas/flor
Agamospermia	21	82	0.000	0.000
Autogamia	26	110	0.000	0.000
Geitonogamia	13	41	0.000	0.000
Xenogamia	23	104	0.514	1.542

280