

UCH-FC
Doc-EBE
g649
C.1

**VALOR ADAPTATIVO DE LA LONGITUD DE LA RADÍCULA DE LA PLANTA
HOLOPARÁSITA *TRISTERIX APHYLLUS* (LORANTHACEAE): DETECTANDO
CAUSAS DE SELECCIÓN NATURAL**

Tesis
Entregada a la
Universidad de Chile
En cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de
Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva

FACULTAD DE CIENCIAS

Wilfredo Antonio Gonzáles Lozada

Julio, 2004

Director de Tesis: Dr. Rodrigo Medel



FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACIÓN

TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato

WILFREDO ANTONIO GONZALES LOZADA

Ha sido aprobada por la comisión de evaluación de la tesis como requisito para optar el grado de doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de defensa de Tesis rendido el 20 de julio del 2004

Director de Tesis

Dr. Rodrigo Medel

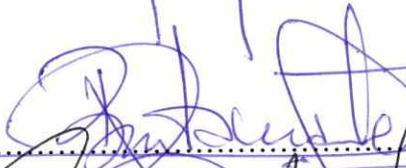
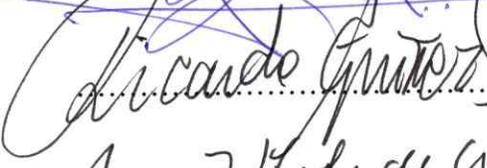
Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Ramiro Bustamante

Dr. Ricardo Guíñez

Dr. Mary T. Kalin-Arroyo

Dr. Angel Spotorno


.....

.....

.....

.....
.....





A mis padres por todo y siempre

A Lorena, mi amor y compañera



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a CONICYT por la beca otorgada para realizar estudios de postgrado (2000 - 2004). El desarrollo de las actividades de la presente tesis fue parcialmente financiado por CONICYT a través de una Beca de Apoyo para la Realización de Tesis Doctoral año 2002, Beca de Apoyo Parcial de Tesis PG-46-03 (Universidad de Chile) y al proyecto FONDECYT-1010660 otorgado a R. Medel. Finalmente, agradezco al Proyecto Milenio P02-051-F por la beca de término de tesis otorgada durante el año 2004 (Mayo - Julio).

Agradezco a Rodrigo Medel, director de tesis, por permitirme explorar la fascinante interacción entre el quintral y sus cactus hospederos desde una perspectiva empírica, y por sus aportes en mi formación en el área de la ecología evolutiva. Mi gratitud, por su contribución crítica en la culminación de este trabajo de tesis. A los miembros de la comisión de tesis, por las sugerencias que contribuyeron a clarificar las ideas desarrolladas en esta tesis, en especial al Dr. Ricardo Guíñez por su apoyo científico y su generosa contribución en el diseño y análisis de datos realizados en esta tesis. Las actividades de terreno, desarrolladas en la Reserva Nacional Las Chinchillas (IV Región), fueron posibles gracias a la Corporación Nacional Forestal (CONAF) de la IV-Región.

A mis amigos Alejandra, Paula, Carméncha, Eli, Soledad y Eduardito por el apoyo incondicional en las fases de crisis. A mis compatriotas y amigos Luis Carlos y

Ernesto por estar siempre cerca en los fracasos (lo cual no habla bien de ellos). Por el apoyo en las actividades de terreno a Paula, Carmencha, Eli, Cristóbal. En especial a Nora Peña, por el trabajo en terreno, casa, mate, queso y comidas ofrecidos en las estadias en terreno, por su amistad y el ambiente familiar ofrecido. A Rodrigo (El Pardo), por su incondicional disposición a colaborar y por su cámara digital con la cual muchas actividades de terreno fueron desarrolladas.

Párrafo aparte, agradezco infinitamente a Lorena por permitirme culminar esta tesis con éxito, gracias a su dedicación responsable en las jornadas de terreno, su inmensa paciencia para los momentos de crisis personal, pero sobre todo, por su amor que me hace inmensamente feliz y cada día un poco más humano.





INDICE

Agradecimientos.....	...i
Indice.....	iii
Leyenda de Tablas.....	v
Leyenda de Figuras.....	vi
Leyenda de Tablas en anexos.....	viii
Leyenda de Figuras en anexos.....	x
CAPÍTULO I	
Marco conceptual general	
Resumen.....	1
Abstract.....	3
Introducción.....	5
Plasticidad fenotípica y norma de reacción.....	6
Plasticidad adaptativa en plantas.....	10
Depresión por endogamia en plantas parásitas.....	12
Sistema de estudio.....	14
Área de estudio.....	14
Cacto hospedero.....	14
Planta parásita.....	16
Interacción entre parásito - hospedero.....	17
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos.....	19
Hipótesis del proyecto.....	19
CAPÍTULO II	
Plasticidad de la longitud de la radícula del quintral holoparásito <i>Tristerix aphyllus</i> (Loranthaceae): Evaluación de una hipótesis adaptativa	20
Resumen.....	21
Abstract.....	23
Introducción.....	25
Materiales y métodos.....	29
Sistema de estudio.....	29
Procedimientos experimentales.....	31
Longitud de la radícula y adecuación biológica.....	32
Procedimientos estadísticos.....	33
Correlaciones y heredabilidad de los rasgos.....	33
Normas de reacción de la longitud de la radícula y la adecuación	

biológica.....	34
Estimación de selección.....	36
Resultados.....	39
Correlaciones y heredabilidades.....	39
Normas de reacción de la longitud de la radícula y la adecuación biológica.....	42
Análisis de selección.....	47
Discusión.....	53
Genética cuantitativa de los caracteres y de la adecuación biológica.....	53
Varianza genética aditiva y plasticidad de la longitud de la radícula.....	56
Análisis de selección y plasticidad adaptativa.....	58
CAPÍTULO III	
Depresión por endogamia en el quintral holoparásito <i>Tristerix aphyllus</i> (Loranthaceae)	
	61
Resumen.....	62
Abstract.....	64
Introducción.....	65
Materiales y métodos.....	69
Sistema de estudio.....	69
Procedimiento experimental.....	72
Atributos medidos.....	73
Procedimientos estadísticos.....	75
Nivel de depresión por endogamia.....	76
Resultados.....	78
Atributos medidos.....	78
Nivel de depresión por endogamia.....	90
Discusión.....	92
Discusión General.....	99
Referencias bibliográficas.....	105
Anexos.....	119



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estadística descriptiva, componentes de variación, y heredabilidades (y errores estándares) de los rasgos fenotípicos de <i>Tristerix aphyllus</i>	40
Tabla 2. Correlaciones fenotípicas entre pares de rasgos (calculados como correlaciones de Pearson).....	41
Tabla 3. Resultados del análisis del modelo lineal mixto de la longitud de la radícula usando PROC MIXED en SAS.....	43
Tabla 4. (A) Análisis del modelo lineal mixto generalizado del establecimiento de las plántulas de <i>T. aphyllus</i> (B) Resultados por tratamientos.....	45
Tabla 5. Coeficientes de selección fenotípica lineales, no lineales y correlacional en peso del fruto, de la longitud de la radícula y el peso de la semilla fueron estimados en cada tratamiento (Tratamiento 1 = 4 mm, Tratamiento 2 = 28 mm).....	49
Tabla 6. Resultados del análisis del modelo lineal mixto para el peso de fruto y semilla usando PROC MIXED en SAS.....	79
Tabla 7. (A) Análisis del modelo lineal mixto para la longitud de la radícula de <i>T. aphyllus</i> . (B) Resultados por tratamientos de distancia. Los datos fueron transformados a escala logarítmica.....	81
Tabla 8. ANOVA de dos vías para la producción de frutos (estimado como conversión de flor polinizada-fruto). Los factores fueron año y tipo de cruzamiento.....	85
Tabla 9. Análisis del modelo lineal mixto generalizado de la germinación de semillas de <i>T. aphyllus</i> usando la macro GLIMMIX (Procedimiento en SAS).....	85
Tabla 10. (A) Análisis del modelo lineal mixto generalizado del establecimiento de las plántulas de <i>T. aphyllus</i> usando la macro GLIMMIX (Procedimiento en SAS). (B) Resultados por tratamientos.....	87

LEYENDA DE LAS FIGURAS

Figura 1. Características generales de las normas de reacción (lineales).....	8
Figura 2. Ciclo biológico del quintral <i>Tristerix aphyllus</i>	15
Figura 3. Elongación de la radícula de <i>Tristerix aphyllus</i> en los tratamientos de deposición de semillas a distintas distancias de la cutícula del cacto hospedero <i>Echinopsis chilensis</i> . (T1 = 4 mm; T2 = 28 mm).....	41
Figura 4. Representación de las normas de reacción de la longitud de la radícula de <i>T. aphyllus</i> en los tres tratamientos de distancia de deposición de semilla a la superficie del cacto (T1= 4 mm; T2 = 28 mm; T3 = 60 mm). Cada línea representa la norma de reacción de cada una de las familias paternas (N = 21).....	44
Figura 5. Representación de las normas de reacción del establecimiento de plántulas de <i>T. aphyllus</i> en dos tratamientos de distancia de deposición de semilla a la superficie del cacto (T1= 4 mm; T2 = 28 mm). Cada línea representa la norma de reacción de cada una de las familias paternas (N = 21).....	46
Figura 6. Estimación del “cubic spline” en el tratamiento 1 (semilla a 4 mm de la superficie del cacto) para (A) longitud de la radícula (parámetro de suavizamiento $\lambda = -1$), (B) Peso de fruto ($\lambda = 0$). Las líneas discontinuas representan $1 \pm SE$ estimadas de 1000 replicaciones bootstrap.....	50
Figura 7. Estimación del “cubic spline” en el tratamiento 2 (semilla a 28 mm de la superficie del cacto) para la longitud de la radícula (parámetro de suavizamiento $\lambda = -5.5$). Las líneas discontinuas representan $1 \pm SE$ estimadas de 1000 replicaciones bootstrap.....	51
Figura 8. Estimación del “cubic spline” para la plasticidad de la longitud de la radícula (parámetro de suavizamiento $\lambda = -2$). Las líneas discontinuas representan $1 \pm SE$ estimadas de 1000 replicaciones bootstrap.....	52
Figura 9. Registro de la precipitación mensual en la Reserva Nacional Las Chinchillas durante los años 2002 y 2003.....	70

Figura 10. Comparación del peso de fruto y semilla entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada) en plantas de <i>Tristerix aphyllus</i> durante los dos años de estudio.....	80
Figura 11. Comparación de la longitud de la radícula entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada) en plantas de <i>Tristerix aphyllus</i> a dos distancias de deposición de las semillas de la cutícula del cacto <i>Echinopsis chilensis</i> . Datos corresponden a dos años de estudio.....	82
Figura 12. Comparación de la producción de frutos y la germinación de semillas entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada) en plantas de <i>Tristerix aphyllus</i> durante los dos años de estudio.....	86
Figura 13. Comparación del establecimiento de las plántulas de <i>Tristerix aphyllus</i> entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada) a dos distancias de deposición de las semillas de la cutícula del cacto <i>Echinopsis chilensis</i> (T1 = 4 mm y T2 = 28 mm), durante los dos años de estudio.....	88
Figura 14. Relación entre la longitud de la radícula y el establecimiento de las plántulas de <i>Tristerix aphyllus</i> entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada), durante los dos años de estudio. (A) corresponde al tratamiento de deposición de las semillas cerca de la cutícula del cacto (4 mm), y (B) al tratamiento más distante (28 mm).....	89
Figura 15. (A) correlación de Pearson entre los coeficientes de depresión endogámica entre años. Cada punto corresponde al valor para el mismo atributo medido en los dos años. (B) Comparación del coeficiente de depresión promedio entre los dos años (Prueba de t para muestras pareadas).....	91

Leyenda de las tablas en anexos

Tabla 1. Resultados del ANOVA para el peso de fruto, peso de semilla y longitud de radícula de las especies chilenas de <i>Tristerix</i> colectadas en La Reserva Nacional Las Chinchillas (IV Región, Chile), durante el año 2003.....	120
Tabla 2. Resultados del ANOVA para el peso de fruto, peso de semilla y longitud de radícula de <i>Tristerix aphyllus</i> colectado de diferentes localidades.....	120
Tabla 3. Estadígrafos de tendencia central y dispersión de los caracteres de las inflorescencias de <i>Tristerix aphyllus</i>	124
Tabla 4. Estadígrafos de tendencia central y dispersión de la apertura floral y la conversión de flores a frutos por individuo de <i>Tristerix aphyllus</i>	124
Tabla 5. Estadígrafos de tendencia central y dispersión de los caracteres florales de <i>Tristerix aphyllus</i>	125
Tabla 6. Matriz de correlación de Pearson de los caracteres florales promedio por individuo de <i>Tristerix aphyllus</i> (N = 58).....	126
Tabla 7. Estadígrafos de tendencia central y dispersión de los caracteres de frutos de <i>Tristerix aphyllus</i>	127
Tabla 8. (A) Análisis de regresión múltiple para establecer la relación entre el peso de la semilla y los componentes principales obtenidos de los caracteres florales de <i>T. aphyllus</i> . (B) Contribución de los caracteres florales sobre los componentes principales.....	128
Tabla 9. Comparación de la conversión de flor a fruto, germinación, peso de fruto y peso de semilla entre diferentes tratamientos de polinización de <i>Tristerix aphyllus</i> realizadas en la Reserva Nacional Las Chinchillas durante el año 2003.....	130
Tabla 10. Destino de las semillas en terreno. Se registró del total de semillas llevadas a terreno, las semillas caídas, dañadas por insectos, y el número de implantadas por tratamientos (T1 = 4 mm y T2 = 28 mm) durante el año 2002.....	131

Leyenda de las figuras en anexos

- Figura 1. Comparación de las longitudes de las radículas de las especies chilenas de *Tristerix*. (muestra colectada en la Reserva nacional Las Chinchillas, año 2002)..... 121
- Figura 2. Distribución de las semillas de *Tristerix aphyllus* depositadas por el ave *Mimus thenca* en el cacto hospedero *Echinopsis chilensis* en el área de estudio..... 122
- Figura 3. Seguimiento de la elongación de las radículas de *T. aphyllus* agrupadas por origen. Cada 5 días se midió la longitud de la radícula, el crecimiento se produjo durante los primeros 20 días, posteriormente las radículas no continuaron elongando..... 123
- Figura 4. Transcurrido 30 días, se encontró diferencias significativas en la longitudes máximas alcanzadas por las radículas de *T. aphyllus* según el origen de la semilla. Este resultado no nos permite conocer si dichas diferencias son debidas a causas genéticas o ambientales..... 123
- Figura 5. Relación entre el peso de semilla de *Tristerix aphyllus* y los componentes principales obtenidos a partir de los caracteres florales maternos..... 128
- Figura 6. Monitoreo de la maduración de frutos obtenidos por tratamientos de polinización manualmente (auto y cruzada) en *Tristerix aphyllus* durante el año 2002..... 129

RESUMEN

La plasticidad fenotípica es la capacidad de los genotipos de responder a los cambios del ambiente a través de modificaciones en el fenotipo. Esta capacidad resulta adaptativa en ambientes heterogéneos si los genotipos plásticos muestran mayor adecuación biológica que los genotipos no-plásticos. En esta tesis, se estudió la plasticidad de la longitud de la radícula del muérdago holoparásito *Tristerix aphyllus* cuando infecta al cacto hospedero *Echinopsis chilensis*. Las semillas de *T. aphyllus* son principalmente depositadas sobre las espinas de su hospedero (contrario a otros muérdagos donde las semillas son depositadas directamente en la rama a infectar). La longitud de radícula de *T. aphyllus* ha sido sugerida como una respuesta adaptativa para superar la barrera impuesta por las espinas de su hospedero. Se evalúa la hipótesis de la plasticidad adaptativa de la elongación de la radícula. Específicamente, usando un diseño genético de medios hermanos paternos, evaluamos la plasticidad y su variación genética en dos tratamientos que difieren en la distancia de deposición de la semilla a la cutícula del hospedero (4 mm y 28 mm). Se utilizó análisis de selección (fenotípico y genético) dentro de cada ambiente experimental para establecer la relación entre el carácter y la adecuación biológica (establecimiento de la plántula). Finalmente, se estableció la relación entre la plasticidad y el promedio de la adecuación biológica a través de los ambientes. *Segundo*, evalué las consecuencias del tipo de cruzamiento en *T. aphyllus*. Específicamente evalué (durante dos años seguidos, 2002 y 2003) las consecuencias del tipo de polinización (auto polinización versus polinización cruzada) sobre el peso de frutos y semillas, la longitud de la radícula, la producción de frutos, la germinación, y el establecimiento. Considerando que la distancia de deposición de la semilla a la superficie del hospedero

es variable y puede afectar el alargamiento de la radícula, evalué si la magnitud de la depresión endogámica para la longitud de la radícula y el establecimiento de las plántulas cambia entre dos ambientes experimentales (semillas depositadas a 4 mm y a 28 mm de la cutícula del cacto).

Con relación a la hipótesis de plasticidad adaptativa, la longitud de la radícula mostró plasticidad pero no se detecta variación genética aditiva en tal rasgo. El análisis de selección mostró un patrón de selección diferente entre los tratamientos experimentales. Las semillas depositadas cerca de la superficie del hospedero (4 mm) favorecieron radículas cortas y frutos grandes, mientras que la semilla distanciada de la superficie del hospedero (28 mm) favoreció solamente radículas largas. La plasticidad se asoció positivamente a la adecuación biológica a través de los ambientes. *Con relación a las consecuencias de la endogamia*, los resultados mostraron depresión por endogamia en los rasgos estudiados (a excepción del peso de la semilla). La depresión por endogamia para cada rasgo mostró una alta correlación entre años, y el promedio de la depresión por endogamia fue mayor en el año 2002 que en el 2003. Se detectó plasticidad de la longitud de la radícula. La radícula en el tratamiento más distante (plántulas a 28 mm de la superficie del hospedero) fueron significativamente más largas que en el otro tratamiento (4 mm). La depresión por endogamia para la longitud de radícula fue detectada solamente en el tratamiento más distante. Con relación al establecimiento, la depresión por endogamia fue mayor en el tratamiento más distante (28 mm) que en el otro tratamiento (4 mm).

ABSTRACT

Phenotypic plasticity is the ability of a genotype to respond to changes in the environment through modifications in the phenotype. This capacity is adaptive in heterogeneous environments if the plastic genotypes show a higher fitness than non-plastic genotypes. In this thesis, I studied the plasticity of the radicle length in the holoparasitic mistletoe *Tristerix aphyllus* infecting the cactus *Echinopsis chilensis*. Unlike other mistletoes where the seeds are directly deposited in the host branches, the seeds of *T. aphyllus* are deposited mainly on the host spines. The long radicle of *T. aphyllus* has been suggested like an adaptation that overcomes the barrier imposed by the host spines. *First*, I evaluated the extent to which adaptive plasticity hypothesis of the mistletoe radicle elongation can be considered. Specifically, using a sire half-sib genetic design, I evaluated the phenotypic plasticity and its genetic variation in two treatments that differ in the deposition distance of the seed to the cactus epidermis (4 mm and 28 mm). I used selection analysis (phenotypic and genetic) within each experimental treatment to assess the relationship between the character and fitness. Finally, I evaluated the relationship between radicle plasticity and the mean fitness through environments. *Second*, I evaluated the consequences of reproductive system on *T. aphyllus*. Specifically, I evaluated (during two consecutive years, 2002 and 2003) the consequences of the type of pollination (selfed versus crossed) on: fruit and seed mass, radicle length, fruit set, germination, and establishment. Considering that distance of the seed deposition to the host surface is variable and could affect radicle elongation, I evaluated whether the magnitude of inbreeding depression for radicle length and

seedling establishment changes between two experimental environments (seed to 4 mm and 28 mm from the cacti surface).

In relation to the adaptive plasticity hypothesis, the radicle length showed plasticity but genetic variation for plasticity was not detected. The selection analysis showed a different pattern of selection between experimental treatments. The seeds deposited near the host surface (4 mm) favored short radicles and large fruits, whereas seeds deposited at 28 mm from the surface favored only long radicles. Phenotypic plasticity was associated positively to the mean fitness through environments. *In relation to the consequences of endogamy*, the results showed significant inbreeding depression in the traits study (excepting seed weight). The inbreeding depression for each trait was consistent between years, and inbreeding depression mean was higher in 2002 than in the 2003. I detected plasticity of the radicle length. The radicle in the most distant treatment (28 mm) was significantly longer than in the other treatment (4 mm). For radicle length, the inbreeding depression was only detected in the most distant treatment. For the establishment, the inbreeding depression was greater in the most distant treatment (28 mm) than in the other treatment (4 mm).

INTRODUCCIÓN

Un tema central en biología evolutiva es el concepto de adaptación. Si bien diversas definiciones pueden involucrar perspectivas históricas o no históricas, una adaptación puede ser entendida como un estado del carácter que resulta en una mayor adecuación biológica entre un conjunto de variantes en un ambiente determinado (Reeve & Sherman 1993, Futuyma 1998). Desde esta perspectiva, un exhaustivo análisis de adaptación debe satisfacer al menos cuatro criterios (Sinervo & Basolo 1996): (1) la variación individual en un atributo debe tener base genética (Falconer 1981). (2) El atributo debe influir en la adecuación biológica total o en alguno de sus componentes (Lande & Arnold 1983, Endler 1986). (3) el mecanismo subyacente a la correlación entre el atributo y la adecuación biológica en condiciones naturales debe ser elucidado (Arnold 1983, Jayne & Bennett 1990). Finalmente, (4) la hipótesis de adaptación debe ser independientemente validada a través de la manipulación experimental del atributo fenotípico o el ambiente selectivo (Endler 1986, Mitchell-Olds & Shaw 1987, Schluter 1988, Wade & Kalisz 1990).

Diversos estudios han evaluado el valor adaptativo de un carácter a través de la modificación del fenotipo (Sinervo & Huey 1990, Sinervo et al. 1992, Schmitt et al. 1995, Dudley & Schmitt 1995, 1996, Agrawal 1998, Harvell 1998, Sinervo 1998, Medel 2000), o del ambiente selectivo (Breden & Wade 1989, Bergelson 1994, Van Buskirk et al. 1997, Mauricio & Rausher 1997, Juenger & Bergelson 2000). Ambas aproximaciones

experimentales (no excluyentes) permiten establecer una relación causal entre el carácter y la adecuación biológica en un ambiente selectivo determinado. Sin embargo, la manipulación del ambiente selectivo brinda información adicional de la posible interacción entre el genotipo y las variaciones ambientales (Schlichting & Pigliucci 1998), mostrando que el genotipo puede expresar variantes fenotípicas en un gradiente ambiental, fenómeno denominado *plasticidad fenotípica* (Via & Lande 1985, Schlichting 1986, Sultan 1987).

Plasticidad fenotípica y norma de reacción

Durante gran parte del desarrollo de la biología evolutiva, los investigadores enfatizaron el estudio de caracteres que se presumían no estar afectados por el ambiente y, a través de establecer condiciones ambientales controladas, se intentó minimizar el efecto ambiental sobre el fenotipo para la estimación de los componentes de la variación del fenotipo (Sultan 1995, Agrawal 2001). Esta aproximación estuvo fuertemente influenciada por la idea que el ambiente resulta una fuente de “ruido” en la expresión del fenotipo. Los caracteres afectados por el ambiente eran considerados de menor importancia evolutiva por la aparente ausencia de base genética en su expresión. Sin embargo, existe evidencia que dicha variación frente a la heterogeneidad ambiental puede tener base genética (Pigliucci 2001).

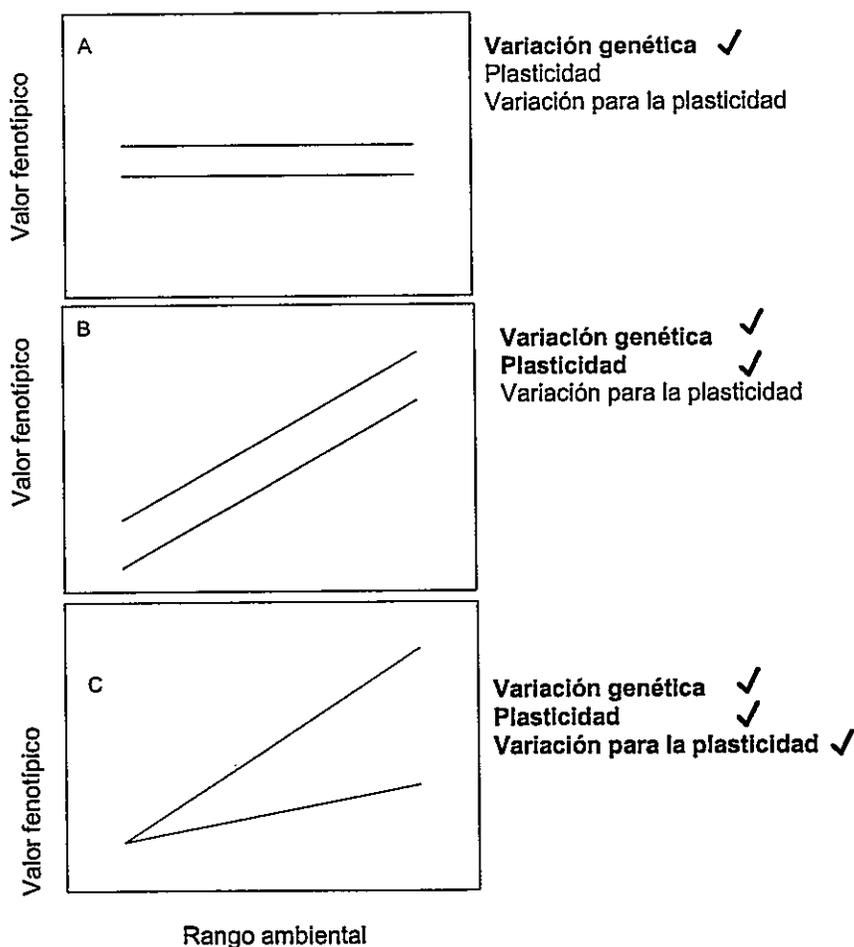
Recientes estudios han enfatizado el rol de la variación ambiental en la expresión fenotípica (ver Schlichting & Pigliucci 1998, Pigliucci 2001). Un concepto clave es el de *norma de reacción*, la cual es entendida como el conjunto de fenotipos producidos por un genotipo en un rango ambiental. Debido a que la norma de reacción en sí misma

puede ser una característica de los genotipos, puede estar sujeta a selección natural (Bradshaw 1965, Weis & Gorman 1990, Thompson 1991). En este sentido, si existe variación genética en la plasticidad de un carácter, y si tal plasticidad está asociada a una mayor adecuación biológica de los organismos en ambientes heterogéneos, la plasticidad puede evolucionar (Thompson 1991).

La forma de la norma de reacción puede ser compleja. Sin embargo, puede ser simplificada como una línea recta caracterizada por una pendiente y un intercepto. La norma de reacción se representa de modo gráfico en un diagrama ambiente-fenotipo donde un parámetro ambiental (biótico o abiótico, por ejemplo gradiente de luz, nutrientes, o daño por herbivoría) ocupa el eje de la abscisa, y alguna medida del fenotipo (atributo conductual, morfológico, fisiológico) ocupa el eje de las ordenadas. Podemos destacar dos propiedades importantes de las normas de reacción. Podemos estimar un valor promedio del fenotipo a través de los ambientes (promedio genotípico), y estimar la variación del fenotipo a través del ambiente (plasticidad). Recordemos que para que en una población ocurra una respuesta evolutiva a la selección se requiere que el atributo relacionado con la adecuación biológica (en este caso la plasticidad) presente variación genética aditiva (Endler 1986). Comparar un grupo de normas de reacción nos permite obtener información relevante al nivel poblacional. Podemos ubicarnos en tres escenarios posibles: 1) detección de variación en el promedio del valor genético, pero no en la plasticidad; 2) detección de variación en el promedio del valor genético y en la plasticidad del carácter, pero todos los genotipos están respondiendo al ambiente del mismo modo (normas de reacción paralelas); y 3) detección de variación tanto en el valor genético promedio, así como en la plasticidad (respuesta diferencial entre los

genotipos a través del ambiente). Desde una perspectiva evolutiva, el caso 1 nos muestra una población donde el valor medio del carácter puede evolucionar, pero no la plasticidad (Figura 1A). El caso 2, nos muestra una situación similar a pesar que detectamos plasticidad, no hay variación genética de la misma sobre la que pueda ocurrir selección (Figura 1B). Finalmente, el caso 3, ya que tanto el promedio fenotípico y la plasticidad muestran variación genética, ambos atributos podrían evolucionar independientemente (Figura 1C).

Figura 1. Características generales de las normas de reacción (lineales)



Se ha postulado que la heterogeneidad espacial o temporal del ambiente podría seleccionar genotipos generalistas, los que a través de plasticidad fenotípica se ajustan al rango ambiental, (Levins 1968, Bradshaw & Hardwick 1989, de Jong 1995), mientras una mayor homogeneidad ambiental debería seleccionar genotipos especialistas adaptados a hábitat particulares (Linhart & Grant 1996). De este modo, la respuesta adaptativa (generalista o especialista), dependerá de la frecuencia temporal o espacial de la variación ambiental (predictibilidad ambiental) (Via & Lande 1985, Sultan 1987, Van Tienderen & Koelewijn 1994).

Sin olvidar que la selección actúa sobre los fenotipos observados (Lande & Arnold 1983), la detección de selección no es suficiente para responder la pregunta de adaptación de la plasticidad fenotípica. Se requiere evaluar la influencia del ambiente tanto en la interacción fenotipo – adecuación biológica, así como su rol en la expresión misma del fenotipo (Scheiner 1993). Evidenciar que la plasticidad de un atributo es adaptativa requiere probar que: 1) la selección natural difiere entre los ambientes experimentados por el organismo, y 2) la respuesta plástica inducida en cada ambiente ocurre hacia el fenotipo favorecido por selección en ese ambiente (Dudley 1996, Dudley and Schmitt 1996, Kingsolver 1996, Van Buskirk et al. 1997, Dorn et al. 2000, Juenger and Bergelson 2000). Esta evaluación requiere cuantificar la relación entre el valor del fenotipo y la adecuación biológica en cada ambiente a través de un análisis de selección (fenotípica o genética), y/o la manipulación del fenotipo (Dudley & Schmitt 1996, Kingsolver 1995, 1996).

Plasticidad adaptativa en plantas

Es ampliamente conocido que las plantas responden plásticamente a los cambios del ambiente (Schlichting 1986, Sultan 1995). Existen numerosos ejemplos de variaciones fisiológicas y morfológicas en hojas, tallos y raíces inducidos por cambios en factores abióticos tales como la calidad de la luz, agua, temperatura y nutrientes (Schlichting 1986, Sultan 1987, Bradshaw & Hardwick 1989). Asimismo, se han documentado modificaciones del fenotipo como respuesta a factores bióticos. En este sentido, se ha documentado que *Impatiens capensis* puede incrementar la distancia de sus entrenudos (tallos más largos) en ambientes de alta densidad de plantas que compiten por luz (Schmitt et al. 1987, Schmitt & Wulff 1993), lo que permitiría evitar la sombra producida por los competidores y acceder a luz de mejor calidad. Por otro lado, el daño producido por herbívoros tanto vertebrados como insectos induce la producción de defensas (de una mayor concentración de metabolitos secundarios y/o estructuras defensivas como tricomas o espinas en plantas que han experimentado un daño inicial (revisado en Karban & Myers 1989, Karban & Baldwin 1997)). Sin embargo, no podemos suponer el valor adaptativo de tales modificaciones en el fenotipo de las plantas (plasticidad fenotípica) sin evaluar sus ventajas en adecuación biológica en relación con patrones alternativos de expresión fenotípica (Schlichting & Pigliucci 1998).

La hipótesis de plasticidad adaptativa ha sido abordada frente a la variación en diversos factores abióticos (Sultan & Bazzaz 1993, 1995, Pigliucci & Schlichting 1996, Schlichting & Pigliucci 1998, Sultan 2001), mientras que frente a las variaciones en el ambiente biótico sólo ha sido abordada en interacciones con competidores y herbívoros.

Frente a competidores, la elongación del tallo como respuesta a la sombra producida por las plantas vecinas en *Impatiens capensis* (Dudley & Schmitt 1996), líneas transgénicas de *Nicotiana* y mutantes de *Brassica rapa* (Schmitt et al. 1995); contra el ataque de herbívoros, la inducción de compuestos químicos y estructuras de defensa física en *Nicotiana attenuata* (Baldwin 1998, Van Dam & Baldwin 2001, Voelckel et al. 2001), y algunas especies de la familia Brassicaceae (Agrawal 1998, 1999, 2000), representan estudios donde se ha estimado directamente las ventajas en adecuación biológica de las respuestas plásticas.

Una interacción que no ha recibido mayor atención respecto al potencial valor adaptativo de caracteres plásticos es el parasitismo entre plantas, donde se ha sugerido que pueden ocurrir impactos selectivos sobre la adecuación biológica tanto del hospedero como del parásito, y representar potenciales escenarios de selección recíproca (Thompson 1994, Abrahamson & Weis 1997). Desde la perspectiva de la planta hospedera, recientes trabajos han evaluado el impacto de las plantas parásitas sobre la adecuación biológica de sus hospederos en poblaciones naturales (Gómez 1994, Gomes y Fernández 1994, Silva & Martínez del Río 1996, Medel 2000), aunque el impacto evolutivo del parásito ha sido poco abordado (Dobson & Crawley 1994, Norton & Carpenter 1998). Desde la perspectiva de la planta parásita, existe escasa evidencia experimental del impacto que los hospederos pueden producir sobre la adecuación biológica de sus plantas parásitas (Mutikainen et al. 2000) y de las posibles estrategias adaptativas con las que la planta parásita enfrenta al hospedero como ambiente selectivo.

Depresión por endogamia en plantas parásitas

Numerosas investigaciones han comparado las consecuencias de la fertilización cruzada y auto-fertilización en los componentes de adecuación biológica en plantas, encontrando con frecuencia, que la progenie derivada de auto-fertilización muestra un desempeño menor que la progenie derivada de fertilización cruzada, lo que se conoce como depresión por endogamia (Charlesworth & Charlesworth 1987, Husband & Schemske 1996). La depresión por endogamia es considerada un factor selectivo importante que se opone a la evolución de la auto-fertilización (Charlesworth & Charlesworth 1987). Sin embargo, la magnitud de la depresión por endogamia puede ser afectada por las condiciones ambientales (Crnokrak & Roff 1999, Hedrick & Kalinowski 2000). Trabajos previos ha demostrado que la depresión por endogamia puede incrementar su magnitud en condiciones estresantes como ambientes con parásitos, herbívoros, competidores, baja disponibilidad de alimento, o variación climática extrema (Hedrick & Kalinowski 2000, Keller & Waller 2002).

Por otra parte, el papel de la reproducción sexual ha sido explorado en el contexto de la interacción parásito-hospedero. La atención se ha enfocado en el hospedero, donde la reproducción cruzada se ha sugerido como una estrategia adaptativa para escapar del ataque de los parásitos (Hamilton et al. 1990, Ebert & Hamilton 1996). Trabajos previos han demostrado que la infección por parásitos favorece la selección de genotipos del hospedero obtenidos por reproducción cruzada (Levri & Real 1998, Coltman et al. 1999, O'Brien 2000, Haag et al. 2002). Sin embargo, a pesar de que algunos trabajos teóricos han sugerido que la reproducción sexual en los parásitos puede aumentar su adecuación biológica (Kurtz 2003, Galván 2003, Galvani et al. 2003), las

ventajas de la reproducción cruzada para los parásitos han sido escasamente evaluadas (Christen et al. 2002, Christen & Milinski 2003).

Muchos trabajos han investigado las consecuencias de la endogamia en plantas no-parásitas (revisado en Charlesworth & Charlesworth 1987, Husband & Schemske 1996). Sin embargo, en plantas parásitas (que se diferencian de las otras plantas en que muestran una dependencia de una planta hospedera para la obtención del agua y nutrientes [Press & Graves 1995]), las consecuencias de la endogamia y el posible rol de la variación ambiental sobre la depresión endogámica, prácticamente no han sido exploradas.

En la presente tesis, se evalúa la hipótesis de plasticidad adaptativa en un sistema planta parásita-planta hospedera y las consecuencias del sistema reproductivo (autopolinización versus polinización cruzada) sobre la expresión de caracteres y la adecuación biológica del parásito en condiciones de terreno. El sistema de estudio es el muérdago holoparásito *Tristerix aphyllus* sobre su cacto hospedero *Echinopsis chilensis*.

Sistema de estudio

Área de estudio

Este estudio fue efectuado de Marzo del 2002 a Marzo del 2004 en La Reserva Nacional Las Chinchillas (31°30' S, 71°06' O, Aucó, IV Región, Chile), localizada aproximadamente a 300 kilómetros al noreste de Santiago. El clima es de tipo mediterráneo semiárido con la mayor concentración de la precipitación durante el otoño e invierno. La precipitación anual promedio es 167 mm con grandes variaciones interanuales, con frecuentes años de sequía y años inusuales con elevada precipitación que co-ocurren con los eventos Niño (Jaksic 2001). La vegetación es espinosa con *Flourensia thurifera*, *Bahia ambrosoides*, y *Porlieria chilensis* como las especies arbustivas más comunes. Las especies de cactus columnares son *Echinopsis chilensis* y *Eulychnia acida*, y los cactus globulares *Opuntia berteroniana* y *Eriosyce sandillon*.

Cacto hospedero

Echinopsis chilensis es un cacto columnar endémico de la zona central de Chile donde es frecuente en las laderas de exposición norte (Rundel 1976). Este cacto muestra una gran variabilidad en longitud de las espinas dentro y entre poblaciones (Rundel 1976, Hoffmann 1986). Las areolas de *E. chilensis* constan de 1-2 espinas centrales largas y 8-12 espinas laterales cortas que se proyectan en todas las direcciones. En el área del estudio, la longitud de las espinas centrales es de aproximadamente 10 cm, y la densidad de las espinas es aproximadamente 2,5 / cm² (Martínez del Río et al. 1995).



Remoción de frutos



Deposición de semillas por *Mimus thenca*



Semillas adheridas a las espinas



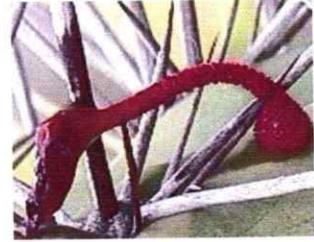
Fructificación



floración



germinación



implantación



emergencia

Figura 2. Fases del ciclo biológico de *Tristerix aphyllus*

Planta parásita

Tristerix aphyllus es un muérdago holoparásito endémico de la zona norte y centro de Chile que infecta solamente especies de cactus (Follman & Mahú 1964, Kuijt 1969, 1988, ver Figura 2). A diferencia de la mayoría de las lorantáceas, esta especie tiene las hojas reducidas a diminutas escamas, y la única porción que emerge de la columna de los cactus es su inflorescencia roja. La porción vegetativa existe como un endofito dentro del tejido del hospedero, y parasita el floema de los cactus (Mauseth et al., 1984, 1985, Mauseth 1990). La floración ocurre entre marzo y agosto, mostrando la mayor floración entre abril y junio (Medel et al. 2002). *Tristerix aphyllus* presenta un alto nivel de autocompatibilidad y es parcialmente autogámica (Smith-Ramirez 1999, Medel et al. 2002). La maduración de los frutos ocurre entre abril y noviembre. Los frutos son pseudo-bayas con una sola semilla y contienen 80% agua. Al madurar se tornan rosado-pálido o blanco translúcido. El ave *Mimus thenca* (Mimidae) es el único dispersor de las semillas de *T. aphyllus* cuando percha en los cactus y deposita las semillas contenida en sus fecas (Martínez del Río et al. 1995, 1996, Medel 2000, Medel et al. 2002, 2004). Las semillas se adhieren a la cutícula del cacto o a las espinas a través de una sustancia viscosa conocida como viscina. Las semillas germinan en menos de un día después de la deposición y la radícula crece durante aproximadamente 8 semanas o hasta que hace contacto con la epidermis del cacto. Después de este contacto, se desarrolla una placa haustorial de la cual varios filamentos penetran los tejidos del cacto (Mauseth et al. 1984, 1985). El haustorio, más que un órgano permanente, es solo una estructura temporal que da lugar al endofito de la planta (Mauseth et al. 1985). El muérdago existe como endófito por aproximadamente 17 meses antes de emerger de los

tejidos del cacto como una inflorescencia roja (Mauseth et al. 1984, 1985, Botto-Mahan et al. 2000).

Interacción entre parásito - hospedero

Al igual que otras especies de cactos columnares en Chile, *E. chilensis* es parasitado por *T. aphyllus*. Estudios previos han documentado que *T. aphyllus* afecta la adecuación biológica de *E. chilensis* (Silva & Martínez del Río 1996, Medel 2000, 2001), frente a lo cual la longitud de las espinas apicales de los cactos resulta ser una primera línea de defensa contra el parasitismo. *Echinopsis chilensis* con espinas apicales más largas son menos visitadas por *M. thenca* (dispersor del parásito) disminuyendo la probabilidad de ser parasitados por *T. aphyllus* (Medel 2000, Medel et al. 2004).

Una fase crítica de la transmisión de *T. aphyllus* es su implantación en los tejidos del hospedero. Puesto que la deposición de las semillas ocurre principalmente sobre las espinas, quedando las semillas distanciadas de la cutícula del cacto, la posibilidad de alcanzar los tejidos del hospedero depende estrictamente de la capacidad de la radícula de elongar hasta contactar el cacto y formar la placa haustorial para posteriormente invadir los tejidos del cacto. Estudios anteriores muestran variación en las longitudes máximas alcanzadas por las radículas de *T. aphyllus* después de 40 días desde el inicio de la deposición de semillas por *M. thenca* (promedio = 40 mm, rango de 14 mm a 90 mm, Martínez del Río et al. 1995), llegando ocasionalmente alcanzar hasta 137 mm (Medel et al. 2002). Es importante destacar que esta observación sugiere que dicho

carácter (longitud de radícula) podría haber evolucionado para superar la barrera impuesta por las largas espinas de sus cactus hospederos (Martínez del Río et al. 1995).

Objetivo general

En la presente tesis, evaluamos: (1) la hipótesis de plasticidad adaptativa de la elongación de la radícula de la planta parásita *Tristerix aphyllus* en la infección de su cacto hospedero *Echinopsis chilensis* y (2) las consecuencias del sistema reproductivo (auto-polinización versus polinización cruzada) sobre la expresión de caracteres y la adecuación biológica del parásito en condiciones de terreno.

Objetivos específicos

Con relación a la hipótesis de la plasticidad adaptativa:

- (1) Estimar la base genética y la heredabilidad de los caracteres de *T. aphyllus* mediante cruzamientos dirigidos
- (2) Evaluar la norma de reacción de la elongación de la radícula a través de la manipulación de los ambientes
- (3) Estimar la relación entre plasticidad y adecuación biológica de los genotipos evaluados

Con relación a las consecuencias del sistema reproductivo:

- (4) Comparar caracteres fenotípicos entre frutos de *T. aphyllus* obtenidos por auto-polinización y polinización cruzada
- (5) Comparar la producción de frutos, la germinación y el establecimiento entre frutos obtenidos por auto-polinización y polinización cruzada
- (6) Evaluar si la magnitud de la depresión endogámica varía entre años y entre ambientes (distancia de deposición de la semilla a la superficie del cacto)

Hipótesis del proyecto:

Plasticidad fenotípica adaptativa

Los genotipos con la capacidad de ajustar la longitud de su radícula (plásticos) y formar placa haustorial a diferente distancia del sustrato tendrán mayor adecuación biológica que los genotipos canalizados

Razonamiento: La deposición de semillas sobre el cacto (cutícula y espinas) es un proceso azaroso. Una vez defecadas por el ave, las semillas quedan adheridas a las espinas en cualquier posición. Ante este escenario selectivo impredecible, deberían favorecer estrategias plásticas más que canalizadas.

Sistema reproductivo

La expresión fenotípica y la adecuación biológica será menor en la progenie obtenida por auto-cruzamiento que por reproducción cruzada debido a la depresión por endogamia.

CAPÍTULO II

**Plasticidad de la longitud de la radícula del quintral holoparásito *Tristerix aphyllus*
(Loranthaceae): Evaluación de una hipótesis adaptativa**

RESUMEN

La plasticidad fenotípica es la capacidad de los genotipos de responder a los cambios del ambiente a través de modificaciones en el fenotipo. Esta capacidad resulta adaptativa en ambientes heterogéneos si los genotipos plásticos muestran mayor adecuación biológica que los genotipos no-plásticos. Se estudió la plasticidad de la longitud de la radícula del muérdago holoparásito *Tristerix aphyllus* cuando infecta al cacto *Echinopsis chilensis*. Las semillas de *T. aphyllus* son principalmente depositadas sobre las espinas de su hospedero (contrario a otros muérdagos donde las semillas son depositadas directamente en la rama a infectar). La radícula de *T. aphyllus* es particularmente larga y ha sido sugerida como una respuesta adaptativa para superar la barrera impuesta por las espinas de su hospedero. Aquí, se evalúa la hipótesis de la plasticidad adaptativa de la elongación de la radícula. Específicamente, usando un diseño genético de medios hermanos paternos, evalué la plasticidad y su variación genética en dos tratamientos que difieren en la distancia de deposición de la semilla a la cutícula del hospedero (4 mm y 28 mm). Se examinó la variación genética del establecimiento de las plántulas. Se utilizó análisis de selección (fenotípico y genético) dentro de cada ambiente experimental para establecer la relación entre el carácter y la adecuación biológica (establecimiento de la plántula). Finalmente, se estableció la relación entre plasticidad y el promedio de la adecuación biológica a través de los ambientes. Adicionalmente, estimé parámetros genéticos (heredabilidad y correlaciones entre caracteres) para la longitud de la radícula, el peso del fruto y el peso de la semilla, rasgos que podrían afectar el establecimiento de la planta. La longitud de la radícula mostró plasticidad siendo más largas las radículas

del tratamiento 2 (a 28 mm) que en el tratamiento 1 (a 4 mm). No se detectó variación genética aditiva de la plasticidad. Se detectó variación genética del establecimiento promedio a través de los tratamientos. El análisis de selección mostró un patrón de selección diferente entre los tratamientos experimentales. Las semillas depositadas cerca de la superficie del hospedero (4 mm) favorecieron radículas cortas y frutos grandes, mientras que las semillas distanciadas de la superficie del hospedero (28 mm) favorecieron solamente radículas largas. La plasticidad se asoció positivamente a la adecuación biológica a través de los ambientes. La longitud de la radícula, el peso de los frutos y el peso de las semillas mostraron una significativa contribución del componente materno, y las heredabilidades no fueron significativamente diferentes de cero. La longitud de la radícula mostró un incremento de la variación genética aditiva entre tratamientos. No detecté correlaciones genéticas entre los caracteres. Se muestra evidencia que más que una radícula larga e invariante, una radícula de elongación plástica es la estrategia adaptativa que se desarrolla en este sistema como contra-defensa a la barrera impuesta por las espinas del hospedero.

ABSTRACT

Phenotypic plasticity is the ability of a genotype to respond to changes in the environment through modifications in the phenotype. This capacity is adaptive if plastic genotypes show a higher fitness than non-plastic genotypes in heterogeneous environments. I studied the plasticity of radicle length in the holoparasitic mistletoe *Tristerix aphyllus*. Unlike most mistletoes where seeds are directly deposited on the host branches, the seeds of *T. aphyllus* are deposited often on the spines of the cactus it parasitizes. Previous studies have suggested that long radicles may be adaptive to overcome the barrier imposed by spines. In this thesis I have evaluated (1) whether radicles exhibit phenotypic plasticity and, (2) the adaptive significance of radicle plasticity. I set up a sire half-sib genetic design and performed experiments that summarize different deposition distances of seeds to the cactus (4 and 28 mm from the host surface). I used selection analysis (phenotypic and genetic) within experimental treatments to assess the relationship between radicle length and seed establishment. In addition, I evaluated the relationship between radicle plasticity and the mean establishment through environments. Finally, the heritability and genetic correlations among radicle length, fruit mass and seed mass were also estimated. Results revealed plasticity for radicle length but absence of genetic variation for this trait. The selection analysis showed a different pattern of selection between treatments. While seeds deposited close to the host surface favored short radicles and large fruits, seeds deposited at 28 mm favored only long radicles. Heritabilities and genetic correlations for radicle length, fruit mass and seed mass were not different from zero, but there was a significant contribution of the maternal component upon these traits. Results from this

study indicate that plastic rather than long radicles may be adaptive to overcome the barrier imposed by host spines.

INTRODUCCIÓN

La plasticidad fenotípica es la capacidad de los genotipos de producir diversos fenotipos en respuesta a la heterogeneidad ambiental (Pigliucci 2001). Durante las últimas dos décadas, la plasticidad fenotípica se ha documentado en diversas especies (Schlichting 1986, Sultan 1987, Karban & Baldwin 1997, Tollrian & Harvell 1999), y existe consenso que la plasticidad fenotípica representa un componente fundamental del cambio evolutivo (Sultan 1987, 1995, Thompson 1991, Scheiner 1993, Via et al. 1995, Schlichting & Pigliucci 1998, Pigliucci 2001). La plasticidad fenotípica puede proporcionar tolerancia ambiental y representar una solución al problema de la adaptación a los ambientes heterogéneos (Via et al. 1995, Sultan 1995). Sin embargo, la respuesta fenotípica a la variación del ambiente no significa que la plasticidad juega siempre un papel en la adaptación del organismo. Una respuesta a la variación ambiental es solamente adaptativa si representa un mecanismo por el cual la adecuación biológica (o alguno de sus componentes como la supervivencia o reproducción) se mantiene frente a la variación ambiental (Thompson 1991, Alpert & Simms 2002). Varios experimentos han demostrado que la plasticidad media la expresión adaptativa del fenotipo en la naturaleza (Kingsolver 1996, Via et al. 1995, Karban & Baldwin 1997, Roff 1997, Van Buskirk et al. 1997, DeWitt 1998, Agrawal 1998, 1999). Para apoyar la hipótesis de la plasticidad adaptativa, es necesario demostrar que (1) la selección natural difiere entre los ambientes experimentados por un organismo, y que (2) la respuesta plástica inducida por cada ambiente favorece el fenotipo óptimo en cada ambiente (Dudley 1996, Dudley

& Schmitt 1996, Van Buskirk et al. 1997, Dorn et al. 2000, Juenger & Bergelson 2000). Tal prueba requiere la cuantificación de la relación entre el valor del rasgo y la adecuación biológica en cada ambiente relevante usando el análisis de selección (fenotípico o genético), y/o la manipulación fenotípica (Kingsolver 1996, Dudley 1996, Schmitt et al. 1999, Dorn et al. 2000).

La plasticidad fenotípica como atributo de los genotipos puede estar sujeta a selección natural. Suponiendo que en poblaciones naturales existe variación genética aditiva para la plasticidad, y que los individuos con diferente plasticidad varían en adecuación biológica, la plasticidad puede evolucionar (Bradshaw 1965, Weis & Gorman 1990, Thompson 1991, Schlichting & Pigliucci 1995, 1998, Pigliucci 2001). Con el propósito de documentar el potencial evolutivo de la plasticidad fenotípica, diversos trabajos han evaluado su variación genética usando clones o familias maternas (Spitze 1992, Zanger & Berenbaum 1990, Harvell 1998, Scheiner & Berrigan 1998, Agrawal et al. 1999). Sin embargo, estas estimaciones genéticas pueden incluir la contribución de componentes genéticos no aditivos y ambientales, y sobrestimar el componente genético aditivo. Solo recientemente se ha documentado variación genética aditiva de la plasticidad (Juergen & Bergelson 2000, Relyea 2002, Agrawal et al. 2002, Traw 2002).

Se ha reportado plasticidad de atributos defensivos contra el ataque de herbívoros (tricomias, metabolitos secundarios, Karban & Baldwin 1997; Agrawal 1998, 1999), contra depredadores en invertebrados (cambios en la morfología en crustáceos, daphnias, briozoos marinos, Tollrian & Harvell 1999), y vertebrados (renacuajos de ranas, Van Buskirk et al. 1997; Relyea 2002). Sin embargo, no hay estudios que evalúen

el valor adaptativo y el potencial evolutivo de la plasticidad en la interacción entre plantas parásitas- planta hospedero en poblaciones naturales.

En esta tesis, se reporta una prueba de la hipótesis de la plasticidad adaptativa para la longitud de la radícula del quintral *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae), un rasgo morfológico clave involucrado en el establecimiento del quintral en su hospedero *Echinopsis chilensis* (Cactaceae). La etapa de plántula es la parte más vulnerable del ciclo biológico para la mayoría de las plantas parásitas ya que el establecimiento debe ser iniciado en esta etapa (Lamont 1983; Musselman & Press 1995; Norton & Carpenter 1998), y los quintrales dependen del contacto eficiente con sus hospederos vía la radícula hasta generar el haustorio, el órgano que representa el puente morfológico y fisiológico entre el hospedero y los tejidos del parásito durante una infección exitosa (Kuijt 1969; Lamont 1983; Musselman & Press 1995). *Tristerix aphyllus* exhibe una larga radícula, única entre las especies de la familia Loranthaceae (Kuijt 1969, Kuijt 1988). La longitud de la radícula muestra un gran rango de variación desde aproximadamente 14 mm hasta alcanzar frecuentemente 90 mm de la longitud en 43 días (Kuijt 1969; Martínez del Río et al. 1995; Medel et al. 2002). A diferencia de otros quintrales donde la deposición de la semilla ocurre directamente en las ramas del hospedero (lugar de la infección), la deposición de las semillas de *T. aphyllus* en un nuevo hospedero, ocurre principalmente sobre las espinas y la superficie del hospedero. Las semillas de *T. aphyllus* germinan y la radícula inicia la elongación hasta alcanzar la epidermis del hospedero. Las largas radículas de *T. aphyllus* han sido sugeridas como una respuesta adaptativa que supera la barrera impuesta por las espinas de los cactus (Martínez del Río et al. 1995). Sin embargo, aún en especies altamente especializadas

como *T. aphyllus*, no todas las semillas experimentan las mismas condiciones durante los primeros estadios de su ciclo de vida. La influencia de la variación en el lugar de la deposición de la semilla puede ser una fuente importante de variación fenotípica (Weis & Gorman 1990). Esta heterogeneidad micro-ambiental podría favorecer la plasticidad de los rasgos asociados al establecimiento del parásito en su hospedero.

El presente estudio, evalúa la hipótesis que la longitud de la radícula de *T. aphyllus* es un carácter plástico y adaptativo frente a la heterogeneidad en la deposición de la semilla en su cacto hospedero *E. chilensis*. Específicamente, evaluamos (1) la plasticidad de la longitud de la radícula y la variación genética de la plasticidad entre tratamientos a diferentes distancias de deposición de la semilla a la epidermis del hospedero. La variación genética en el establecimiento a través de los ambientes experimentales también fue evaluada. Examinamos (2) el patrón de selección (fenotípico y genético) dentro de cada ambiente. Adicionalmente, se estableció la relación entre plasticidad y adecuación promedio a través de los ambientes. Finalmente, se estimó (3) los parámetros genéticos (heredabilidad y correlaciones entre los rasgos) para la longitud de la radícula y el peso del fruto, peso de la semilla, rasgos que podrían afectar el establecimiento de las plántulas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El sistema del estudio

Este estudio fue efectuado entre Marzo del 2002 y Marzo del 2003 en La Reserva Nacional Las Chinchillas (31°30' S, 71°06' O, Aucó, IV Región, Chile), localizada aproximadamente a 300 kilómetros al noreste de Santiago. El clima es de tipo Mediterráneo semiárido con la mayor concentración de la precipitación durante el otoño e invierno. La precipitación anual promedio es 167 mm con grandes variaciones interanuales, con frecuentes años de sequía y años inusuales con elevada precipitación que co-ocurren con los eventos Niño (Jaksic 2001). La vegetación es espinosa con *Flourensia thurifera*, *Bahia ambrosoides*, y *Porlieria chilensis* como las especies arbustivas más comunes. Las especies de cactus columnares son *Echinopsis chilensis* y *Eulychnia acida*, y los cactus globulares *Opuntia berteroniana* y *Eriosyce sandillon*. Información adicional sobre esta área de estudio se ha publicado previamente (Medel 2000; 2001; Medel et al. 2004).

Tristerix aphyllus es un quintral holoparasítico endémico de la zona norte y centro de Chile que infecta solamente especies de cactus (Follman & Mahú 1964, Kuijt 1969, 1988). A diferencia de la mayoría de las lorantáceas, esta especie tiene las hojas reducidas a diminutas escamas, y la única porción que emerge de la columna de los cactus es su inflorescencia roja. La porción vegetativa existe como un endofito dentro del tejido del hospedero y parasita el floema de los cactus (Mauseth et al., 1984, 1985, Mauseth 1990). La floración ocurre entre marzo y agosto, mostrando la mayor floración

entre abril y junio (Medel et al. 2002). *Tristerix aphyllus* es autocompatible y parcialmente autogámica (Smith-Ramírez 1999, Medel et al. 2002). La maduración de los frutos ocurre entre abril y noviembre. Los frutos son pseudo-bayas con una sola semilla y contienen 80% agua. Al madurar se tornan rosado-pálido o blanco translúcido. El ave *Mimus thenca* (Mimidae) es el único dispersor de las semillas de *T. aphyllus* cuando percha en los cactus y deposita las semillas contenida en sus fecas (Martínez del Río et al. 1995, 1996, Medel 2000, Medel et al. 2002, 2004). Las semillas se adhieren a la cutícula del cacto o a las espinas a través de una sustancia viscosa conocida como viscina. Las semillas germinan en menos de un día después de la deposición y la radícula crece durante aproximadamente 8 semanas o hasta que hace contacto con la epidermis del cacto. Después de este contacto, se desarrolla una placa haustorial de la cual varios filamentos penetran los tejidos del cacto (Mauseth et al. 1984, 1985). El haustorio, más que un órgano permanente, es solo una estructura temporal que da lugar al endofito de la planta (Mauseth et al. 1985). El quintral existe como endofito por aproximadamente 17 meses antes de emerger de los tejidos del cacto como una inflorescencia roja (Mauseth et al. 1984, 1985, Botto-Mahan et al. 2000). En el área de estudio, *T. aphyllus* parasita en *Echinopsis chilensis* y *Eulychnia acida*. Nuestro estudio experimental fue enfocado sobre *T. aphyllus* parasitando *E. chilensis* el hospedero más común de esta área (Martínez del Río et al. 1995, Medel 2000, Medel et al. 2002, 2004).

Echinopsis chilensis es un cacto columnar endémico de la zona central de Chile donde es frecuente en las laderas de exposición norte (Rundel 1976). Este cacto muestra una gran variabilidad en longitud de las espinas dentro y entre poblaciones (Rundel 1976, Hoffmann 1986). Las areolas de *E. chilensis* consisten de 1-2 espinas centrales

largas y 8-12 espinas laterales cortas que se proyectan en todas las direcciones. En el área del estudio, la longitud de espinas centrales es de aproximadamente 10 cm, y la densidad de las espinas es aproximadamente $2,5 / \text{cm}^2$ (Martínez del Río et al. 1995).

Procedimientos experimentales

Las plantas experimentales de *T. aphyllus* fueron elegidas al azar durante abril del 2002, en un área de aproximadamente 30 ha. Plantas de *E. chilensis* pueden tener varias columnas parasitadas y más de un parásito en cada columna. Con el propósito de evitar confundir otros efectos (por ejemplo competencia entre parásitos), elegimos cactus hospederos con solamente una inflorescencia discreta de *T. aphyllus*. Las inflorescencias usadas fueron aisladas con un tul transparente para evitar las visitas de los polinizadores (fundamentalmente el picaflor *Sephanoides sephaniodes*). Implementamos un diseño genético de medios hermanos paternos (Lynch & Walsh 1998), tres plantas de *T. aphyllus* fueron asignadas aleatoriamente para recibir polen (plantas maternas) de cada planta donante de polen (plantas paternas, N = 21 plantas donantes). La distancia máxima entre las plantas maternas y paternas fue de aproximadamente 1,1 km. La polinización manual fue realizada diariamente durante aproximadamente 40 días (desde mediados de abril a finales de mayo) obteniendo un promedio de 200 flores polinizadas por inflorescencia. Las flores fueron emasculadas previamente a la polinización manual para evitar autogamia. La maduración del fruto ocurrió aproximadamente tres meses después (agosto). Los frutos fueron recogidos durante septiembre. Los frutos y las semillas fueron pesadas usando una microbalanza con la precisión de 0.01g (Sartorius). Las semillas fueron humedecidas sobre papel de

filtro para iniciar la germinación (N = 2531 semillas). La germinación procede de manera similar como en otros quintrales en donde no se requiere algún estímulo del hospedero (Lamont 1983, Norton & Carpenter 1998). Los requisitos de la germinación de las semillas de las lorantáceas son muy simples: la remoción del epicarpio es suficiente. Ni el paso a través del tracto digestivo de las aves dispersoras ni una señal derivada del hospedero son necesarios para la germinación (Lamont 1983, Norton et al. 2002, Rodl & Ward 2002). Incluso en *T. aphyllus*, la germinación puede ocurrir dentro de un fruto intacto (Mauseth et al. 1985, Kuijt 1988, Gonzáles observaciones personales, pero véase Soto-Gamboa & Bozinovic 2002).

Longitud de la radícula y adecuación biológica

Se evaluó la plasticidad de la longitud de la radícula con relación a la distancia a la epidermis del hospedero. 4-5 días después de iniciada la germinación, se colocó cuidadosamente las semillas de cada familia materna sobre una areola o espina central a diferentes distancias de la epidermis del cacto para realizar los siguientes dos tratamientos experimentales: (1) 4 mm y (2) 28 mm. Solamente una semilla fue colocada por columna del hospedero en un diseño completamente al azar. El criterio para elegir la distancia de la deposición de la semilla a la superficie del cacto (ambiente experimental), fue tomado después que medimos la deposición de la semilla dispersadas por *M. thenca* en condiciones naturales. La deposición experimental de la semilla fue tratada en el cuadrante sur-oriental de la columna del hospedero (arco de 130° en la superficie del cacto) para evitar la mortalidad sesgada de las plántulas (Botto-Mahan et al. 2000). Las

semillas fueron supervisadas semanalmente para determinar daño por insectos o si las semillas se cayeron de la espina.

Se contabilizó como un establecimiento exitoso de la plántula cuando la radícula hizo contacto con el hospedero y se formó la placa haustorial sobre la epidermis del hospedero. Confirmamos el estatus de plántula establecida supervisando las plántulas durante 4 meses (hasta febrero de 2003), y observando la persistencia de la placa haustorial durante este período. Las radículas de las plántulas no establecidas dejaron de elongar después de aproximadamente dos meses y se observa la desecación del extremo apical y progresivamente de toda la radícula. Las radículas detienen su elongación al formarse la placa haustorial o al secarse el extremo apical. La longitud de la radícula fue medida cuando se detuvo la elongación, usando una cámara fotográfica digital evitando el contacto con la radícula o la semilla. Las imágenes fueron analizadas con el programa UTHSCSA ImageTool para Windows, versión 2.0 (University of Texas Health Science Center, San Antonio Texas, USA).

Procedimientos estadísticos

Correlaciones y heredabilidad de los rasgos

Se evaluó la heredabilidad del peso del fruto, del peso de la semilla y de la longitud de la radícula. Las estimaciones en el peso del fruto y de la semilla fueron determinadas sin considerar los tratamientos. Respecto a la longitud de la radícula, las heredabilidades y las correlaciones con otros rasgos fueron determinadas en cada tratamiento. La estimación de los componentes de la varianza para evaluar la heredabilidad fue calculada a través de un modelo mixto (PROC MIXED SAS). La

mortalidad de algunas plantas maternas desbalanceó el diseño dando por resultado 58 familias completas (maternas) y 21 familias de medios hermanos (paternas). Debido a que el diseño fue desbalanceado, utilizamos el método de máxima verosimilitud restringido (REML) para la estimación de los componentes de variación (Littell et al. 1996). La varianza genética y heredabilidad dentro de cada tratamiento fueron calculados con los modelos incluyendo solamente el padre y la madre anidada dentro del padre (ambos efectos al azar). Calculé el coeficiente de variación genética para cada rasgo usando $CV_a = 100 \sqrt{V_a}/x$, donde x es el promedio del valor fenotípico del rasgo, como una estimación del potencial para evolucionar de cada rasgo (Houle 1992). Las heredabilidades en sentido estricto para los rasgos normalmente distribuidos en cada ambiente fueron calculados como $h^2 = V_a/V_p$, donde la V_a fue calculada como $4(V_s$, varianza entre padres) y V_p es la variación fenotípica total. Las correlaciones genéticas fueron estimadas (correlación paramétrica de Pearson) entre rasgos con los componentes de variación genética aditiva distintos de cero. También estimamos las correlaciones fenotípicas que incluyen componentes ambientales y genéticos no aditivos (Falconer & Mackay 1996).

Normas de reacción de la longitud de la radícula y la adecuación biológica

La evaluación de la plasticidad de la longitud de la radícula fue analizada estadísticamente usando un modelo mixto (PROC MIXED SAS). El padre y la madre (anidada en el padre) fueron incluidos como efectos al azar, y el tratamiento de la distancia de deposición de la semilla como un efecto fijo. La significancia estadística de

la interacción del tratamiento x familia paterna revela la variación genética aditiva para la plasticidad y el potencial para la evolución de la plasticidad de la radícula.

Por otro lado, se estimó los componentes de varianza para el establecimiento. Utilicé el mismo modelo que para la plasticidad de la longitud de la radícula. Debido a que este parámetro de adecuación biológica toma valores dicotómicos, utilicé una aproximación de modelo linear generalizado (GLIM) con la macro de GLIMMIX de PROC MIXED en SAS (SAS Institute 1997). GLIM es una extensión del modelo linear tradicional (GLM) que es aplicable a una gama más amplia de problemas del análisis de datos y de estructuras del error (Crawley 1993). La macro GLIMMIX ajusta los datos a un GLM con efectos al azar por una estimación iterativa de pseudo-verosimilitud de los parámetros del modelo. Modelamos la variación en adecuación biológica usando una distribución binomial del error y una función de enlace logit. La significancia de los efectos al azar (padre y madre) fue calculada del valor Z. Se usó funciones tipo III para la significancia de los efectos fijos, con los grados de libertad del denominador tomados de la aproximación de Satterthwaite (SAS Institute 1997).

Los componentes de variación paternales y maternas son potencialmente compuestos tanto de varianza aditiva (V_a) y de los efectos maternas (V_{me}) o paternales específicos (V_{pe}) (Cockerham & Weir 1977). Las diferencias significativas entre las estimaciones de los componentes de variación paternal y maternal proporcionan una evidencia de los efectos específicos de ambiente materno o paterno. Probamos por diferencias entre estos componentes de varianza en adecuación biológica comparando el ajuste de un modelo libre (que permite distintas estimaciones de la varianza del padre y de la madre) a un modelo que restringe a que ambas varianzas sean iguales con una

prueba de razón de verosimilitud (*likelihood-ratio test*, Littell et al. 1996, Juergen & Bergelson 2000). No encontramos ninguna diferencia entre los modelos restringido y libre, y presentamos solamente el modelo restringido más simple.

Estimación de selección

Para evaluar la relación entre los rasgos estudiados y la adecuación biológica se realizó un análisis de selección. Varios métodos se han desarrollado para medir selección sobre rasgos múltiples (Lande & Arnold 1983, Schluter 1988, Crespi & Bookstein 1989, Phillip & Arnold 1989, Rausher 1992, Brodie et al. 1995, Janzen & Stern 1998). Empleamos la aproximación de la regresión múltiple para estimar los coeficientes de selección (Lande & Arnold 1983, Rausher 1992).

Primero, examiné la selección fenotípica actuando en cada tratamiento. Los análisis se realizaron considerando el peso del fruto, el peso de la semilla, y la longitud de la radícula durante la etapa del establecimiento, estimando diferenciales de selección (S_i), gradientes lineales (β_i), y no lineales de selección (γ) (Lande & Arnold 1983, Brodie et al. 1995). Los coeficiente de selección fueron calculados por regresión de la adecuación biológica relativa ($w_{relative} = w_{individual}/w_{average}$) contra los rasgos estandarizados ($X = 0$, $SD = 1$). Cuando comparamos S_i y β_i , esto nos permite estimar cuanto de estos caracteres esta sujeto a selección lineal directa de los que están sujetos a selección indirectamente (Lande & Arnold 1983). Los gradientes de selección no lineales, γ_{ii} , nos permiten detectar potencial selección disruptiva ($\gamma_{ii} > 0$) o estabilizadora ($\gamma_{ii} < 0$). El gradiente de selección correlational, γ_{ij} , refleja el grado al cual la selección

actúa sobre la correlación entre un par de rasgos i y j . Ya que nuestra medida de adecuación biológica fue dicotómica (0 = no establecido, 1 = establecido), y las pruebas de significancia no se aplican a los gradientes estimados con este tipo de variable como medida de la adecuación biológica (Lande & Arnold 1983, Brodie et al. 1995, Janzen & Stern 1998), aunque la estimación de los gradientes de selección en sí es válida (Lande & Arnold 1983, Brodie et al. 1995, Brodie & Janzen 1996), utilizamos análisis de regresión logística (no paramétrico) idénticos para probar la significancia de cada término (Janzen & Stern 1998). Para corregir por el potencial error experimental tipo I que aparece por las comparaciones múltiples, realizamos correcciones secuenciales de Bonferroni para cada gradiente dentro de cada tratamiento.

Por otra parte, se realizó una aproximación de selección genotípica (Rausher 1992) en cada tratamiento. Este análisis es complementario a los análisis fenotípicos estándares de selección porque considera los posibles sesgos debido a las correlaciones ambientales entre los rasgos y la adecuación biológica (Mitchell-Olds & Shaw 1987, Rausher 1992). Los promedios de la familia de medios hermanos paternos fueron utilizados como estimación de los valores de cruce para los rasgos y la adecuación biológica en ambos tratamientos (4 mm y 28 mm). Solamente los rasgos que mostraron variación genética aditiva distinta a cero fueron utilizados. Estimé los diferenciales de selección (S_i) para los rasgos como una regresión lineal simple del valor de cruce estandarizado de los rasgos y la adecuación biológica relativa. No evalué los gradientes no lineales de selección usando regresión múltiple debido a que para este nivel de análisis el tamaño de muestra fue bajo (21 familias de medios hermanos paternos), y no hay evidencia de correlación genética entre los rasgos.

Además, se examinó la relación entre la plasticidad de la longitud de la radícula y la adecuación relativa a través de los tratamientos experimentales. La adecuación a través de ambientes fue estimada como el promedio del valor de cruce del establecimiento entre los tratamientos. La plasticidad fue calculada como la diferencia entre el valor de cruce del tratamiento 2 menos el tratamiento 1. Bajo la hipótesis adaptativa de la plasticidad, espero el aumento en la expresión del carácter en el tratamiento más distante (con respecto al tratamiento cercano). Una relación lineal positiva entre la plasticidad y la adecuación proporciona apoyo adicional para la hipótesis adaptativa de la plasticidad.

Finalmente, estimé la forma de selección que actúa sobre los rasgos que mostraron significancia estadística usando una función no-paramétrica de la adecuación biológica. Las funciones no-paramétricas no necesitan ningún conocimiento a priori de una distribución de la adecuación biológica de los fenotipos y son por lo tanto una representación menos restrictiva de la dirección e intensidad de selección. Utilizamos la rutina univariada conocida como "cubic spline" (Schluter 1988). Ya que la forma de la superficie de la adecuación biológica puede variar dependiendo del intervalo del rasgo en el cual se realiza la estimación local (λ), utilizamos el intervalo del rasgo que minimiza la suma de los cuadrados de los errores obtenidos por validación cruzada. El error estándar para cada superficie predicha de la regresión fue estimado por bootstrapping (1000 veces).

RESULTADOS

Correlaciones y heredabilidades

El peso del fruto y el peso de la semilla no mostraron heredabilidad en el sentido estricto (h^2) diferentes de cero (Tabla 1). Sin embargo, detectamos efecto significativo de la planta madre para estos rasgos. Las familias maternas variaron de 0.341 g a 0.945 g para el peso del fruto y de 0.125 g a 0.259 g para el peso de la semilla. Las variaciones de la madre de estos rasgos pueden contener los efectos maternos y genéticos no-aditivos (Roff 1997). La longitud de la radícula mostró diferentes estimaciones de h^2 entre los tratamientos, aumentando la varianza genética aditiva a través de los tratamientos. En el tratamiento 1, la variación genética aditiva no pudo ser estimada, y no detectamos diferencia entre las familias paternas (Tabla 1). El efecto de la madre fue detectado variando la longitud de la radícula desde 10.2 mm hasta 20.7 mm entre las familias maternas. En el tratamiento 2, h^2 no fue significativamente diferente de cero. Las familias paternas mostraron variación desde 12.4 mm hasta 32.9 mm. Se detectó efecto significativo de las madres, las que variaron entre 10.9 mm y 40.1 mm.

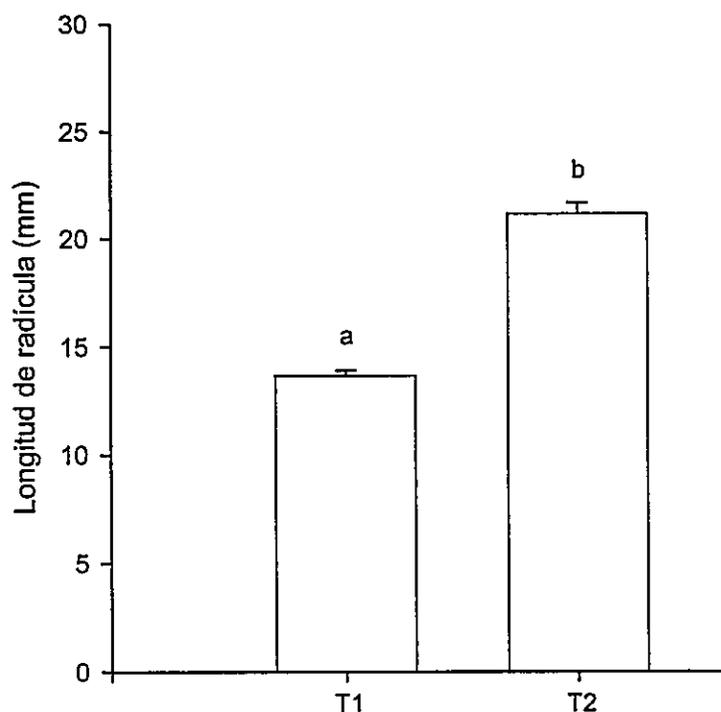
Debido a que la variación genética aditiva del peso del fruto y del peso de la semilla no fue diferente de cero, solamente reportamos las correlaciones fenotípicas entre rasgos. Las correlaciones fenotípicas fueron positivas y significativas entre los rasgos (Tabla 2). Solamente la correlación entre el peso de la semilla y la longitud de la radícula no fue significativa en el tratamiento 1.

Tabla 1. Estadística descriptiva, componentes de variación, y heredabilidades (y errores estándares) de los rasgos fenotípicos de *Tristerix apyllus*. Los niveles de significancia para las heredabilidades son obtenidos de una prueba de Z (componente de variación dividido por error estándar). Los promedios de los rasgos van seguidos por 1 SE, CV_a es el coeficiente de la variación genética aditiva (Houle 1992), V_s es el componente de variación del padre, V_d es el componente de variación de la madre, y V_e es el componente de variación del error. La longitud de la radícula fue calculada en cada tratamiento ($T1 = 4 \text{ mm}$ y $T2 = 28 \text{ mm}$)

Atributo	padre	madre	N	Promedio	CV_a	V_s	V_d	V_e	h^2
Peso del fruto (g)	21	57	2426	0.638 ± 0.003	0	0	0.0137	0.0104	0
Peso de semilla (g)	21	58	2531	0.175 ± 0.001	0	0	0.0011	0.0007	0
Longitud de radícula T1 (mm)	21	58	527	13.66 ± 0.023	0	0	1.7897	25.0541	0
Longitud de radícula T2 (mm)	21	58	435	21.16 ± 0.51	35.92	14.4429	32.1279	69.8049	0.496 ± 0.318ns

ns, no significativo ($P > 0.05$)

Figura 3. Elongación de la radícula de *Tristerix aphyllus* en los tratamientos de deposición de semillas a distintas distancias de la cutícula del cacto hospedero *Echinopsis chilensis*. (T1 = 4 mm y T2 = 28 mm).



Barras con diferentes letras son significativamente diferentes (Prueba de t, $P < 0,0001$)

Tabla 2. Correlaciones fenotípicas entre pares de rasgos (calculados como correlaciones de Pearson). La correlación entre el peso del fruto (PF), y el peso de la semilla (PS) fue estimado del total de la muestra ($N = 2426$). Las correlaciones entre la longitud de la radícula (LR) y los otros rasgos fueron estimadas para cada tratamiento ($N = 512$, $N = 421$, para el tratamiento 1 y 2 respectivamente)

	PS	LR1	LR2
Fruto (PF)	0.610**	0.137*	0.248**
Semilla (PS)		0.0193	0.114*
Longitud de radícula (RL)			

* $P < 0.05$, ** $P < 0.0001$

Norma de reacción de la longitud de radícula y la adecuación biológica

Los resultados evidencian plasticidad de la longitud de la radícula a los tratamientos de distancia (Tabla 3). El promedio de la longitud de la radícula aumentó notoriamente del tratamiento 1 al tratamiento 2 (Prueba de $t_{960} = 14.21$, $P < 0.0001$, Figura 3). La estimación de la varianza paternal y maternal no fue significativa. Se observó que la interacción madre (padre) x tratamiento fueron significativos (Tabla 3). No detecté varianza genética aditiva para la plasticidad ya que la interacción padre x tratamiento no fue estadísticamente significativa (Tabla 3, Figura 4).

El tratamiento afectó notablemente el establecimiento. El tratamiento 1 mostró una mayor proporción de plántulas establecidas que el tratamiento 2 (Figura 5). Determinamos la variación genética en adecuación biológica (Tabla 4). Encontramos variación genética aditiva significativa en adecuación biológica (efectos de padre y madre, Tabla 4, $P = 0,008$). Las interacciones de familia x tratamiento no fueron significativas. El porcentaje de establecimiento por familia paternal varió de 19,2% a 79,3%. Encontramos correlación genética entre los tratamientos entre la adecuación biológica promedio por familia paterna (correlación de Spearman, $r = 0,50$, $t_{19} = 2,54$, $P = 0,019$).

Tabla 3. Resultados del análisis del modelo lineal mixto de la longitud de la radícula usando PROC MIXED en SAS. Los tratamientos son descritos en la metodología

Factores	Estima	Z	P
Padre	1.676 ± 3.389	0.49	0.6210
Madre (padre)	0	0	1.000
Padre x Tratamiento	5.590 ± 4.432	1.26	0.2072
Madre x Tratamiento (padre)	16.448 ± 3.758	4.75	0.0001
Residual	45.119 ± 2.201	20.51	0.0001

Efecto fijo	F	P
Tratamiento (1,20)	41.14	0.0001

Valores de P significativos en negrita (P < 0.05)

Figura 4. Representación de las normas de reacción de la longitud de la radícula de *T. aphyllus* en los tratamientos de distancia de deposición de semilla a la superficie del cacto (T1= 4 mm, T2 = 28 mm). Cada línea representa la norma de reacción de cada una de las familias paternas (N = 21).

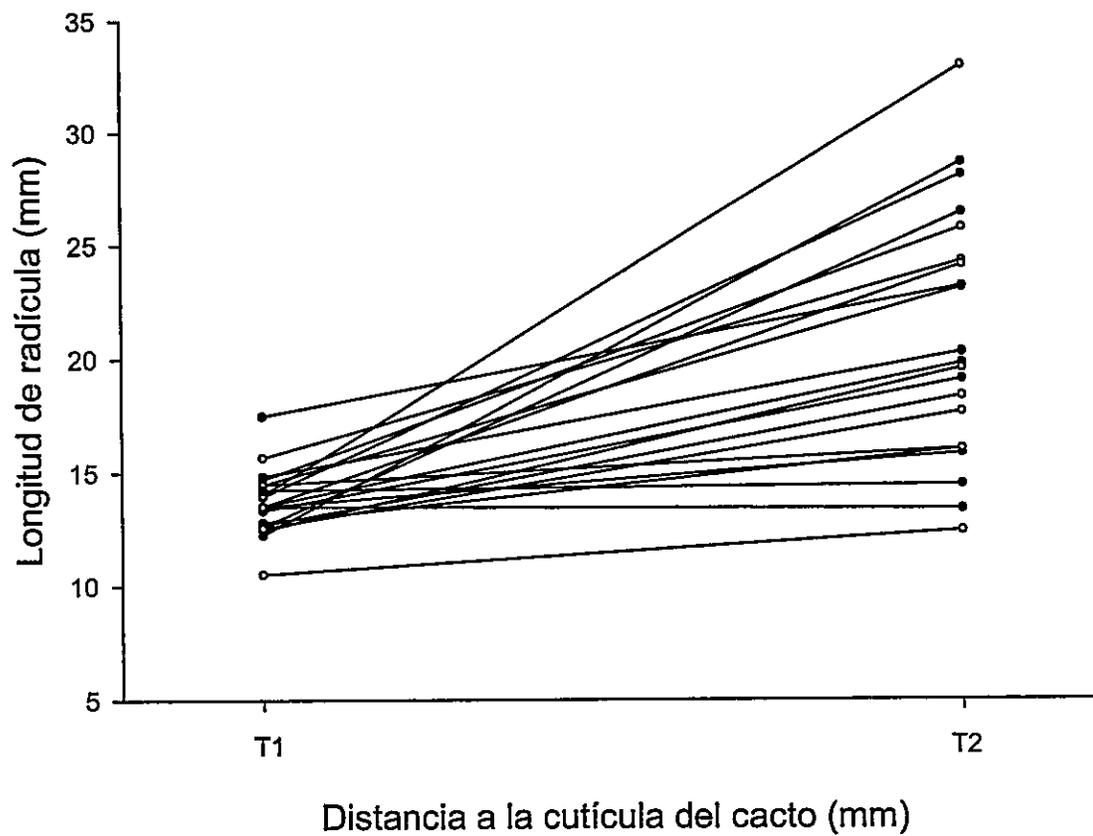
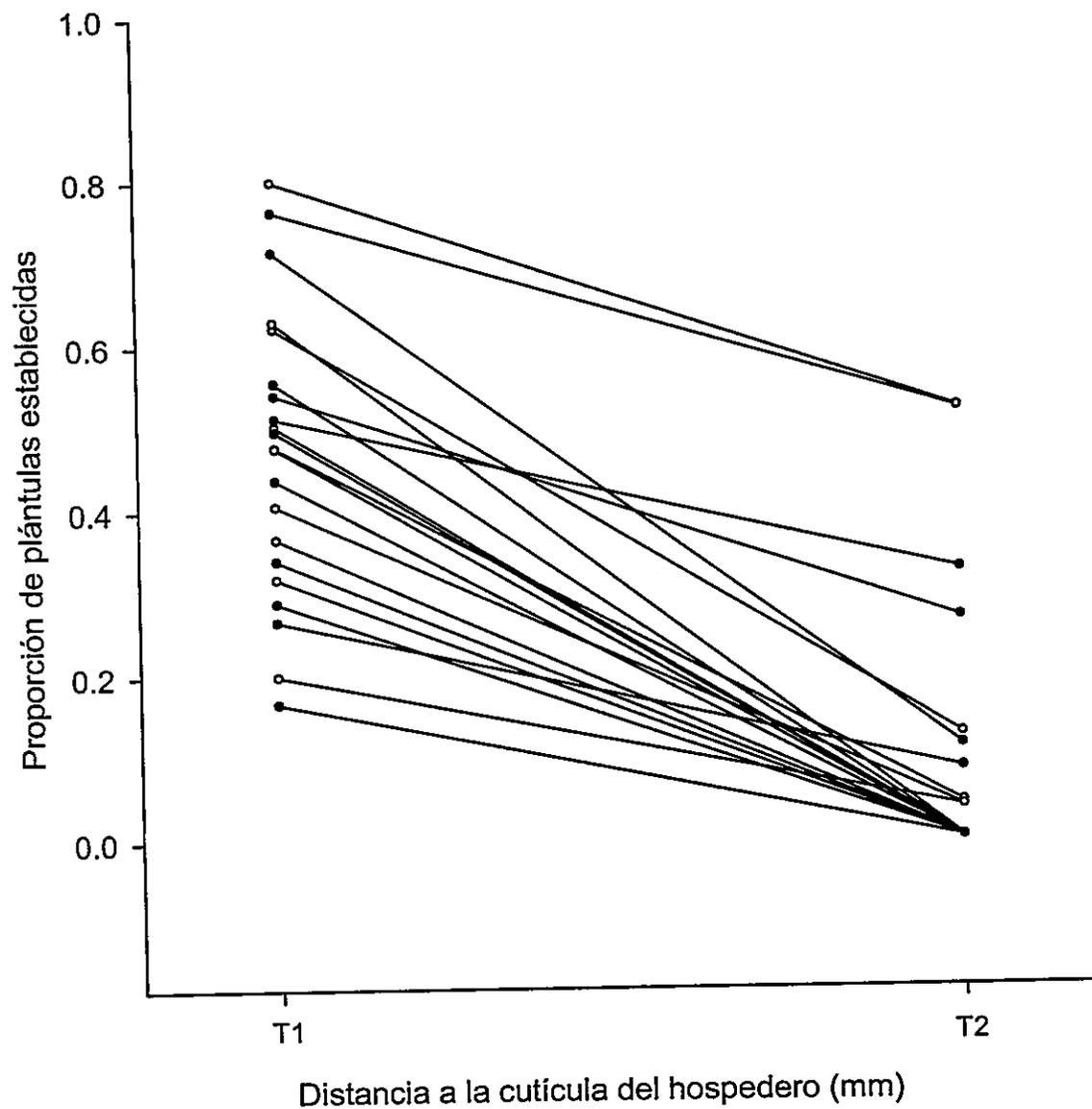


Tabla 4. Análisis del modelo lineal mixto generalizado del establecimiento de las plántulas de *T. aphyllus* usando la macro GLIMMIX (Procedimiento en SAS). 1 SE sigue cada componente de varianza. Los P-valores fueron obtenidos por la prueba de Z (componente de variación dividido por el error estándar). La probabilidad fue maximizada restringiendo a los componentes de variación del padre y de la madre a que sean iguales.

	Estima	Z	P
Padre	0.4386 ± 0.1667	2.63	0.0085
Madre (padre)	0.4386 ± 0.1667	2.63	0.0085
Padre x Tratamiento	0.4368 ± 0.2786	1.57	0.1169
Madre x Tratamiento (padre)	0.1357 ± 0.1833	0.74	0.4591

Factor fijo	F	P
Tratamiento	82.63	0.0001

Figura 5. Representación de las normas de reacción del establecimiento de plántulas de *T. aphyllus* en dos tratamientos de distancia de deposición de semilla a la superficie del cacto (T1= 4 mm, T2 = 28 mm). Cada línea representa la norma de reacción de cada una de las familias paternas (N = 21).



Análisis de selección

La aproximación fenotípica mostró para la radícula contrastantes patrones de selección entre los tratamientos. En el tratamiento 1, la longitud de la radícula y el peso del fruto estuvieron bajo selección directa. El tamaño del fruto fue seleccionado positivamente mientras que la longitud de la radícula fue seleccionada negativamente (Figura 6). Estos rasgos mostraron una correlación fenotípica positiva en este tratamiento experimental (Tabla 2), pero la selección fenotípica fue antagónica entre los caracteres (Tabla 5). Los gradientes no lineales no fueron significativamente diferentes de cero. A pesar que el peso fruto y la longitud de la radícula tuvieron un efecto significativo, el modelo solo explicó una parte baja de la variación en el establecimiento ($R^2 = 7,3\%$). En el tratamiento 2, los diferenciales univariados sugirieron que los tres rasgos estuvieron bajo selección (Tabla 5). Sin embargo, después de remover los efectos indirectos, solo la longitud de la radícula estuvo directamente bajo selección direccional positiva (Figura 7). Solo para la longitud de la radícula, un gradiente no lineal ($\gamma_{ii} > 0$) fue estadísticamente significativo. El modelo explicó una parte importante de la variación del establecimiento ($R^2 = 45,0\%$).

El análisis genético mostró un patrón similar que el análisis fenotípico. Debido a que en el tratamiento 1, la longitud de la radícula, peso del fruto y peso de la semilla no mostraron varianza genética aditiva, analicé solo la relación entre el establecimiento y longitud de la radícula en el tratamiento 2. Encontramos que la longitud de la radícula fue seleccionada positivamente ($S_i = 1,270 \pm 0,017$, $P < 0,0001$) en el tratamiento 2, es decir se favorecieron familias paternas con radículas largas. Finalmente, la plasticidad de

la longitud de la radícula fue seleccionada positivamente a través de los ambientes experimentales ($S_i = 0,093 \pm 0,017$, $P < 0,0001$, Figura 8).

Tabla 5. Coeficientes de selección fenotípica lineales, no lineales y correlacionales para el peso del fruto, de la longitud de la radícula y el peso de la semilla fueron estimados en cada tratamiento (Tratamiento 1 = 4 mm, Tratamiento 2 = 28 mm)

	carácter <i>j</i>				
	S'_i	B_i	γ_{ii}	$PS \gamma_{ij}$	$PF \gamma_{ij}$
Tratamiento 1 (N = 512)					
Longitud de la radícula (LR)	-0.170 ± 0.043***	-0.211 ± 0.043***	0.008 ± 0.032	0.113 ± 0.062	-0.058 ± 0.055
Peso de semilla (PS)	0.113 ± 0.043	-0.040 ± 0.055	-0.016 ± 0.048		-0.001 ± 0.078
Peso de fruto (PF)	0.175 ± 0.044***	0.226 ± 0.055***	-0.034 ± 0.047		
R2 = 7.3%					
Tratamiento 2 (N = 421)					
Longitud de la radícula (LR)	1.767 ± 0.118***	1.789 ± 0.124***	0.685 ± 0.087**	0.479 ± 0.133	-0.115 ± 0.139
Peso de semilla (PS)	0.512 ± 0.143**	0.412 ± 0.154	0.055 ± 0.117		-0.254 ± 0.202
Peso de fruto (PF)	0.574 ± 0.147**	-0.131 ± 0.159	0.121 ± 0.133		
R2 = 45.0%					

*** P < 0.0001, ** P < 0.001, * P < 0.01, NS P > 0.05 después de la corrección por Bonferroni secuencial

Figura 6. Estimación del "cubic spline" en el tratamiento 1 (semilla a 4 mm de la superficie del cacto) para (A) longitud de la radícula (parámetro de suavizamiento $\lambda = -1$), (B) Peso de fruto ($\lambda = 0$). Las líneas discontinuas representan $1 \pm SE$ estimadas de 1000 replicaciones bootstrap.

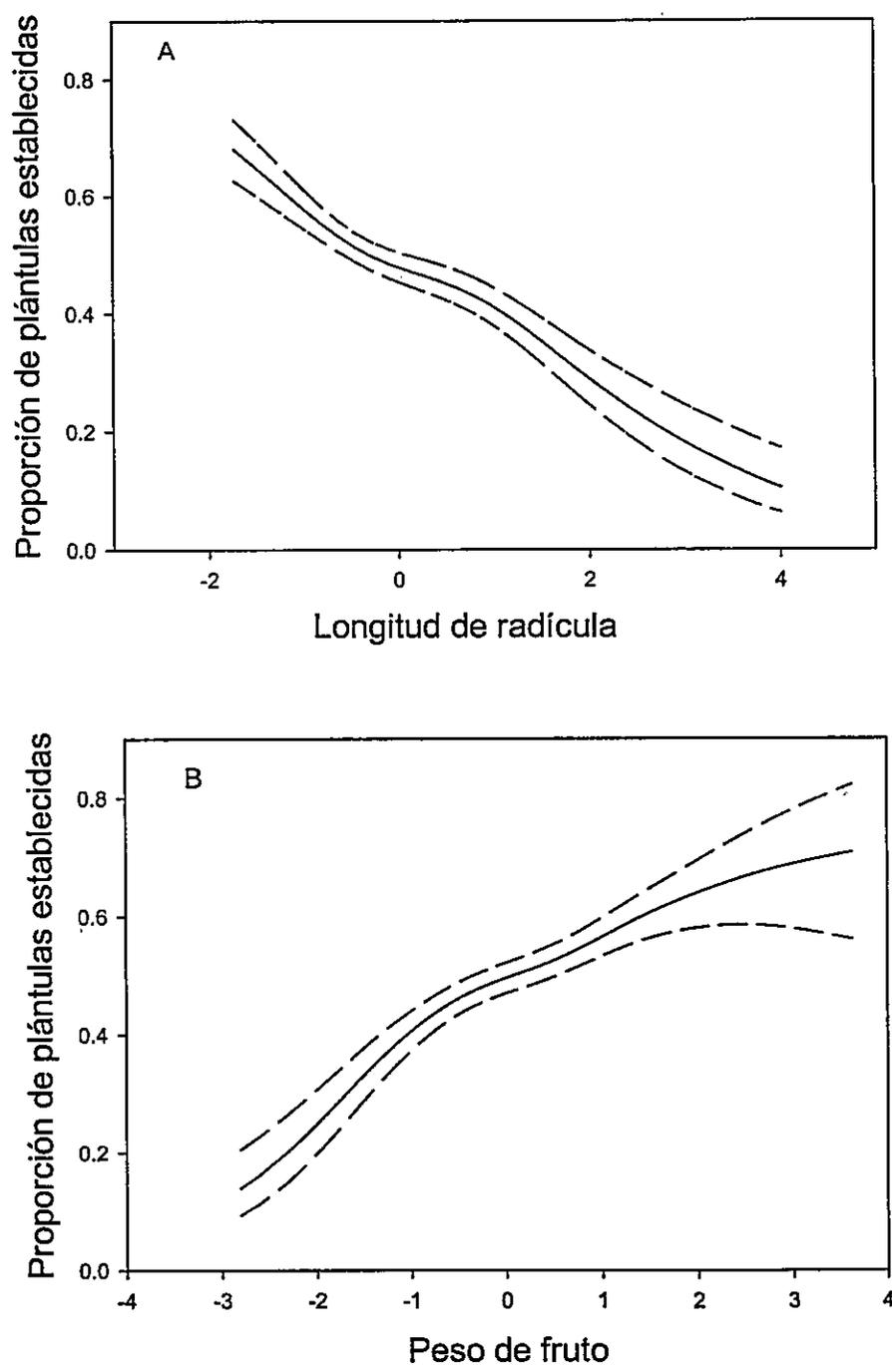


Figura 7. Estimación del "cubic spline" en el tratamiento 2 (semilla a 28 mm de la superficie del cacto) para la longitud de la radícula (parámetro de suavizamiento $\lambda = -5.5$). Las líneas discontinuas representan $1 \pm SE$ estimadas de 1000 replicaciones bootstrap.

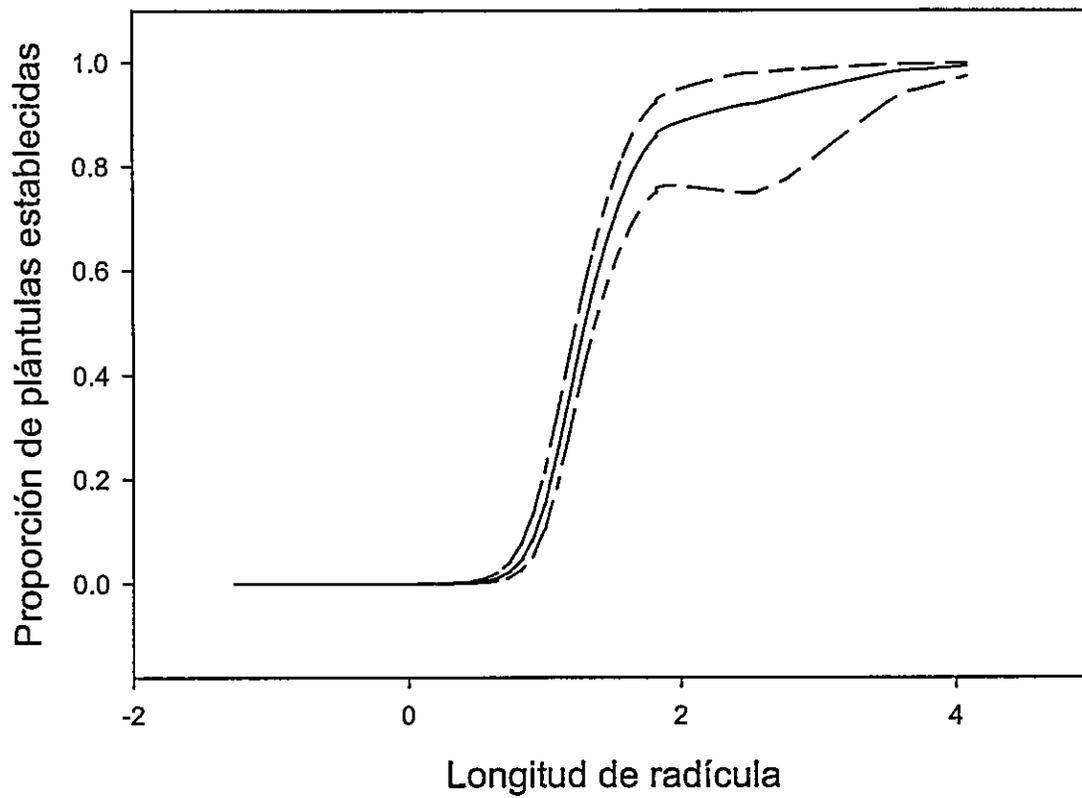
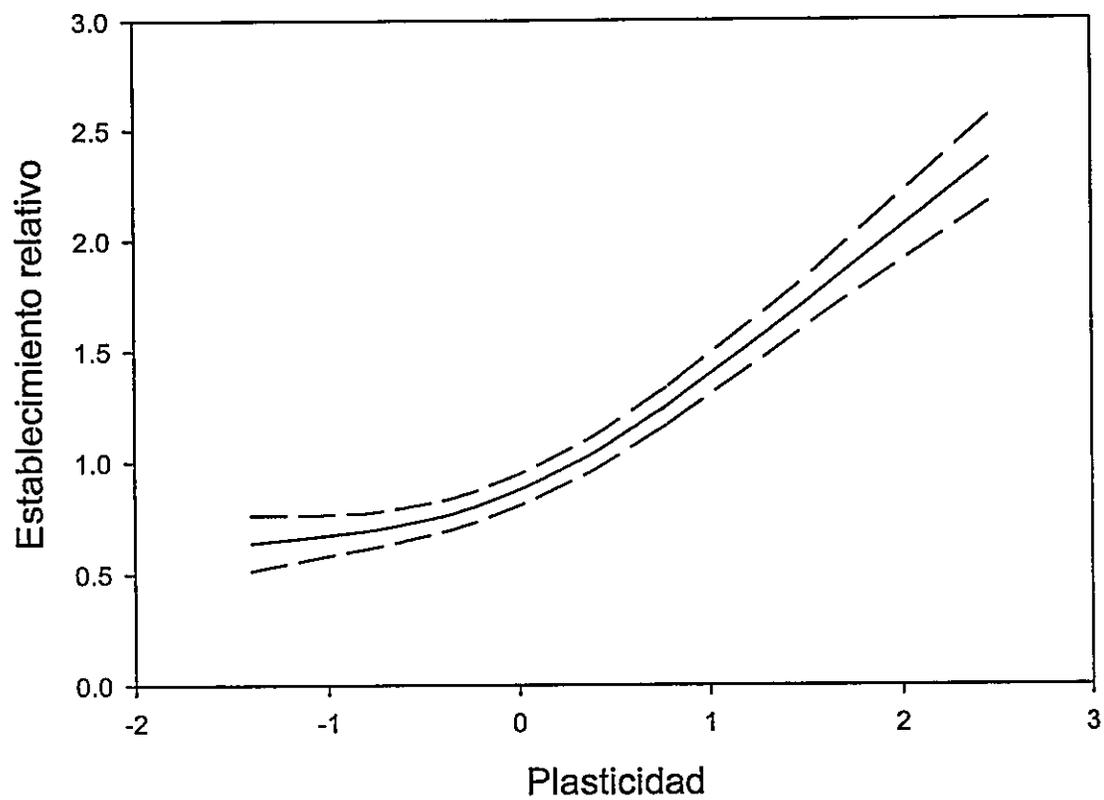


Figura 8. Estimación del "cubic spline" para la plasticidad de la longitud de la radícula (parámetro de suavizamiento $\lambda = -2$). Las líneas discontinuas representan $1 \pm SE$ estimadas de 1000 repeticiones bootstrap.



DISCUSIÓN

Genética cuantitativa de los caracteres y de la adecuación biológica

La selección natural puede actuar sobre caracteres para los cuales hay variación fenotípica heredable que afecta la adecuación biológica. Esta condición requiere que tanto el rasgo y la adecuación biológica deban mostrar un componente genético aditivo a la variación fenotípica. Nuestros resultados demostraron que las h^2 del peso del fruto y del peso de la semilla no fueron significativamente diferentes de cero. Sin embargo, detectamos efectos significativos de la madre para estos rasgos. La variación en los fenotipos de la progenie debido a la contribución materna se puede descomponer en (1) aditiva, componente hereditario atribuible a la segregación de los genes nucleares expresados en las madres individuales y que influyen el fenotipo de su progenie, (2) un componente debido a los genes extra-nucleares (por ejemplo de los organelos), que a menudo se heredan maternalmente, y (3) un componente no-hereditario, que incluye los efectos debido al ambiente maternal y a las interacciones genéticas expresadas en la madre (Byers et al. 1997). Así, los genes no nucleares, la dominancia, y el ambiente materno pueden contribuir a la variación en los rasgos fenotípicos (Roff 1997). En un análisis adicional, encontramos una correlación significativa entre el tamaño de las estructuras reproductivas de las plantas (maternas) y el tamaño de las semillas (Anexos, Tabla 8, Figura 5). Debido a limitaciones propias del diseño de cruzamientos utilizado, no podemos distinguir la fuente maternal específica de la variación de estos rasgos, sin embargo, es ampliamente reconocido que los rasgos juveniles de la planta (por ejemplo

los tamaños del fruto y de la semilla) son afectados fuertemente por efectos maternos, aparte de la expresión de los genes nucleares que contribuyen a la varianza aditiva del carácter en la progenie (Roach & Wulff 1987, Rossiter 1996, Byers et al. 1997).

La expresión de la varianza (y covarianza) genética puede variar dependiendo de los ambientes o de las poblaciones evaluadas (Houle 1992, Falconer & Mackay 1996, Hoffmann & Merila 1999). Trabajos previos han demostrado que la varianza genética aditiva (V_a) y la heredabilidad (h^2) pueden cambiar entre los ambientes dentro de una población, y las diferencias fenotípicas entre genotipos puede ser mayores en algunos ambientes que en otros dando por resultado estimaciones ambiente-específicas de h^2 (Mazer & Schick 1991, Merila & Sheldon 2000, Conner et al. 2003, Messina & Fry 2003). En este estudio, para el rasgo longitud de la radícula, el valor de la estimación h^2 y del coeficiente de variación genética aditiva (CV_a) aumentaron entre los ambientes experimentales (Tabla 1). Considerando que h^2 es un cociente de varianzas ($h^2 = V_a/V_p$), diversas fuentes pueden causar la variación en la estimación de la heredabilidad. Para la longitud de la radícula, la contribución relativa del componente de la V_a incrementó, del mismo modo que la variación de la madre y la residual modificaron su contribución relativa del tratamiento 1 al tratamiento 2. Así, el potencial evolutivo a la respuesta a la selección varió a lo largo de los ambientes experimentales (Tabla 1).

Hay al menos dos maneras que la matriz de varianza-covarianza entre rasgos puede reflejar restricciones evolutivas. Primero, los rasgos pueden tener poca variación genética aditiva, y en segundo lugar, existe una covarianza genética negativa entre rasgos asociados a la adecuación biológica (Houle 1991). Aquí, no detectamos variación genética aditiva para el peso del fruto y de la semilla y la longitud de la radícula (en el

tratamiento 1). Dado que h^2 , tanto para el peso del fruto y de la semilla, no fue diferente de cero, las correlaciones genéticas entre rasgos tampoco lo fueron. Las correlaciones fenotípicas fueron positivas entre los rasgos (Tabla 2), pero debido a que la correlación fenotípica se construye de efectos genéticos y ambientales, y estos componentes pueden mostrar diferentes magnitudes (Roff & Mousseau 1987), no podemos deducir la naturaleza de la correlación genética aditiva a partir de la correlación fenotípica.

El teorema fundamental de selección natural dice que el aumento relativo en la adecuación biológica promedio que resulta de selección es igual a la varianza aditiva estandarizada (es decir heredable) de la adecuación biológica entre los genotipos (Fisher 1958). Así, una manera de estimar el cambio en la adecuación biológica que resulta de selección es medir su variación aditiva (Burt 1995). Nuestros resultados demostraron que existen diferencias significativas en el promedio de la adecuación biológica (establecimiento de la plántula) entre las familias paternas a través de los tratamientos. A pesar de la idea que la selección reduce la variación genética aditiva para la adecuación biológica (Falconer & Mackay 1996, Roff 1997, Lynch & Walsh 1998), muchos estudios han documentado variación en adecuación biológica relativa dentro de poblaciones de planta en condiciones de terreno (Primack & Kang 1989, Schmitt & Antonovics 1986, Stratton 1992, 1994). Nuestra estimación de adecuación biológica (establecimiento de las plántulas) se relaciona con una etapa crucial en los primeros estados en el ciclo biológico de las plantas parásitas (Kuijt 1969, Musselman y prensa 1995, Norton & Carpenter 1998). Trabajos previos han demostrado que la varianza aditiva de la adecuación biológica estimada en las etapas tempranas del ciclo de vida

(por ejemplo en la fase de cigoto o juvenil) son generalmente más altas que la estimada en etapas posteriores (estado adulto, Barrowclough & Rockwell 1993, Campbell 1997).

Varianza genética aditiva y plasticidad de la longitud de la radícula

En el sistema de estudio, la longitud de la radícula mostró plasticidad a través de los ambientes experimentales (distancia de deposición de la semilla a la epidermis del hospedero). La forma y la distribución de estas normas de reacción tienen implicaciones importantes para la evolución de la plasticidad porque caracterizan el potencial de una población de responder a selección impuesta por la heterogeneidad del ambiente. Los resultados no permiten asegurar la existencia de variación genética aditiva para la plasticidad, ya que no se detectó una interacción significativa entre tratamiento x familia paterna, aunque mostraron una significativa interacción entre el tratamiento x familia materna. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la contribución materna puede incluir efectos ambientales y genéticos no aditivos (Roff 1997), además de los genéticos aditivos. Hay abundante evidencia de plasticidad y de la variación genética para la plasticidad en diversos sistemas (revisado en Sultan 1987, Scheiner 1993, Karban & Baldwin 1997, Tollrian & Harvell 1999). Sin embargo, muchas de estas evidencias se han basado en el uso de clones o en familias maternas (Spitze 1992, Zanger & Berenbaum 1990, Harvell 1998, Scheiner & Berrigan 1998), y solo recientemente se ha demostrado variación genética aditiva de la plasticidad fenotípica (Juergen & Bergelson 2000, Relyea 2002, Agrawal et al. 2002, Traw 2002). Este trabajo no detectó variación genética aditiva para la plasticidad de la radícula de *T. aphyllus*, y no habría potencial para que ocurra selección natural sobre la plasticidad frente a la heterogeneidad

ambiental que representa la deposición de la semilla en el hospedero. Esta ausencia de variación puede ser explicada, al menos en parte, por la acción de la selección natural en el pasado, considerando el papel de la radícula para la supervivencia de la plántula, que ha reducido la variación genética aditiva actualmente. Sin embargo, no es posible descartar limitaciones del poder de nuestro diseño experimental para detectar un significativo componente de varianza aditiva para la plasticidad.

El promedio de la longitud de la radícula aumentó en el mismo sentido como en los tratamientos aumentaba la distancia a la superficie del hospedero. Los genotipos mostraron una expresión fenotípica convergente (hacia radículas cortas) cerca de la superficie del hospedero, pero en el otro tratamiento, los genotipos expresaron mayores diferencias fenotípicas. Este rasgo morfológico demostró una expresión fenotípica continua. Mauseth et al. (1985) sugirieron que el alargamiento de la radícula de *T. aphyllus* resulta de la expansión celular en los pecíolos, y el resto de tejidos que conforman la radícula, más que de división celular (multiplicación). No evaluamos si el alargamiento hacia el hospedero fue geotrópico, fototrópico o inducido por otro estímulo, o los factores involucrados en la elongación de la radícula. Sin embargo, una explicación mecanística de cómo ocurre esta plasticidad podría invocar lo que se denomina modulación fenotípica, en la cual el fenotipo resultante es una función continua del cambio ambiental (Smith-Gill 1983). Esta manifestación del desarrollo de la plasticidad se ha relacionado con lo que se denomina "sensibilidad alélica" como una posible forma de control genético de la plasticidad, en el sentido que el producto de cada alelo puede ser "sensible" a los cambios ambientales en diferente manera (Schlichting & Pigliucci 1995, 1998). La sensibilidad alélica se considera una forma pasiva de respuesta

plástica que puede ser o no adaptativa, y que puede dar lugar a una variedad de efectos pleiotrópicos sobre los fenotipos (Schlichting & Pigliucci 1998). Para la plasticidad de la radícula, la sensibilidad alélica (en el nivel genético) podría dar lugar a una modulación del fenotipo a través del desarrollo, específicamente, en una respuesta continua y proporcional de los genotipos al ambiente experimentado (Pigliucci 2001). Sin embargo en nuestro sistema, probar si ocurre un determinado tipo de control genético específico o un mecanismo de desarrollo de la plasticidad requiere investigación adicional, por ejemplo explorar la existencia de posibles genes reguladores de plasticidad o del efecto directo del ambiente sobre genes involucrados en la expresión del carácter.

Análisis de selección y plasticidad adaptativa

Los resultados apoyaron la hipótesis de la plasticidad adaptativa para la longitud de la radícula demostrando que (1) selección natural difiere entre los ambientes experimentados por un organismo, y que (2) la respuesta plástica inducida por cada ambiente ocurre hacia el fenotipo favorecido por selección en ese ambiente (Dudley 1996, Dudley & Schmitt 1996, Van Buskirk et al. 1997, Dorn et al. 2000, Juenger & Bergelson 2000). Además, detectamos un gradiente de selección direccional positivo para la plasticidad, indicando que genotipos más plásticos son favorecidos a través de los ambientes. La evolución de la plasticidad de los atributos es considerada una estrategia adaptativa importante en plantas, y es ampliamente reconocido que la plasticidad individual es esencial para la supervivencia de las plantas en los ambientes naturales que son generalmente heterogéneos (Sultan 1992).

Las plántulas de fruto más pesado y corta longitud de la radícula fueron favorecidas en el tratamiento 1 (semilla cerca de la superficie del hospedero). El peso del fruto puede ser una medida de la calidad de las plántulas. En otros sistemas, el tamaño o la masa de la semilla se ha demostrado que está asociado positivamente al desempeño de las plántulas e incluso con el componente reproductivo de la adecuación biológica de la planta que se desarrolla de esta semilla (Stanton 1984, 1985, Wulff 1986, Mazer & Schick 1991, Platenkamp & Shaw 1993, Rossiter 1997). Esto podía ser particularmente crucial para *T. aphyllus*. Las fuentes externas de nutrientes, agua y minerales que están disponibles para la plántula de especies autotróficas, son generalmente inaccesibles para las plántulas de parásitas, hasta que estas logran penetrar los tejidos del hospedero (Lamont 1983). Así, la supervivencia de la plántula depende del establecimiento rápido una vez que se dispersó la semilla y las condiciones ambientales son convenientes para el crecimiento. La localización de semillas experimentales cerca de la superficie del hospedero favoreció la expresión de radículas cortas y una formación rápida del haustorio. Considerando que las plántulas del *T. aphyllus* requieren penetrar los tejidos del hospedero, las reservas de nutrientes en la semilla podrían ayudar a las células del haustorio a alcanzar los tejidos internos del hospedero (Mauseth 1985, 1990). Las semillas obtenidas de frutos grandes pueden contener nutrientes de mejor calidad en las células del endospermo, que pueden ser transferidas de la semilla a la radícula y ayudar a las células del haustorio para alcanzar los vasos floemáticos del hospedero.

En el tratamiento 2, a pesar de que los diferenciales de selección fueron significativamente positivos para el peso del fruto y el peso de la semilla, solamente ocurrió selección directa sobre la longitud de la radícula. En este ambiente, la longitud

de la radícula mostró correlación fenotípica positiva con el peso de la semilla y del fruto. Creemos que los nutrientes almacenados en semilla son absorbidos por los cotiledones y asignados al alargamiento de la radícula. En nuestro sistema, no existe un único fenotipo óptimo ya que el fenotipo que confiere una máxima adecuación biológica cambió entre los ambientes. La selección que actuó dentro de cada tratamiento experimental tuvo diferente impacto en la longitud de la radícula, y en cada tratamiento el valor favorecido del rasgo es acorde con la dirección de la selección (es decir corto o largo en el tratamiento 1 ó 2, respectivamente).

Diversos roles funcionales se le han asignado a las espinas de los cactus, principalmente relacionados con la adaptación fisiológica a los ambientes áridos (Nobel 1988). También se ha sugerido que las espinas pueden cumplir un rol defensivo contra la herbivoría de mamíferos (Janzen 1986). En este sistema, hay evidencia de que los individuos de *E. chilensis* con espinas apicales más largas previenen la infección por *T. aphyllus*, el cual reduce algunos componentes de la adecuación biológica de *E. chilensis* (Silva & Martínez del Río 1996, Medel 2000, Medel et al. 2002, 2004). Además, las espinas evitan la deposición directa de la semilla de *T. aphyllus* sobre la superficie del cacto impidiendo una rápida formación del haustorio y la penetración del tejido del hospedero. Desde el otro lado de la interacción, Martínez del Río et al. (1995) sugirieron que una radícula más larga de *T. aphyllus* se ha seleccionado para superar las largas espinas de los cactus del hospedero y lograr contactar sus tejidos. Aquí, mostramos evidencia que más que una radícula larga e invariante, una radícula de elongación plástica es la estrategia adaptativa que se desarrolla en este sistema como contra-defensa a la barrera impuesta por las espinas del hospedero.

CAPÍTULO III

Depresión por endogamia en el quintral holoparásito *Tristerix aphyllus*
(Loranthaceae)

RESUMEN

A pesar que las consecuencias de la endogamia en plantas no parásitas han sido ampliamente estudiadas, los estudios en plantas parásitas son escasos. En este estudio (1) se evaluó las consecuencias del tipo de fecundación (auto versus cruzada) en la planta parásita *Tristerix aphyllus* sobre el peso del fruto, el peso de la semilla, la longitud de la radícula, la producción de frutos, la germinación, y el establecimiento (infección exitosa del hospedero) en dos años consecutivos. Considerando que la distancia de deposición de la semilla a la superficie del hospedero es variable y puede afectar el alargamiento de la radícula, (2) evalué si la magnitud de la depresión endogámica para la longitud de la radícula y el establecimiento de las plántulas cambia entre dos ambientes experimentales (semillas depositadas a 4 mm y a 28 mm de la cutícula del cacto). Los resultados mostraron depresión por endogamia en los rasgos estudiados (a excepción del peso de la semilla). La longitud de la radícula fue afectada significativamente por el tratamiento de distancia lo que revelaba plasticidad fenotípica. La radícula en el tratamiento más distante (plántulas a 28 mm de la superficie del hospedero) fueron significativamente más largas que en el otro tratamiento (4 mm). La depresión por endogamia para la longitud de la radícula fue detectada solamente en el tratamiento más distante. Con relación al establecimiento, detectamos mayor depresión por endogamia en el tratamiento más distante. La depresión por endogamia para cada rasgo fue consistente entre años, aunque más alto durante el año 2002 que en el 2003.

Este es el primer reporte que muestra evidencia de depresión por endogamia en atributos involucrados en la infección de parásitos en poblaciones naturales de plantas.

ABSTRACT

Even though the consequences of inbreeding depression have been long studied, evidence for parasitic plants is absent. The aim of this study is to evaluate the consequences of selfing on the fruit weight, seed mass, radicle length, fruit production, germination, and host establishment in *Tristerix aphyllus*, a holoparasitic mistletoe, during two consecutive years. Because the seeds of the mistletoe are often randomly deposited along cactus spines by the bird responsible of seed dispersal, I evaluated whether inbreeding depression influences the potential of seeds to contact the host cuticle and becoming succesful at infection. To this end, I evaluated the change in radicle elongation and establishment between two experimental microenvironments (seeds deposited 4 and 28 mm from the host epidermis). Results revealed significant inbreeding depression for almost every trait that was analyzed. The radicle length was affected by the experimental microenvironment. While seeds from the more distal treatment developed longer radicles than seeds deposited near the host surface, significant inbreeding depression on radicle elongation was detected only in the distant treatment. Regarding establishment, there was a significant depression in the more distant treatment. Even though inbreeding depression was higher in 2002 than 2003, analyses performed on a trait basis revealed consistent coefficients between years. Results from this study are the first evidence for inbreeding depression on traits involved in parasite infection in natural plant populations.

INTRODUCCIÓN

El mantenimiento de sistemas mixtos de reproducción sexual sigue siendo un tema central en biología evolutiva. Organismos que presentan autofecundación tienen una ventaja de 50% en la transmisión de genes y contribuyen doblemente con gametos a su progenie que organismos que se reproducen de modo cruzado (Schemske & Lande 1985, Charlesworth & Charlesworth 1987). Sin embargo, existen importantes factores que se oponen a la evolución de la auto-fertilización. Extensiva investigación ha comparado las consecuencias de la fertilización cruzada y auto-fertilización en los componentes de adecuación biológica tanto en animales como en plantas (Charlesworth & Charlesworth 1987, Husband & Schemske 1996, Crnokrak & Roff 1999). Con frecuencia, estos estudios han demostrado que la progenie derivada de auto-fertilización (que es el caso más extremo de endogamia) muestra un desempeño menor que la progenie derivada de fertilización cruzada, lo que se conoce como depresión por endogamia (Charlesworth & Charlesworth 1987, Husband & Schemske 1996, Crnokrak & Roff 1999, Hedrick & Kalinowski 2000, Keller & Waller 2002). La depresión por endogamia es considerada un factor selectivo importante que se opone a la evolución de la auto-fertilización.

Sin embargo, la detección de depresión endogámica o posibles cambios en su magnitud puede ser afectada por las condiciones ambientales (Crnokrak & Roff 1999, Hedrick & Kalinowski 2000, Keller & Waller 2002). Las diferencias entre progenie obtenida por auto fertilización y fertilización cruzada podrían detectarse solo bajo ciertas

condiciones, debido a que, por ejemplo, se incrementaría la expresión de alelos deletéreos en determinados ambientes o la expresión de un mayor número de alelos deletéreos (Kondrashov & Houle 1994). Esta variación reflejaría una interacción entre factores genéticos y ambientales. Trabajo previo ha demostrado que la magnitud de la depresión por endogamia puede incrementar en condiciones estresantes como poblaciones con competidores (Wolfe 1993, Carr & Dudash 1995, Cheptou et al. 2000a, Meagher et al. 2000, Haag et al. 2002), baja disponibilidad de alimento, o exposición a variaciones abióticas extremas (Keller et al. 1994, Bijlsma et al. 1999, Cheptou et al. 2000b, Keller et al. 2002, Keller & Waller 2002), o sufren el ataque de herbívoros o parásitos (Nuñez-Farfan et al. 1996, Coltman et al. 1999, Carr & Eubanks 2002, O'Brien 2000, Wiehn et al. 2002).

Por otra parte, el papel de la reproducción sexual ha sido explorado en el contexto de la interacción parásito-hospedero. La atención se ha enfocado en la reproducción sexual del hospedero, donde la reproducción cruzada se ha sugerido como una estrategia adaptativa para escapar del ataque de los parásitos (Hamilton et al. 1990, Ebert & Hamilton 1996). La reproducción cruzada genera descendientes más heterogéneos genéticamente que la auto-fertilización, y así la progenie cruzada podría responder mejor en ambientes selectivos heterogéneos (Ebert & Hamilton 1996). Trabajos previos han demostrado que la infección por parásitos favorece la selección de genotipos del hospedero obtenidos por reproducción cruzada (Levri & Real 1998, Coltman et al. 1999, O'Brien 2000, Haag et al. 2002, Wiehn et al. 2002, Salathé & Ebert 2003, pero véase Stevens et al. 1997, Haag et al. 2003). Sin embargo, a pesar de que algunos trabajos teóricos han sugerido que la reproducción sexual cruzada en los

parásitos puede aumentar su adecuación biológica (Kurtz 2003, Galván 2003, Galvani et al. 2003), las ventajas de la reproducción cruzada para los parásitos, solo recientemente ha sido foco de investigación experimental. Gemmill et al. (1997) demostraron que la resistencia del hospedero favoreció la reproducción sexual de nemátodos parásitos. Green et al. (2000) reportaron que la mosca hospedera *Drosophila melanogaster* no mostró diferencias en la resistencia a la avispa parasitoide, *Asobara tabida*, obtenida de reproducción auto y cruzada. Recientemente, dos trabajos han evaluado explícitamente las consecuencias del sistema de reproducción sobre el éxito en la infección del céstode *Schistocephalus solidus* bajo condiciones de laboratorio (Christen et al. 2002, Christen & Milinski 2003). En estos dos últimos trabajos, los autores muestran que el parásito aumentó su éxito de infección gracias a la reproducción cruzada. A la fecha, no hay estudios que evalúen las consecuencias de la endogamia desde la perspectiva del parásito en poblaciones naturales, incorporando los posibles efectos de la condición ambiental sobre la magnitud de la depresión endogámica.

En este estudio, se evalúa las consecuencias de la endogamia en la expresión fenotípica y en componentes de adecuación biológica de la planta holoparásita *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae). La etapa de plántula es la parte más vulnerable del ciclo biológico para la mayoría de las plantas parásitas ya que el establecimiento debe ser iniciado en esta etapa (Lamont 1983, Musselman & Press 1995, Norton & Carpenter 1998). Los quintrales logran establecerse en sus hospederos gracias a que la radícula contacta la cutícula del hospedero y se genera el haustorio, el órgano que representa el puente morfológico y fisiológico entre los tejidos del parásito y del hospedero (Kuijt 1969, Lamont 1983, Musselman & Press 1995). En este sistema, la deposición de la

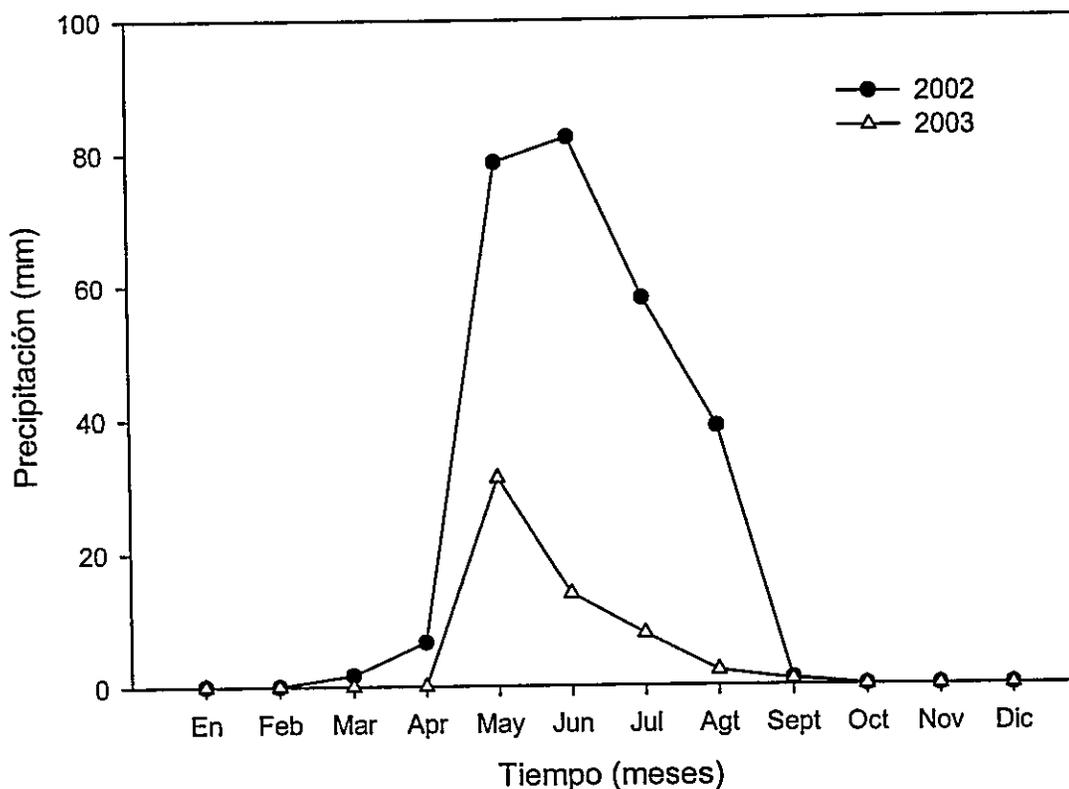
semilla al hospedero representa una fuente de heterogeneidad ambiental para el establecimiento de la plántula. A diferencia de la mayoría de los quintrales, donde la deposición de la semilla ocurre directamente en las ramas del hospedero (sitio de infección), las semillas de *T. aphyllus* son depositadas frecuentemente sobre las espinas del hospedero, distantes de la cutícula del hospedero. La semilla germina y la radícula se alarga hasta eventualmente alcanzar la epidermis del hospedero e iniciar la infección. Si bien *T. aphyllus* exhibe una radícula larga, única entre las especies de la familia Loranthaceae (Kuijt 1969, Kuijt 1988), este atributo muestra un alargamiento plástico frente a la distancia variable en que las semillas son depositadas respecto a la epidermis del hospedero (ver capítulo II). La longitud de la radícula *T. aphyllus* ha sido sugerida como una respuesta adaptativa para superar la barrera que representan las espinas de los cactus (Martínez del Río et al. 1995, ver capítulo II). Este estudio se enfocó en *T. aphyllus* parasitando el cacto *Echinopsis chilensis*. Se evalúa (1) las consecuencias del tipo de polinización (auto polinización versus la polinización cruzada) de *T. aphyllus* sobre el peso del fruto, de la semilla, la longitud de la radícula, el porcentaje de frutos producidos, la germinación de semillas, y el establecimiento de las plántulas (infección exitosa del hospedero) durante dos años consecutivos. Considerando que la distancia de la deposición de la semilla a la superficie del hospedero es variable y puede afectar la elongación de la radícula, (2) evalué si la depresión por endogamia tanto para la longitud de la radícula como para el establecimiento de las plántulas cambia entre dos ambientes experimentales (semillas depositadas a 4 mm y a 28 mm de la cutícula del cacto).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistema de estudio

Este estudio fue conducido entre Marzo del 2002 y Marzo del 2004 en La Reserva Nacional Las Chinchillas (31°30' S, 71°06' O, Aucó, IV Región, Chile), localizada aproximadamente a 300 kilómetros al noreste de Santiago. El clima es de tipo mediterráneo semiárido con la mayor concentración de la precipitación durante el otoño e invierno. La precipitación anual promedio es 167 mm con grandes variaciones interanuales, con frecuentes años de sequía y años inusuales con elevada precipitación que co-ocurren con los eventos Niño (Jaksic 2001). Específicamente, el primer año del estudio (2002) correspondió a un año lluvioso con una precipitación ca 267 mm, mientras que el año siguiente (2003) fue un año seco con una precipitación ca 56 mm (Figura 9). Estos datos climáticos fueron registrados en la estación meteorológica situada en la misma área de estudio. La vegetación es espinosa con presencia de *Flourensia thurifera*, *Bahía ambrosoides*, y *Porlieria chilensis* como las especies arbustivas más comunes. Las especies de cactus columnares son *Echinopsis chilensis* y *Eulychnia acida*, y los cactus globulares *Opuntia berteroniana* y *Eriosyce sandillon*. Información adicional sobre esta área de estudio se ha reportado previamente (Medel 2000, 2001, Medel et al. 2004).

Figura 9. Registro de la precipitación mensual en la Reserva Nacional Las Chinchillas durante los años 2002 y 2003



Tristerix aphyllus es un quintral holoparásito endémico de la zona norte y centro de Chile que infecta solamente especies de cactus (Follman & Mahú 1964, Kuijt 1969, 1988). A diferencia de la mayoría de las lorantáceas, esta especie tiene las hojas reducidas a diminutas escamas, y la única porción que emerge de la columna de los cactus es su roja inflorescencia. La porción vegetativa existe como un endofito dentro

del tejido del hospedero, y parasita del floema de los cactus (Mauseth et al., 1984, 1985, Mauseth 1990). La floración ocurre entre marzo y agosto, mostrando la mayor floración entre abril y junio (Medel et al. 2002). *Tristerix aphyllus* presenta un alto nivel de auto-compatibilidad y es parcialmente autogámica (Smith-Ramirez 1999, Medel et al. 2002). La maduración de los frutos se ocurre entre abril y noviembre. Los frutos son pseudo-bayas con una sola semilla y contienen 80% agua. Al madurar se tornan rosado-pálido o blanco translúcido. El ave *Mimus thenca* (Mimidae) es el único dispersor de las semillas de *T. aphyllus* cuando percha en los cactus y deposita las semillas contenida en sus fecas (Martínez del Río et al. 1995, 1996, Medel 2000, Medel et al. 2002, 2004). Las semillas se adhieren a la cutícula del cacto o a las espinas a través de una sustancia viscosa conocida como viscina. Las semillas germinan en menos de un día después de la deposición y la radícula crece durante aproximadamente 8 semanas o hasta que hace contacto con la epidermis del cacto. Después de este contacto, se desarrolla una placa haustorial de la cual varios filamentos penetran los tejidos del cacto (Mauseth et al. 1984, 1985). El haustorio, más que un órgano permanente, es solo una estructura temporal que da lugar al endofito de la planta (Mauseth et al. 1985). El quintral existe como endofito por aproximadamente 17 meses antes de emerger de los tejidos del cacto como una inflorescencia roja (Mauseth et al. 1984, 1985, Botto-Mahan et al. 2000). En esta área, *T. aphyllus* parasita en *Echinopsis chilensis* y *Eulychnia acida*. Nuestro estudio experimental fue enfocado en *T. aphyllus* parasitando *E. chilensis* el hospedero más común de esta área (Martínez del Río et al. 1995, Medel 2000, Medel et al. 2002, 2004).

Echinopsis chilensis es un cacto columnar endémico frecuente en las laderas de exposición norte de la zona central de Chile (Rundel 1976). Este cacto muestra una gran variabilidad en longitud de las espinas dentro y entre poblaciones (Rundel 1976, Hoffmann 1986). Las areolas de *E. chilensis* consisten de 1-2 espinas centrales largas y 8-12 espinas laterales cortas que se proyectan en todas las direcciones. En el área del estudio, la longitud de espinas centrales es de aproximadamente 10 cm, y la densidad de las espinas es aproximadamente 2,5 / cm² (Martínez del Río et al. 1995).

Procedimiento experimental

Durante abril del 2002, se seleccionaron aleatoriamente 40 plantas experimentales de *T. aphyllus* en un área de ~20 ha. Individuos de *E. chilensis* pueden tener varias columnas parasitadas y con más de un parásito en cada columna. Con el propósito de evitar confundir otros efectos (por ejemplo competencia entre parásitos), elegimos cactos hospederos con solo una discreta inflorescencia de *T. aphyllus*. Las inflorescencias usadas fueron aisladas con un tul transparente para evitar las visitas de los polinizadores (fundamentalmente el picaflor *Sephanoides sephaniodes*). Asignamos de modo aleatorio la mitad de las plantas experimentales para cada tratamiento de polinización: (1) plantas polinizadas con el polen de la misma planta (auto-fertilizada), y (2) plantas polinizadas con el polen de otras plantas (fertilización cruzada). Al menos diez diferentes plantas fueron usadas como fuentes de polen para cada planta del tratamiento de fertilización cruzada, y la distancia máxima entre las plantas donante y receptora de polen fue de aproximadamente 800 m. La polinización manual fue realizada diariamente durante aproximadamente 40 días (desde mediados de abril a finales de

mayo) obteniendo un promedio de 200 flores polinizadas por inflorescencia. En ambos tratamientos, las flores fueron emasculadas previamente a la polinización manual. La maduración del fruto ocurrió aproximadamente tres meses después (agosto). Los frutos fueron recogidos durante septiembre. Durante abril del 2003, seleccionamos de modo aleatorio 62 plantas experimentales, y repetimos el procedimiento del año anterior. La fecha de la maduración del fruto fue similar al año 2002, y los frutos fueron recogidos durante septiembre.

Atributos medidos

Durante los dos años comparé, entre la progenie obtenida de auto-fertilización y fertilización cruzada, tres componentes secuenciales de adecuación biológica: la producción de frutos, germinación de la semilla, y el establecimiento de las plántulas. Además, también comparamos el peso del fruto, el peso de la semilla, y la longitud de la radícula como rasgos relacionados con adecuación biológica. La producción de frutos fue medida como el porcentaje de flores polinizadas convertidas en frutos en cada planta. Los frutos y las semillas fueron pesadas usando una microbalanza con una precisión de 0.01 g (Sartorius). Para iniciar la germinación, las semillas fueron humedecidas sobre papel de filtro. La germinación procede de manera similar a otros quintrales en donde no se requiere estímulo del hospedero (Lamont 1983, Norton & Carpenter 1998, Rodl & Ward 2002). La germinación ocurrió mayoritariamente antes de 24 horas. Sin embargo, evaluamos la germinación de la semilla hasta 10 días después. La longitud de la radícula y el establecimiento de las plántulas fueron evaluados en dos tratamientos experimentales en relación a la distancia de la deposición de la semilla a la

epidermis del hospedero. 4-5 días después de comenzada la germinación, colocamos cuidadosamente las semillas de cada planta experimental sobre la areola o espina central a diferentes distancias de la epidermis del cacto para realizar los dos tratamientos experimentales siguientes: (1) 4 mm, (2) 28 mm. Solamente una semilla fue ubicada por columna del hospedero en un diseño completamente al azar. El criterio para elegir la distancia de la deposición de la semilla a la superficie del cacto (ambiente experimental), fue tomado después que medimos la deposición de las semillas dispersadas por *M. thenca* bajo condiciones de campo en la misma área de estudio. La deposición experimental de la semilla fue tratada en el cuadrante suroriental de la columna del hospedero (arco de 130° en la superficie del cacto) para evitar la mortalidad sesgada de las plántulas (Botto-Mahan et al. 2000). Estos tratamientos nos permiten evaluar la relación entre los rasgos fenotípicos medidos y el establecimiento (componente de la adecuación biológica de la planta). Contabilizamos el establecimiento exitoso de la plántula cuando la radícula hizo contacto con el hospedero y la placa haustorial se desarrolló notablemente sobre la epidermis del hospedero. Después de dos meses, las radículas de las plántulas no establecidas dejaron de elongar y fueron medidas. Confirmamos el estatus de plántula establecida supervisando las plántulas durante 4 meses (hasta febrero del año siguiente). La longitud de la radícula fue medida usando una cámara fotográfica digital evitando el contacto con la radícula o la semilla. Las imágenes fueron analizadas con el programa UTHSCSA ImageTool para Windows, versión 2.0 (University of Texas Health Science Center, San Antonio Texas, USA).

Procedimientos estadísticos

El peso de las semillas y de los frutos fue analizado estadísticamente usando un modelo mixto (PROC MIXED SAS, 1997). La planta (anidada al tipo de cruzamiento) fue incluida como un efecto al azar, el tipo de cruzamiento (fertilización auto y cruzada), y año como efectos fijos. La longitud de la radícula también fue analizada usando un modelo mixto. En este análisis incluimos el peso de la semilla como covariable y los tratamientos de distancia de deposición (en adelante tratamiento de distancia) como efecto fijo. La significancia estadística del tratamiento de distancia revela plasticidad de la longitud de la radícula. La interacción del tratamiento de distancia x el tipo de cruzamiento revela que la plasticidad de la radícula es afectada por la fuente del polen (propio o externo). Adicionalmente, analizamos cada tratamiento de la distancia por separado para distinguir la contribución específica de los factores en cada ambiente.

La producción de frutos fue analizada estadísticamente usando un ANDEVA de dos vías (año y tipo de cruzamiento). Calculamos el porcentaje de flores convertidas a frutos por planta. Utilizamos la transformación arcoseno para normalizar los porcentajes. La germinación fue analizada usando un modelo lineal generalizado (GLIM) con la macro GLIMMIX (PROC MIXED, SAS Institute 1997). Debido a que este componente de adecuación biológica toma un valor dicotómico, modelamos la variación en la germinación de la semilla usando una distribución binomial del error y una función de enlace logit. Este modelo incluyó la semilla como covariable, la planta (anidada al tipo de cruzamiento) como un factor al azar, y año y tipo de cruzamiento como efectos fijos. El establecimiento fue analizado de la misma manera usando la macro GLIMMIX. Para este análisis fueron adicionalmente incluidos la longitud de la radícula como covariable

y el tratamiento de distancia como factor fijo. Adicionalmente, analizamos el establecimiento en cada tratamiento de distancia por separado. La significancia de los efectos al azar fue estimada del valor z (el parámetro de la variación dividido por su error estándar). La significación de los efectos fijos fue probada de funciones estimables del tipo III, con los grados de libertad del denominador tomados de la aproximación de Satterthwaite (SAS Institute 1997)

Nivel de depresión por endogamia

La depresión por endogamia fue calculada como $\delta = 1 - w_s/w_o$, donde w_s es la desempeño promedio de la progenie auto-fertilizada y w_o el desempeño de la progenie de fertilización cruzada. Para evaluar las diferencias entre la progenie auto y cruzada (depresión por endogamia), se requiere detectar un efecto significativo del tipo de cruzamiento. Además, evaluamos diferencias en la magnitud de la depresión por endogamia debido a los factores año y tratamiento de distancia. Para los rasgos cuantitativos, como el peso del fruto, el peso de la semilla, y la longitud de la radícula, diferencias entre los tratamientos en la magnitud de depresión por endogamia es indicado en un ANDEVA por una interacción significativa entre el tipo de cruzamiento x tratamiento de distancia (o tipo de cruzamiento x año). Para realizar tal prueba, es necesario transformar los datos originales a una escala logarítmica, porque la depresión por endogamia es el cociente de dos niveles del factor tipo de cruzamiento. La transformación logarítmica hace este cociente aditivo y así se hace apropiado el uso del ANDEVA para evaluar diferencias de los tratamientos en el nivel de depresión por

endogamia (Johnston & Schoen 1994). Para los rasgos binarios, como producción de frutos, germinación y establecimiento, que fueron medidos como frecuencias, utilizamos la prueba de la homogeneidad de los cocientes (procedimiento de Mantel-Haenszel, Sokal & Rohlf 1995) para evaluar diferencias en depresión por endogamia para cada rasgo medido (Johnston & Schoen 1994). Finalmente, estimamos una correlación entre las depresiones por endogamia en cada rasgo entre los dos años, y evaluamos las diferencias en el promedio de depresión por endogamia entre años utilizando una prueba de t para muestras pareadas.

RESULTADOS

Atributos medidos

El peso del fruto fue afectado significativamente por el tipo de cruzamiento. El año no mostró efecto, y la interacción entre el tipo de cruzamiento x año fue marginalmente significativo (Tabla 6). El fruto de fertilización cruzada fue más pesado que el fruto auto-fertilizado. El peso de la semilla no fue afectado significativamente por el año o el tipo de cruzamiento (Tabla 6, Figura 10). La longitud de la radícula fue afectada significativamente por el peso de la semilla, el tratamiento de distancia, el año, y la interacción año x tratamiento del distancia (Tabla 7A, Figura 11). El peso de la semilla fue correlacionado positivamente con la longitud de la radícula. El efecto significativo del tratamiento de distancia revela plasticidad de la radícula (Figura 11). La radícula en el tratamiento más distante (plántulas a 28 mm de la cutícula del hospedero) fue más larga que en el otro tratamiento de distancia (plántulas a 4 mm). La longitud promedio de la radícula fue mayor en el año 2003 que en el 2002, pero esta diferencia fue más marcada en el tratamiento más distante (Figura 11). El tipo de cruce no tuvo un efecto neto. Sin embargo, detectamos una interacción significativa entre el tipo de cruzamiento x tratamiento de distancia. No hubo diferencias entre los dos tipos de cruzamiento en el tratamiento distancia más cercano (4 mm). Sin embargo, cuando las plántulas fueron localizadas más distantes a la superficie del hospedero (28 mm), la longitud de la radícula fue mayor en las plántulas de fertilización cruzada que en las plántulas de auto-fertilización (Tabla 7B).

Tabla 6. Resultados del análisis del modelo lineal mixto para el peso de fruto y semilla usando PROC MIXED en SAS. Los caracteres fueron transformados a una escala logarítmica.

Peso de fruto

Factor	NDF	DDF	F	P
Año	1	2394	0.22	0.6787
Cruce	1	82	8.98	0.0036
Año x Cruce	1	2394	2.89	0.0891

Efectos aleatorios	Varianza	SE	P
Planta (Cruce)	0.0834	0.0013	0.0001
Residuo	0.0054	0.0001	0.0001

Peso de semilla

Factor	NDF	DDF	F	P
Año	1	2573	0.62	0.4295
Cruce	1	82	1.02	0.3156
Año x Cruce	1	2573	1.36	0.2429

Efectos aleatorios	Varianza	SE	P
Planta (Cruce)	0.0427	0.0068	0.0001
Residuo	0.0252	0.0007	0.0001

Valores de P significativos ($P < 0.05$) son mostrados en negrita.

Figura 10. Comparación del peso de fruto y semilla entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada) en plantas de *Tristerix aphyllus* durante los dos años de estudio. Las barras van acompañadas de 1 Error estándar.

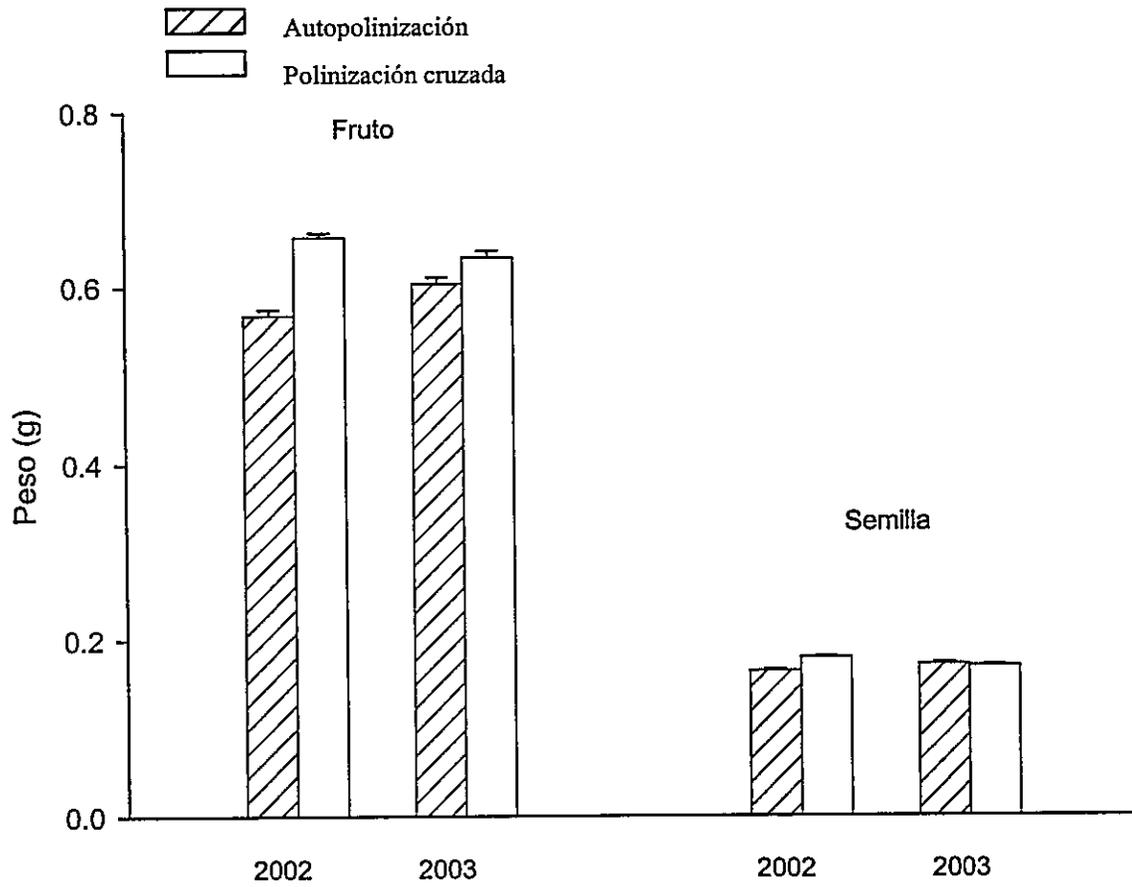


Tabla 7. (A) Análisis del modelo lineal mixto para la longitud de la raíz de *T. aplyillus*. 1 SE sigue cada componente de varianza. Los P- valores fueron obtenidos por la prueba Z (componente de variación dividido por el error estándar). (B) Resultados por tratamientos de distancia. Los datos fueron transformados a escala logarítmica

A					
Factor	NDF	DDF	F	P	
Semilla	1	838	9.73	0.0019	
Año	1	838	20.17	0.0001	
Cruce	1	57	3.80	0.0561	
Tratamiento de distancia	1	57	194.39	0.0001	
Cruce X Tratamiento de distancia	1	57	7.90	0.0068	
Año X Tratamiento de distancia	1	838	20.77	0.0001	
Año X Cruce	1	838	0.74	0.3891	
Año X Cruce X Tratamiento de distancia	1	838	0.62	0.4325	

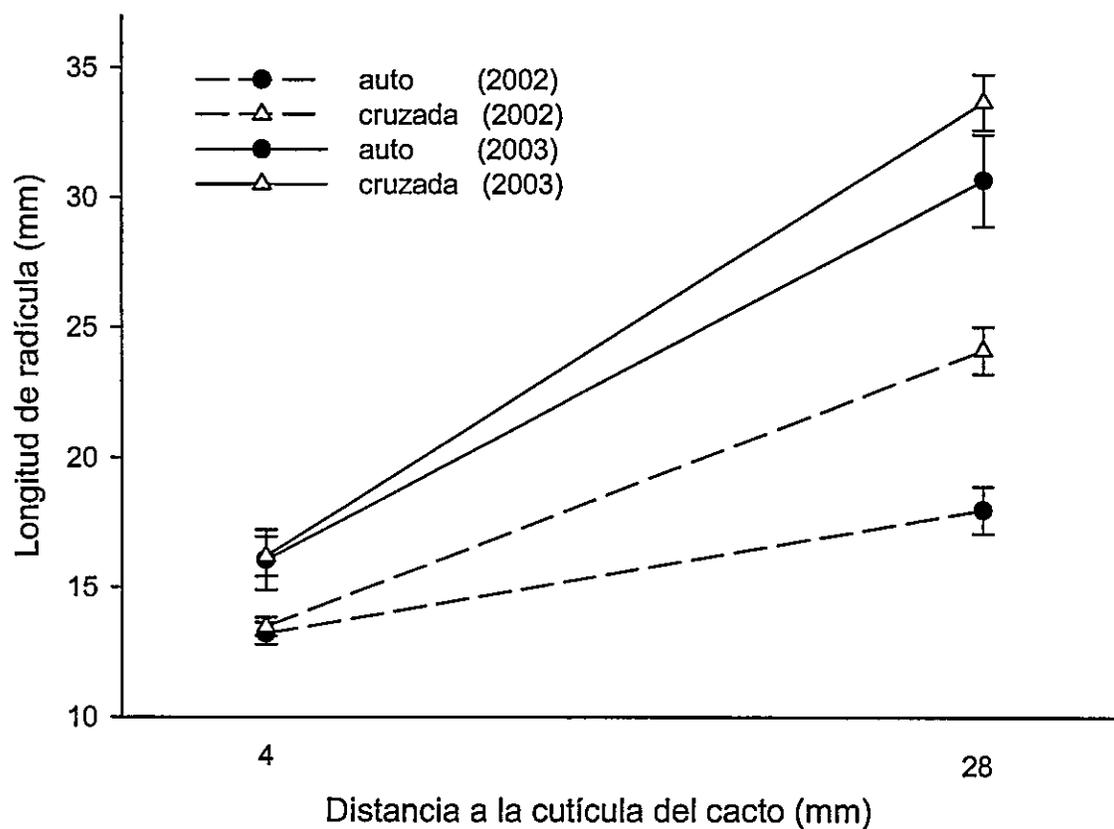
Efectos aleatorios				P	
	Varianza	SE			
Planta (Cruce)	0.005378	0.00187		0.0042	
Planta X Tratamiento de distancia (Cruce)	0.003391	0.00142		0.0169	
Residuo	0.031020	0.00152		0.0001	

B (Por tratamiento de distancia)										
Factor	Cerca de la cutícula (4 mm)					Distante de la cutícula (28 mm)				
	NDF	DDF	F	P		NDF	DDF	F	P	
Semilla	1	451	13.59	0.0003		1	386	1.95	0.1630	
Año	1	451	2.44	0.1191		1	386	27.81	0.0011	
Cruce	1	59	0.05	0.8234		1	57	7.21	0.0095	
Cruce X Año	1	451	0.03	0.8656		1	386	1.09	0.2978	

Efecto aleatorio				P	
	Varianza	SE			
Planta (Cruce)	0.004329	0.001601	0.0069	0.013746	0.003563
Residuo	0.029844	0.001997	0.0001	0.032345	0.002334

Valores de P significativos ($P < 0.05$) son mostrados en negrita.

Figura 11. Comparación de la longitud de la radícula entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada) en plantas de *Tristerix aphyllus* a dos distancias de deposición de las semillas de la cutícula del cacto *Echinopsis chilensis*. Datos corresponden a dos años de estudio.



La producción de frutos fue afectada por el año y el tipo de cruzamiento, pero no detectamos interacción significativa entre estos factores (Tabla 8). Las plantas auto-fertilizadas tuvieron frutos más livianos que los obtenidos por fertilización cruzada. Por otro lado, la producción de frutos promedio fue mayor en el año 2002 que en el 2003 (Figura 12). La germinación fue afectada significativamente por el peso de la semilla, el año, y el tipo de cruzamiento. La interacción entre el tipo de cruzamiento x año no fue significativo (Tabla 9). El peso de la semilla fue correlacionado positivamente con la germinación. El porcentaje de germinación de semillas auto-fertilizadas fue menor que en las de polinización cruzada. El porcentaje promedio de germinación en el año 2002 fue más bajo que en 2003 (Figura 12). El establecimiento de las plántulas fue afectado por el tipo de cruzamiento, el año y el tratamiento de distancia. Las plántulas auto-polinizadas tuvieron un establecimiento menor que las plántulas de polinización cruzada (Figura 13). El establecimiento promedio en el 2002 fue más bajo que en el 2003. Con relación al tratamiento de distancia, las plántulas colocadas más distantes de la superficie del cacto tuvieron un establecimiento menor que el tratamiento cercano (Figura 13). Adicionalmente, el establecimiento fue afectado por el peso de la semilla. La semilla fue correlacionada positivamente al establecimiento solamente en el tratamiento más cercano (Tabla 10B). Interesantemente, la longitud de la radícula mostró una correlación significativa y opuesta con el establecimiento entre los tratamientos de distancia. En el tratamiento de distancia más cercano (4 mm), la radícula corta fue asociada positivamente al establecimiento, mientras que en el tratamiento más distante (28 mm) la radícula larga fue asociada positivamente al establecimiento (Figura 14). Este resultado

es concordante con la hipótesis de plasticidad adaptativa, ya que en cada tratamiento se expresa el fenotipo que redundará en mayor adecuación biológica (capítulo II).

Tabla 8. ANDEVA de dos vías para la producción de frutos (estimado como conversión de flor polinizada-fruto). Los factores fueron año y tipo de cruzamiento. Los datos fueron normalizados usando una transformación arcoseno.

	df effect	MS effect	F	P
Cruce	1	0,55153	12,95	0,0005
Año	1	0,45756	10,74	0,0015
Cruce x Año	1	0,00171	0,04	0,8416
Error	94	0,04258		

Valores de P significativos ($P < 0.05$) son mostrados en negrita.

Tabla 9. Análisis del modelo lineal mixto generalizado de la germinación de semillas de *T. aphyllus* usando la macro GLIMMIX (Procedimiento en SAS). 1 SE sigue cada componente de varianza. Los P-valores fueron obtenidos por la prueba Z (componente de variación dividido por el error estándar).

	NDF	DDF	F	P
Semilla	1	2571	12.10	0.0005
Año	1	2571	20.52	0.0001
Cruce	1	82	18.78	0.0001
Cruce X Año	1	2571	1.35	0.2451

Efectos aleatorios	Varianza	SE	P	
Planta (Cruce)	0,54	1.64722	0.3835	0.0001

Valores de P significativos ($P < 0.05$) son mostrados en negrita.

Figura 12. Comparación de la producción de frutos y la germinación de semillas entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada) en plantas de *Tristerix aphyllus* durante los dos años de estudio. Las barras van acompañadas de 1 Error estándar.

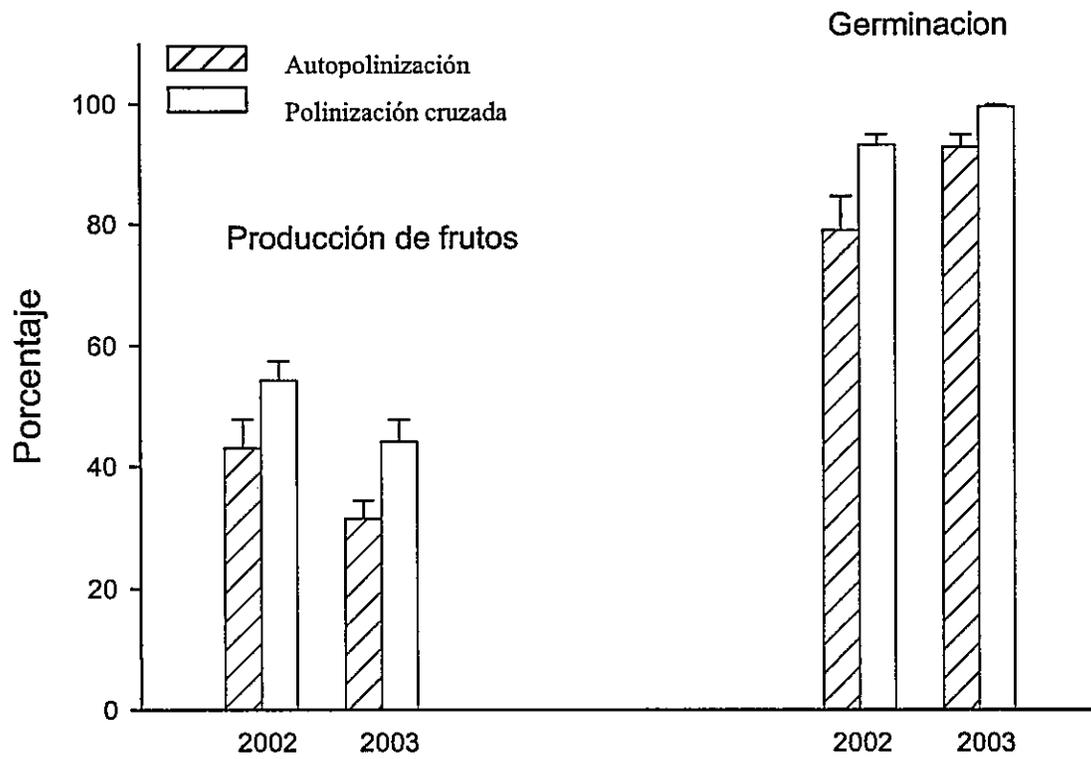


Tabla 10. (A) Análisis del modelo lineal mixto generalizado del establecimiento de las plántulas de *T. apophyllus* usando la macro GLIMMIX (Procedimiento en SAS). 1 SE sigue cada componente de varianza. Los P-valores fueron obtenidos por la prueba Z (componente de variación dividido por el error estándar). (B) Resultados por tratamientos.

A						
	NDF	DDF	F	P		
Semilla	1	834	5.26	0.0221		
Longitud de raíz	1	834	0.20	0.6576		
Longitud de raíz X Tratamiento de distancia	1	834	44.78	0.0001		
Año	1	834	26.48	0.0001		
Cruce	1	57	9.97	0.0025		
Cruce X Año	1	834	0.00	0.9903		
Tratamiento de distancia	1	57	94.15	0.0001		
Año X Tratamiento de distancia	1	834	1.92	0.1662		
Cruce X Tratamiento de distancia	1	57	1.43	0.2372		
Cruce X Tratamiento de distancia X Año	1	834	0.38	0.5394		
Efecto aleatorio						
	Varianza	SE	P			
Planta (Cruce)	0.3993	0.2372	0.0923			
Planta X Tratamiento de distancia (Cruce)	0.4505	0.2329	0.0531			
B (Por tratamiento de distancia)						
Factor	Cerca de la cutícula (4 mm)			Distante de la cutícula (28 mm)		
	NDF	DDF	F	NDF	DDF	F
Semilla	1	449	4.54	1	384	0.77
Longitud de raíz	1	449	18.71	1	384	29.29
Año	1	449	14.40	1	384	16.56
Cruce	1	59	4.45	1	57	6.45
Cruce X Año	1	449	0.14	1	384	0.14
Efecto aleatorio						
	Varianza	SE	P	Varianza	SE	P
Planta (Cruce)	0.5342	0.2169	0.0138	1.5456	0.4987	0.0019

Valores de P significativos ($P < 0.05$) son mostrados en negrita.

Figura 13. Comparación del establecimiento de las plántulas de *Tristerix aphyllus* entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada) a dos distancias de deposición de las semillas de la cutícula del cacto *Echinopsis chilensis* (T1 = 4 mm y T2 = 28 mm), durante los dos años de estudio. Las barras van acompañadas de 1 Error estándar.

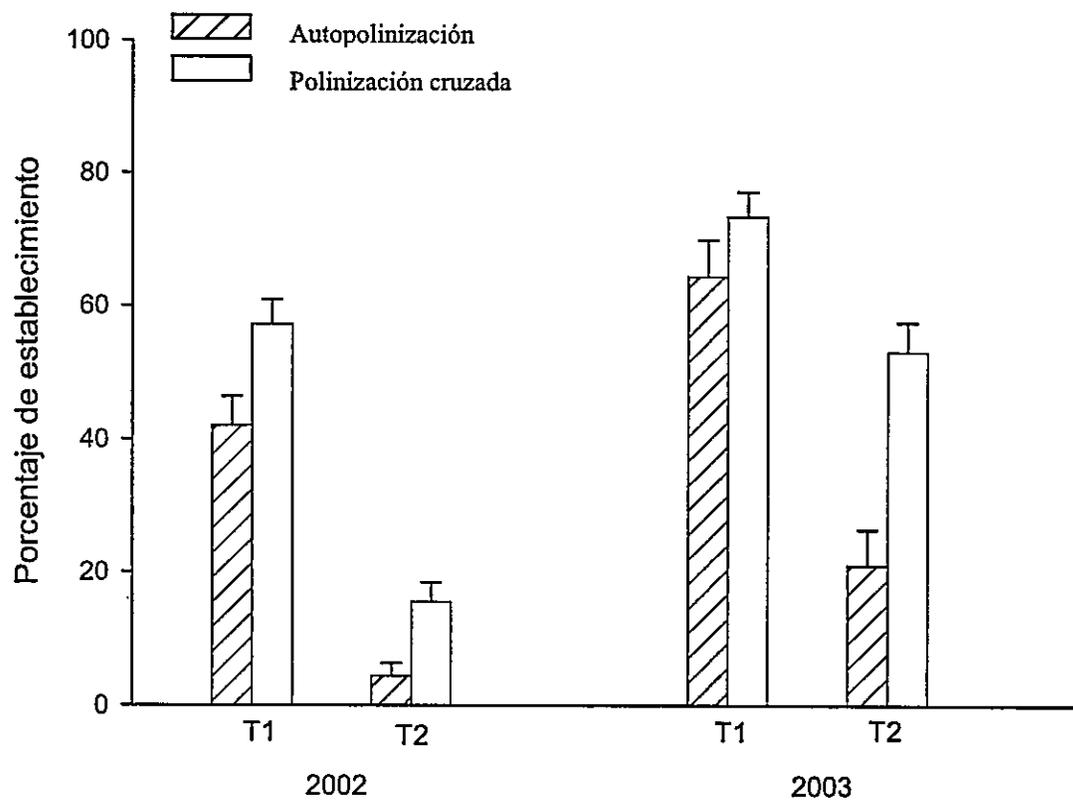
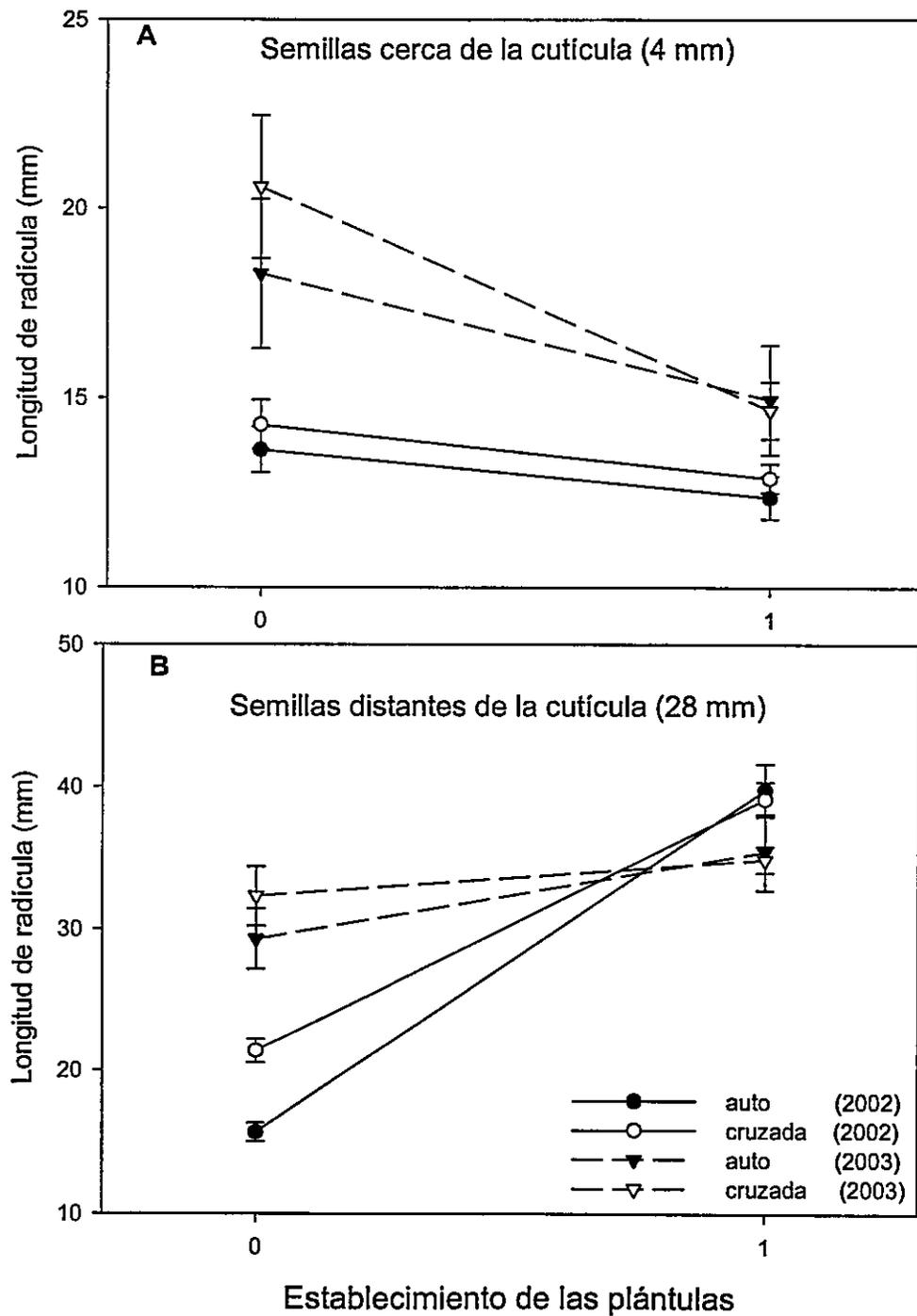


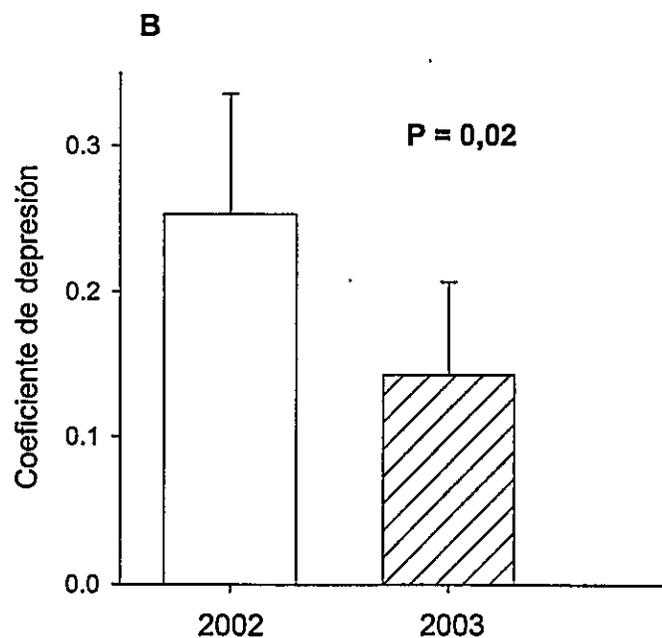
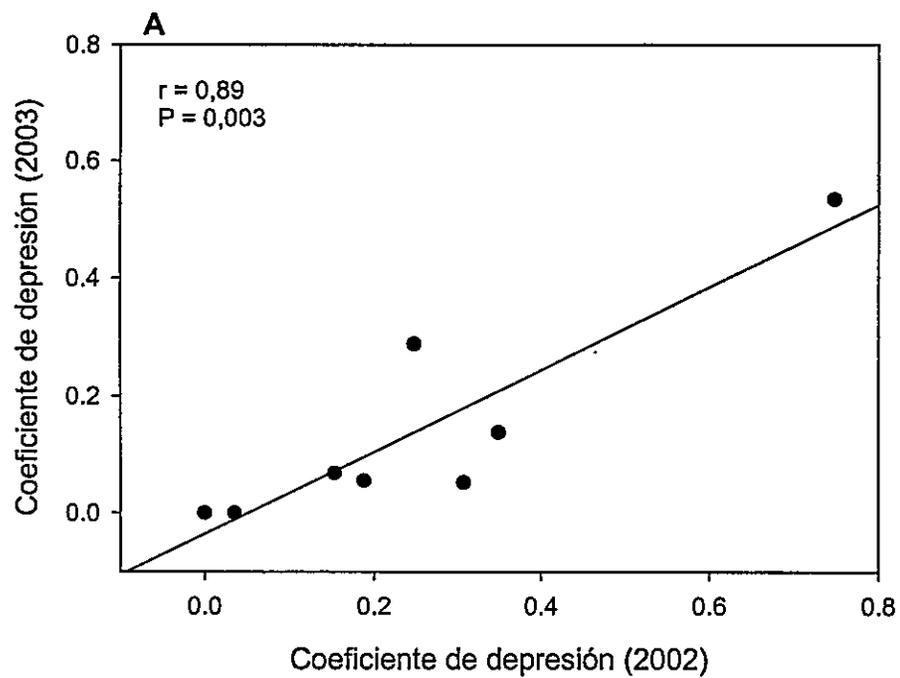
Figura 14. Relación entre la longitud de la radícula y el establecimiento de las plántulas de *Tristerix aphyllus* entre los tratamientos de polinización (auto y cruzada), durante los dos años de estudio. (A) Tratamiento de deposición de las semillas cerca de la cutícula del cacto (4 mm), y (B) al tratamiento más distante (28 mm).



Nivel de depresión por endogamia

El peso del fruto mostró una tendencia a un nivel más alto de depresión por endogamia durante 2002 ($\delta = 0,188$) que durante 2003 ($\delta = 0,055$) pero no fue significativa ($P = 0,08$ para la interacción del tipo de cruzamiento x año, ver Tabla 6). Para el peso de la semilla, la depresión por endogamia fue considerada cero porque no hubo efecto significativo del tipo de cruzamiento. Para la longitud de la radícula, el tipo cruzado no afectó el alargamiento en el tratamiento distancia más cercano (véase Tabla 7B, $P = 0,97$, $\delta = 0,035$ y $\delta = 0$ en los años 2002 y 2003 respectivamente), sin embargo, la depresión por endogamia fue detectada en el tratamiento más distante (véase Tabla 7B, $P = 0,009$, $\delta = 0,307$ y $\delta = 0,052$). Para la producción de frutos, no detectamos diferencias en la depresión por endogamia entre años ($\delta = 0,248$ y $\delta = 0,287$ respectivamente, $\chi^2 = 0,587$, $P > 0,40$). Para la germinación de semillas, no detectamos diferencia entre años ($\delta = 0,153$ y $\delta = 0,068$, respectivamente, $\chi^2 = 2,5067$, $P > 0,10$). Para el establecimiento de las plántulas, no hubo diferencia significativa entre años ($\chi^2 = 0,16$, $P > 0,70$). Sin embargo, entre los tratamientos de distancia, el nivel de depresión por endogamia fue más bajo en el tratamiento más cercano ($\delta = 0,349$ y $\delta = 0,138$ por los años 2002 y 2003 respectivamente) que en el tratamiento distante ($\delta = 0,747$ y $\delta = 0,534$, $\chi^2 = 6,96$, $P < 0,01$). Finalmente, detectamos una alta correlación entre años en la depresión por endogamia de los atributos medidos (correlación de Pearson, $r = 0,89$, $t_6 = 4,80$, $P = 0,003$, Figura 15A), y la depresión por endogamia promedio fue más alta en el año 2002 ($\delta = 0,253$) que en el año 2003 ($\delta = 0,142$, prueba de t para muestras dependientes, $t_7 = 2,89$, $P = 0,023$, Figura 15B).

Figura 15. (A) correlación de Pearson entre los coeficientes de depresión endogámica entre años. Cada punto corresponde al valor para el mismo atributo medido en los dos años. (B) Comparación del coeficiente de depresión promedio entre los dos años (Prueba de t para muestras pareadas).



DISCUSIÓN

El objetivo central fue examinar las diferencias entre la progenie obtenida por auto-polinización y polinización cruzada del quintral *T. aphyllus*. Se muestra evidencia experimental que en la mayoría de los rasgos medidos, la progenie producida por autofertilización tuvo un desempeño menor que la progenie obtenida por fertilización cruzada. Las posibles diferencias entre progenie auto y cruzada se pueden explicar, al menos en parte, por diferencias en rasgos juveniles de la planta tal como el tamaño de la semilla. Trabajo previo (en plantas no parásitas) ha demostrado que el tamaño de la semilla puede influenciar diferentes componentes de adecuación biológica (Stanton 1984, Winn 1985, 1988, Kalisz 1989). En este estudio, el tamaño de la semilla contribuyó a explicar la variación en el alargamiento de la radícula, la germinación de la semilla y el establecimiento de las plántulas de *T. aphyllus*. Sin embargo, las diferencias entre los dos tipos de cruzamientos persistieron después de incluir el tamaño de semillas en nuestros análisis, lo que sugiere que existen otros factores involucrados que dan cuenta de las diferencias encontradas entre los tipos de cruzamiento. Más aún, no detectamos diferencias en el tamaño de la semilla entre los tipos de cruzamiento estudiados. La depresión por endogamia puede explicarse considerando dos hipótesis generales (Charlesworth & Charlesworth 1987, 1999). En primer lugar, la depresión por endogamia resultaría del hecho que las líneas autofecundadas pueden fijar alelos recesivos deletéreos o parcialmente deletéreos en condición homocigótica. Las formas heterocigóticas de estos alelos, muestran un mejor desempeño ya que los efectos

deletéreos son total o parcialmente cubiertos (dominancia o dominancia parcial). En segundo lugar, la depresión endogámica podría ser debida a la superioridad de los heterocigotos sobre los homocigotos de determinados loci que afecta el carácter focal. Los heterocigotos pueden mostrar un mejor desempeño que los homocigotos (sobre dominancia).

Bajo la perspectiva de la interacción parásito-hospedero, el papel de la reproducción sexual se ha investigado enfatizando en las ventajas de la reproducción cruzada para los hospederos (Hamilton et al. 1990, Ebert & Hamilton 1996). Sin embargo, para ambos lados de la interacción parásito-hospedero, el cruzarse con otros individuos produce descendientes genéticamente más heterogéneos que la autofecundación, y así la progenie cruzada podría responder mejor a ambientes variables. Los parásitos que resultan de entrecruzamiento pueden ser capaces de infectar un mayor número de genotipos del hospedero (Agrawal & Lively 2001). Sorprendentemente, solo recientemente se ha explorado experimentalmente la potencial ventaja del cruzamiento para los parásitos en condiciones de laboratorio. En el céstode *Schistocephalus solidus* la progenie autogámica tuvo un reducido éxito de infección que la progenie cruzada (medido como prevalencia e intensidad) en su primer hospedero intermediario el copépodo *Macrocyclops albidus*. Es importante destacar que la ventaja infectiva fue detectada solo bajo condiciones competitivas (Christen et al. 2002), lo que nos evidencia el rol ambiental en la expresión de depresión endogámica. En el mismo sistema, después de la exposición simultánea del pez *Gasterosteus aculeatus* (segundo hospedero intermediario) a dos copéodos infectados (uno con parásitos autogámicos y el otro

cruzados), Christen & Milinski (2003) encontraron que los peces infectados contuvieron más parásitos cruzados.

El presente estudio es la primera investigación que aborda y demuestra depresión por endogamia en una planta parásita en condiciones de campo. Específicamente, se destaca que la polinización cruzada favoreció el establecimiento de las plántulas de *T. aphyllus*, que es el primer y crucial paso para la infección exitosa del cacto hospedero (Press & Graves 1995, Norton & Reid 1997, Norton & Carpenter 1998). El establecimiento exitoso requiere del contacto del ápice de la radícula sobre la cutícula del hospedero y que las células del haustorio penetren el tejido del hospedero y alcancen los vasos floemáticos (Mauseth et al. 1985). Una explicación posible a las ventajas del entrecruzamiento es que la mayor heterogeneidad genética de las plántulas obtenidas por polinización cruzada podrían infectar un mayor número de genotipos del hospedero, lograr un reconocimiento eficiente del sustrato, o superar las barreras defensivas del hospedero (Agrawal & Lively 2001). Por otra parte, considerando que las plántulas de *T. aphyllus* requieren penetrar la gruesa epidermis del hospedero a través de las células del haustorio (Mauseth 1985, 1990, Botto-Mahan et al. 2000), plántulas obtenidas de polinización cruzada podrían alcanzar los tejidos del hospedero más eficientemente que las plántulas auto-polinizadas facilitando el establecimiento. Sin embargo, una explicación mecanística más específica (por ejemplo la estimación de la tasa de penetración de la corteza, o el tiempo requerido para contactar el floema), requiere investigación complementaria.

La magnitud de la depresión por endogamia fue afectada por la contingencia ambiental. Trabajo previo ha demostrado que la depresión por endogamia puede ser

afectada por la condición ambiental (Keller & Waller 2002). En particular, algunos trabajos han sugerido que la depresión endogámica incrementaría su magnitud en ambientes estresantes (Wolfe 1993, Carr & Dudash 1995, Coltman et al. 1999, Cheptou et al. 2000a). En el presente trabajo, en primer lugar, la comparación interanual demostró que el nivel de depresión endogámica tuvo una alta correlación entre años. Además, a pesar de que el nivel de depresión para cada rasgo no decreció significativamente entre años, el promedio de la depresión endogámica en el año lluvioso (2002) fue más alta que en el año seco (2003). Este resultado fue contrario a lo esperado ya que el nivel de la depresión por endogamia fue más bajo en condiciones más estresantes. Algunos trabajos han reportado resultados similares. Una relación inversa entre la magnitud de la depresión por endogamia y estrés hídrico se ha encontrado para *Schiedea lydgatei* (Norman et al. 1995), y *Crepis sancta* (Cheptou et al. 2000b). En nuestro sistema, el quintral representa un sumidero de agua y nutrientes de los tejidos del hospedero. En el área de estudio, las precipitaciones ocurren principalmente durante el invierno, cuando *T. aphyllus* está iniciando la maduración de los frutos. De este modo, los años de sequía pueden afectar directamente sobre la maduración de frutos más que sobre otros componentes de adecuación biológica de *T. aphyllus*, puesto que la adquisición de nutriente y agua (desde el cacto) podría ser limitante en esta fase del ciclo biológico del parásito. Sin embargo sugerimos que *T. aphyllus*, a pesar de que en el año con escasa precipitación (condición muy frecuente en los ambientes semiáridos y áridos donde este quintral infecta diferentes especies de cactos), muestra una baja productividad en términos de frutos producidos (posiblemente a través de una baja disponibilidad de recursos desde el hospedero), muestra un mayor porcentaje de

germinación y establecimiento que en el año lluvioso, compensando el efecto de la variación climática sobre los componentes de adecuación biológica.

El otro factor ambiental estudiado fue la distancia de la deposición de la semilla a la superficie del hospedero. Los tratamientos mostraron diferencias en la magnitud de depresión por endogamia. El tratamiento más distante (28 mm) mostró un nivel más alto de la depresión de la endogamia, en la elongación de la radícula y en el establecimiento de las plántulas que el tratamiento de deposición de la semilla más cerca de la cutícula del hospedero (4 mm). Hay que destacar que, las plántulas obtenidas por autopolinización mostraron una menor elongación que las plántulas obtenidas por polinización cruzada únicamente en el tratamiento más distante. Mauseth et al. (1985) plantearon que el alargamiento de la radícula de *T. apyllum* resulta de la extensión de las células de los pecíolos y del resto de la radícula más que de división celular (multiplicación). Se sugiere que la depresión por endogamia detectada únicamente en el tratamiento más distante, podría explicarse porque el mayor alargamiento celular (que se traduce en elongación radicular), requerido en este tratamiento, implicaría una mayor expresión genética y potencialmente la expresión de alelos homocigotos recesivos deletéreos o parcialmente deletéreos (condición que se favorece por la autofertilización). Por el contrario, en las semillas experimentalmente localizadas cerca de la superficie del hospedero (donde se favorece la expresión más bien de radículas cortas), la expresión genética permitiría alcanzar la elongación requerida para contactar la cutícula del hospedero sin evidenciar la presencia de alelos deletéreos. Este resultado sugiere que la endogamia podría afectar negativamente la plasticidad. En el sistema estudiado, la longitud de la radícula representa un rasgo plástico que favorece el

establecimiento de las plántulas a diferentes distancia de deposición de la semilla de la cutícula del hospedero (ver capítulo II). Sin embargo, estudios anteriores han fallado en establecer una clara relación entre plasticidad y endogamia. Pederson (1968) encontró que la heterocigosis (que se reduciría por la auto-fecundación) se relacionaba inversamente con la varianza genética de la plasticidad, pero no fue clara la relación entre heterocigosis y la plasticidad misma. Por otro lado, Schlichting & Levin (1986) encontraron que la depresión por endogamia redujo la expresión promedio de los caracteres pero no afecta el patrón de plasticidad en *Phlox drummondii*. Finalmente el establecimiento de las plántulas, que muestra depresión endogámica en ambos tratamientos, también aumentó la magnitud de la depresión en el tratamiento más distante. El incremento de la depresión puede explicarse a que en esta condición experimental las plántulas para lograr establecerse deben enfrentar un doble costo. Primero invertir recursos en la elongación de la radícula y luego penetrar la cutícula del hospedero. Muchas radículas logran contactar la cutícula del hospedero, pero no logran formar un haustorio que les permita invadir sus tejidos.

A pesar de las consecuencias negativas de la auto-fecundación para *T. aphyllus*, cabe preguntarse ¿por qué este modo de reproducción puede ser mantenido en esta población? Una de las hipótesis a la que se ha recurrido para explicar el mantenimiento de este modo de reproducción es la del aseguramiento reproductivo. La autofecundación puede tener ventajas sobre el cruzamiento con otros individuos durante la colonización o cuando el acceso a apareamientos es limitado, o cuando el polen externo es limitado debido a que los polinizadores son escasos o están ausentes (Baker 1955, Jain 1976, Barrett 1988). En el caso de plantas, si la producción de semillas esta limitada por polen,

la auto-fecundación es favorecida a pesar de que la depresión endogámica pueda ser fuerte, permitiendo que al menos parte de la progenie producida sea viable y la subsiguiente reproducción no sea afectada (Lloyd 1979, 1992). Tenemos evidencia que la polinización natural de *T. aphyllus* puede ser limitada por disponibilidad de polen al menos durante el año de estudio con escasa precipitación (ver Anexo, Tabla 9). Sin embargo, se requiere estudio adicional para demostrar en efecto que el aseguramiento reproductivo es un factor central en el mantenimiento de la auto-fecundación.

DISCUSIÓN GENERAL

Los ambientes heterogéneos pueden favorecer la evolución de diferentes estrategias adaptativas. Se ha propuesto que la heterogeneidad ambiental puede favorecer alternativamente el polimorfismo genético, o la plasticidad fenotípica (Pigliucci 2001). Estudios previos en diversas especies de plantas han mostrado que la plasticidad fenotípica puede proporcionar tolerancia ambiental y representar una solución al problema de la adaptación a los ambientes heterogéneos (Thompson 1991; Via et al. 1995), demostrando así que la selección natural difiere entre los diversos ambientes en que vive un organismo, y que la respuesta plástica inducida en cada ambiente ocurre hacia el fenotipo favorecido por selección (Dudley 1996). Este estudio demuestra que la elongación de la radícula de *T. aphyllus*, un atributo asociado al establecimiento en plantas parásitas, muestra plasticidad que favorece la sobrevivencia del parásito sobre su hospedero, constituyéndose así en la primera evidencia experimental del valor adaptativo de la plasticidad fenotípica en poblaciones naturales de plantas parásitas.

Si bien la heterogeneidad ambiental puede favorecer la evolución de la plasticidad fenotípica, otros factores pueden representar restricciones o límites a su evolución (Schlichting & Pigliucci 1998; Pigliucci 2001). Al igual que para otros caracteres, la evaluación de restricciones considera posibles costos asociados con el mantenimiento de la plasticidad, la escasa variación genética de la plasticidad del carácter, o compromisos genéticos entre la plasticidad y otros caracteres (incluyendo la plasticidad de otros atributos) asociados al desempeño del organismo (DeWitt 1998). En

este sistema, la ausencia de evidencia de variación genética aditiva (estimada a partir del componente paterno) de la plasticidad de la elongación de la radícula de *T. aphyllus*, sugiere que este carácter tiene actualmente poco potencial genético para responder evolutivamente a la selección. Sin embargo, este resultado debe ser tomado con precaución por al menos dos razones. Una limitación del diseño genético utilizado podría impedir detectar variación genética en la plasticidad del carácter por un bajo poder estadístico debido al número de familias paternas utilizadas en terreno. Por otro lado, la variación en la plasticidad a partir de las diferencias en las familias maternas, si bien pueden contener efectos ambientales (no genéticos), y efectos genéticos no aditivos que pueden sobre estimar el componente genético aditivo, no nos permite concluir rotundamente que existe escaso potencial evolutivo de la plasticidad para responder a la selección. Alternativamente, un diseño de cruzamientos recíprocos (posibles en especies hermafroditas como esta holoparásita), permiten una mejor estimación de los componentes genéticos maternos y maternos. Sin embargo, la ejecución de este tipo de diseños en condiciones de terreno puede ser extremadamente demandante y logísticamente inviables.

Una limitación de diseño en este trabajo, como la de la mayoría de los estudios que evalúa la respuesta plástica en ambientes continuos, es la determinación del ambiente experimental a estudiar. En el caso de ambientes reconocidos como discretos, la definición de la variación ambiental es fácilmente abordable. Este es el caso, por ejemplo de la exposición de genotipos de insectos herbívoros a diferentes especies de plantas hospederas, donde la especie hospedera es reconocida como un ambiente discreto para los herbívoros. Las complicaciones se generan cuando el ambiente es un

continuo que los individuos pueden enfrentar. Este tipo de ambientes son los más frecuentes como el caso de la luz, temperatura, humedad, niveles de daño producidos por la herbivoría, y en este trabajo en particular, la distancia de las semillas a la cutícula del hospedero. Idealmente, se debe considerar todo el rango ambiental al que los organismos de una población están sometidos para entender la interacción entre el genotipo y el ambiente. Sin embargo, existe una limitación logística ineludible a este tipo de estudios que obliga a evaluar experimentalmente los genotipos en puntos definidos dentro del rango ambiental relevante a la biología de los organismos.

Si bien el valor del carácter puede influir sobre la adecuación biológica de los individuos en ambientes heterogéneos, existe un fenómeno recurrente en plantas y animales, conocido como depresión por endogamia, que puede afectar negativamente tanto la expresión de los caracteres como directamente sobre la adecuación biológica de la progenie obtenida por autocruzamiento (Roff 1997; Lynch & Walsh 1998). Interesantemente, la depresión por endogamia puede entenderse como una interacción entre el genotipo y el ambiente (Kondrashov & Houle 1994; Keller & Waller 2002), es decir que la depresión por endogamia puede expresarse o incrementar su magnitud bajo determinados ambientes. Esta tesis muestra evidencia que la endogamia afecta negativamente tanto los componentes de la adecuación biológica así como los caracteres asociados a estos componentes. Particularmente, la endogamia redujo la capacidad de elongación de la radícula de *T. aphyllus* sobre sus hospederos y el éxito durante el establecimiento. Adicionalmente, los resultados de este estudio muestran que la magnitud de la depresión endogámica fue contingente a la condición ambiental. La depresión endogámica durante el año lluvioso (2002) tuvo mayores efectos que durante

el año seco (2003). De este modo, este estudio es el primer reporte que muestra evidencias experimentales de la depresión por endogamia y el rol de la heterogeneidad ambiental sobre atributos involucrados en la infección de plantas parásitas en poblaciones naturales.

Sin embargo, los resultados con relación a la magnitud de la depresión endogámica entre años fue contrario a lo esperado, considerando que años secos pueden representar ambientes estresantes donde se ha propuesto una mayor expresión de los efectos adversos de la endogamia (Keller & Waller 2002). El resultado contrario a la expectativa plantea algunos cuestionamientos ¿la inclusión de posteriores componentes de adecuación biológica como la emergencia, o la salida reproductiva del parásito, podrían revertir el patrón obtenido a partir de los componentes de los estudiados? Se requiere tener precaución al evaluar las consecuencias de la endogamia considerando sólo algunos componentes de adecuación biológica. Sin embargo, los efectos de la depresión endogámica son generalmente más evidentes en los estados tempranos como los evaluados en este estudio, en donde frecuentemente se purgan los efectos negativos de la endogamia. En ese sentido, la inclusión de otros componentes de adecuación biológica no necesariamente modificaría el patrón encontrado.

Esta tesis esta enmarcada en una perspectiva micro-evolutiva, y exploró al interior de una población cómo la variación de los caracteres de los individuos se relaciona a diferencias en su adecuación biológica en ambientes heterogéneos. Específicamente, evalué cómo caracteres (plásticos) de una planta parásita pueden ser seleccionados por la heterogeneidad ambiental generada por las espinas de su hospedero. Este estudio muestra evidencia sugerente para explorar otro tópico central en ecología

evolutiva como es la coevolución. En este sistema (y en la misma área de estudio), se tiene evidencia que los parásitos afectan componentes de la adecuación biológica del cacto hospedero *E. chilensis*, y que los individuos hospederos con mayor largo de espinas minimizan la transmisión del parásito, constituyéndose las espinas como un carácter defensivo contra el parasitismo. Este trabajo mostró evidencia desde el lado del parásito de cómo las espinas pueden generar una fuente de heterogeneidad ambiental que favorece una elongación plástica de la radícula de los parásitos. De este modo, se constituye un escenario de selección recíproca en esta interacción, condición necesario (aunque no suficiente) para documentar coevolución.

Por otro lado, este estudio abre la posibilidad de integrar jerárquicamente el estudio de la adaptación tanto desde la perspectiva actualista microevolutiva hasta una histórica macroevolutiva (filogenética), dos aproximación centrales al estudio de la adaptación en biología evolutiva que han sido abordadas separadamente, pero que pueden resultar evidencia complementaria. Aquí desarrollé la escala poblacional, evaluando el rol actual de los caracteres, sin preguntarme si el origen del carácter ocurrió por selección natural. Una escala ascendente que abre este estudio es la aproximación regional (interpoblacional). Existe evidencia que muestran una gran variación interpoblacional tanto del largo de espina (atributo defensivo del hospedero), así como del largo alcanzado por la radícula (atributo infectivo del parásito). Más aún, evidencia preliminar nos sugiere que existe covariación entre los atributos de parásito y hospedero. Esto nos plantea la interrogante de si ¿existe variación espacial en los patrones de selección? ¿el patrón apoya la idea de selección recíproca? Finalmente, desde una perspectiva filogenético, considerando que al menos el largo de la radícula es

significativamente mayor con relación a las otras especies del mismo clado (*Tristerix*), que son hemiparásitos de arbustos o árboles, podemos evaluar la hipótesis que una radícula larga y plástica de *T. aphyllus* es una novedad evolutiva (apomorfia) que se seleccionó como respuesta adaptativa a la heterogeneidad ambiental generada por las espinas de sus hospederos (a diferencia de las otras especies donde tal heterogeneidad ambiental no ocurre). De este modo, el modelo de estudio podría permitir integrar las dos aproximaciones centrales a los estudios de adaptación biológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahamson, W. G. & A. E. Weis, 1997. Evolutionary ecology across three trophic levels. Goldenrods, gallmakers, and natural enemies. Princeton University Press. Princeton. New Jersey
- Agrawal, A. A. 1998. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science* 279: 1201-1202.
- Agrawal, A. A. 1999. Induced responses to herbivory in wild radish: effects on several herbivores and plant fitness. *Ecology* 80: 1713-1723.
- Agrawal, A. A. 2000. Benefits and costs of induced plant defense for *Lepidium virginicum* (Brassicaceae). *Ecology* 81: 1804-1813.
- Agrawal, A. A. 2001. Ecology: phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* 294: 321-326.
- Agrawal, A. A., J. K. Conner, M. T. J. Johnson & R. Wallsgrave. 2002. Ecological genetics of an induced plant defense against herbivores: additive genetic variance and costs of phenotypic plasticity. *Evolution* 56: 2206-2213.
- Agrawal, A. A., S. Y. Strauss & M. J. Stout. 1999. Costs of induced responses and tolerance to herbivory in male and female fitness components of wild radish. *Evolution* 53: 1093-1104.
- Agrawal, A. F. & C. M. Lively. 2001. Parasites and the evolution of self-fertilization. *Evolution* 55: 869-879
- Alpert, P. & E. L. Simms. 2002. The relative advantages of plasticity and fixity in different environments: when is it good for a plant to adjust? *Evolutionary Ecology* 16:285-297.
- Arnold, S. J. 1983. Morphology, performance and fitness. *American Zoologist* 23: 347-361
- Arnold, S. J. & M. J. Wade. 1984. On the measurement of natural selection on sexual selection. *Evolution* 38: 709-719
- Baker, H. G. 1955. Self compatibility and establishment after long distance dispersal. *Evolution* 9: 347-349.

- Baldwin, I. T. 1998. Jasmonate-induced responses are costly but benefit plants under attack in native populations. *Proceedings of the National Academic of Sciences of the United States of America* 95: 8113-8118.
- Barrett, S. C. H. 1988. Evolution of breeding systems in *Eichhornia* (Pontederiaceae): a review. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 741-760.
- Barrowclough, G. F. & R. F. Rockwell. 1993. Variance of lifetime reproductive success estimation based on demographic data. *American Naturalist* 141: 281-295.
- Bergelson, J. 1994. The effect of genotype and the environment on costs of resistance on lettuce. *American Naturalist* 143: 349-359
- Bijlsma, R., J. Bundgaard & W. F. Van Putten. 1999. Environmental dependence of inbreeding depression and purging in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 1125-1137.
- Botto-Mahan, C., R. Medel, R. Ginocchio & G. Montenegro. 2000. Factors affecting the circular distribution of the leafless mistletoe *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae) on the cactus *Echinopsis Chilensis*. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 525-531.
- Bradshaw, A. D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetic* 13: 115-155
- Bradshaw, A.D. & K. Hardwick. 1989. Evolution and stress-genotypic and phenotypic components. *Biological Journal of the Linnean Society* 37: 137-155.
- Breden, F. J. & M. Wade 1989. Selection within and between kin groups of the imported willow leaf beetle. *American Naturalist* 134: 35-50
- Brodie, E. D. III, A. J. Moore & F. J. Janzen, 1995. Visualizing and quantifying natural selection. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 313-318.
- Brodie, E. D. & F. J. Janzen 1996. On the assignment of fitness values in statistical analyses of selection. *Evolution* 50: 437-442.
- Burt, A. 1995. The evolution of fitness. *Evolution* 49: 1-8.
- Byers, D. L., G. A. J. Platenkamp & R. G. Shaw. 1997. Variation in seed characters in *Nemophila menziesii*: evidence of a genetic basis for maternal effect. *Evolution* 51: 1445- 1456.
- Campbell, D. R. 1997. Genetic and environmental variation in life history traits of a monocarpic perennial: a decade-long field experiment. *Evolution* 51: 373-382

- Carr, D. E. & M. D. Eubanks. 2002. Inbreeding alters resistance to insect herbivory and host plant quality in *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae). *Evolution* 56: 22-30.
- Carr, D. E. & M. R. Dudash. 1995. Inbreeding depression under a competitive regime in *Mimulus guttatus*: consequences for potential male and female function. *Heredity* 75: 437-445.
- Charlesworth, B. & D. Charlesworth 1999. The genetic basis of inbreeding depression. *Genetical Research* 74: 329-340.
- Charlesworth, D. & B. Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268.
- Cheptou, P. O., A. Berger, A. Blanchard, C. Collin & J. Escarre. 2000a. The effect of drought stress on inbreeding depression in four populations of the Mediterranean outcrossing plant *Crepis sancta* (Asteraceae). *Heredity* 85: 294-302.
- Cheptou, P. O., E. Imbert, J. Lepart & J. Escarre. 2000b. Effects of competition on lifetime estimates of inbreeding depression in the outcrossing plant *Crepis sancta* (Asteraceae). *Journal of Evolutionary Biology* 13: 522-531.
- Christen, M. & M. Milinski. 2003. The consequences of self-fertilization and outcrossing of the cestode *Schistocephalus solidus* in its second intermediate host. *Parasitology* 126: 369-378.
- Christen, M., J. Kurtz & M. Milinski. 2002. Outcrossing increases infection success and competitive ability: experimental evidence from a hermaphrodite parasite. *Evolution* 56: 2243-2251.
- Cockerham, C. C. & B. S. Weir. 1977. Quadratic analyses of reciprocal crosses. *Biometrics* 33: 187-203.
- Coltman, D. W., J. G. Pilkington, J. A. Smith & J. M. Pemberton. 1999. Parasite-mediated selection against inbred soay sheep in a free-living, island population. *Evolution* 53: 1259-1267.
- Conner, J. K., R. Franks & C. Stewart. 2003. Expression of additive genetic variance and covariances for wild radish floral traits: comparison between field and greenhouse environments. *Evolution* 57: 487-495.
- Crawley, M. J. 1993. *GLIM for ecologists*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Crespi, B. J. & F. L. Bookstein. 1989. A path-analytic model for the measurement of selection on morphology. *Evolution* 43: 18-28

- Crnokrak, P. & D. A. Roff. 1999. Inbreeding depression in the wild. *Heredity* 83: 260-270.
- De Jong, G. 1995. Phenotypic plasticity as a product of selection in variable environment. *American Naturalist* 145: 493-512
- DeWitt, T. J. 1998. Cost and limits of phenotypic plasticity: tests with predator-induced morphology and life history in a freshwater snail. *Journal of Evolutionary Biology* 11: 465-480.
- Dobson, A. P. & E. R. Crawley. 1994. Pathogens and the structure of plant communities. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 393-398.
- Dorn, L. A., E. H. Pyle & J. Schmitt. 2000. Plasticity to light cues and resources in *Arabidopsis thaliana*: testing for adaptive value and costs. *Evolution* 54: 1982-1994.
- Dudley, S. A. 1996. Differing selection on plant physiological traits in response to environmental water availability: a test of adaptive hypotheses. *Evolution* 50: 92-102.
- Dudley, S. A. & J. Schmitt, 1996. Testing the adaptive plasticity hypothesis: density-dependent selection on manipulated stem length in *Impatiens capensis*. *American Naturalist* 147: 445-465.
- Dudley, S. A. & Schmitt, J. 1995. Genetic differentiation in morphological responses to simulated foliage shade between populations of *Impatiens capensis* from open and woodland sites. *Functional Ecology* 9: 655-666.
- Ebert, D. & W. D. Hamilton. 1996. Sex against virulence: the coevolution of parasitic diseases. *Trends in Ecology and Evolution* 11: A79-A82.
- Endler, J. A. 1986. *Natural selection in the wild*. Princeton, New Jersey
- Falconer, D. S. 1981. *Introduction to quantitative genetics*. Longman, New York.
- Falconer, D. S. & T. F. C. Mackay. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. 4th ed. Longman Group, Essex, UK.
- Fisher, R. A. 1958. *The genetical theory of natural selection*. 2nd ed. Dover, New York.
- Follman, G. & M. Mahú. 1964. Las plantas huéspedes de "*Phrygilanthus aphyllus*" (Miers) Eichl. *Boletín de la Universidad de Chile, Ciencias*, 7: 39-41
- Futuyma, D. J. 1998. *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates, Sunderland.

- Galvani, A. P. 2003. Epidemiology meets evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 132-139.
- Galvani, A. P., R. M. Coleman & N. M. Ferguson. 2003. The maintenance of sex in parasites. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: 19-28.
- Gemmill, A. W., M. E. Viney & A. F. Read. 1997. Host immune status determines sexuality in a parasitic nematode. *Evolution* 51: 393-401.
- Gomes A. L. & G. W. Fernandes. 1994. Influence of parasitism by *Pilostyles ingae* (Rafflesiaceae) on its host plant, *Mimosa naguirei* (Leguminosae). *Annals of Botany* 68: 205-208.
- Gómez J. M. 1994. Importance of direct and indirect effects in the interaction between a parasitic angiosperm (*Cuscuta epithymum*) and its host plant (*Hormathophylla spinosa*). *Oikos* 71: 97-106.
- Green, D. M., A. R. Kraaijeveld & H. C. J. Godfray. 2000. Evolutionary interactions between *Drosophila melanogaster* and its parasitoid *Asobara tabida*. *Heredity* 85: 450-458.
- Haag, C. R., J. W. Hottinger, M. Riek & D. Ebert. 2002. Strong inbreeding depression in a *daphnia* metapopulation. *Evolution* 56: 518-526.
- Haag, C. R., O. Sakwinska & D. Ebert. 2003. Test of synergistic interaction between infection and inbreeding in *Daphnia magna*. *Evolution* 57: 777-783.
- Hamilton, W. D., R. Axelrod & R. Tanese. 1990. Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites (a review). *Proceedings of the National Academic of Sciences of the United States of America* 87: 3566-3573.
- Harvell C. D. 1998. Genetic variation and polymorphism in the inducible spines of a marine bryozoan. *Evolution* 52: 36-42
- Hedrick, P. W. & S. T. Kalinowski. 2000. Inbreeding depression in conservation biology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 139-162.
- Hoffmann A. 1986. Cactáceas en la flora silvestre de Chile. Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago, Chile.
- Hoffmann, A. A. & J. Merila 1999. Heritable variation and evolution under favourable and unfavourable conditions. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 96-101
- Houle, D. 1991. Genetic covariance of fitness correlates: what genetic correlations are made of and why it matters? *Evolution* 45: 630-648

- Houle, D. 1992. Comparing evolvability and variability of quantitative traits. *Genetics* 130: 195-204.
- Husband, B. C. & D. W. Schemske. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution* 50: 54-70.
- Jain, S. K. 1976. Evolution of inbreeding in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 7: 469-495.
- Jaksic, F. M. 2001. Ecological effects of El Niño in terrestrial ecosystems of western South America. *Ecography* 24: 241-250.
- Janzen, D. H. 1986. Chihuahuan desert nopaleras: defaunated big mammal vegetation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 595-636.
- Janzen, F. J. & H. S. Stern 1998. Logistic regression for empirical studies of multivariate selection. *Evolution* 52:1564-1571.
- Jayne, B. C. & A. F. Bennett 1990. Selection on locomotor performance capacity on natural population of garter snakes. *Evolution* 44: 1204-1229.
- Johnston, M. O. 1992. Effects of cross and self-fertilization on progeny fitness in *Lobelia cardinalis* and *L. siphilitica*. *Evolution* 46: 688-702.
- Johnston, M. O. & D. J. Schoen. 1994. On the measurement of inbreeding depression. *Evolution* 48: 1735-1741.
- Juenger, T. & J. Bergelson 2000. The evolution of compensation to herbivory in scarlet gilia, *Ipomopsis aggregata*: herbivore-imposed natural selection and the quantitative genetics of tolerance. *Evolution* 54: 764-777.
- Kalisz, S. 1989. Fitness consequences of mating system, seed weight, and emergence date in a winter annual, *Collinsia verna*. *Evolution* 43: 1263-1272.
- Karban, R. & I. T. Baldwin. 1997. Induced responses to herbivory. University of Chicago Press, Chicago.
- Karban, R. & J. H. Myer. 1989. Induced plant responses to herbivory. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20: 331-348.
- Keller, L. F. & D. M. Waller. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 230-241.
- Keller, L. F., P. Arcese, J. N. M. Smith, W. M. Hochachka & S. C. Stearns. 1994. Selection against inbred song sparrows during a natural population bottleneck. *Nature* 372: 356-357.

- Keller, L. F., P. R. Grant, B. R. Grant & K. Petren. 2002. Environmental conditions affect the magnitude of inbreeding depression in survival of Darwin's finches. *Evolution* 56: 1229-1239.
- Kingsolver, J. G. 1996. Experimental manipulation of wing pigmentation pattern and survival in western white butterflies. *American Naturalist* 147: 296-306.
- Kondrashov, A. S. & D. Houle. 1994. Genotype-environment interactions and the estimation of the genomic mutation-rate in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society of London B* 258: 221-227.
- Kuijt J. 1969. The biology of parasitic flowering plants. University of California Press, Berkeley.
- Kuijt, J. 1988. Revision of *Tristerix* (Loranthaceae). *Systematic Botany Monographs* 19: 1-61
- Kurtz, J. 2003. Sex, parasites and resistance: an evolutionary approach. *Zoology* 106: 327-339
- Lamont, B. 1983. Germination of mistletoes. Calder M. & P. Bernhardt (ed.) *The biology of mistletoes*: 129-143. Academic Press, Sidney.
- Lande, R. & S. J. Arnold. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Laurila, A., S. Karttunen & J. Merila. 2002. Adaptive phenotypic plasticity and genetics of larval life histories in two *rana temporaria* populations. *Evolution* 56: 617-627.
- Levins, R. 1968. *Evolution in changing environments*. Princeton University Press, Princeton.
- Levri, M. A. & L. A. Real. 1998. The role of resources and pathogens in mediating the mating system of *Kalmia latifolia*. *Ecology* 79: 1602-1609.
- Linhart, Y.B. & Grant, M.C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 237-277.
- Littell, R. C. , G. A. Milliken, W. W. Stroup & R. D. Wolfinger. 1996. *SAS System for mixed models*. SAS Institute, Cary, NC.
- Lloyd, D. G. 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. *American Naturalist* 113: 67-79.

- Lloyd, D. G. 1992. Self-fertilization and cross-fertilization in plants .II. The selection of self-fertilization. *International Journal of Plant Sciences* 153: 370-380.
- Lynch, M. & B. Walsh. 1998. Genetic and analysis of quantitative traits. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts
- Martinez del Río, C., A. Silva, R. Medel & M. Hourdequin. 1996. Seeds dispersers as disease vectors: bird transmission of mistletoe seeds to plant hosts. *Ecology* 77: 912-921.
- Martínez del Río, C., M. Hourdequin, A. Silva & R. Medel. 1995. The influence of cactus size and previous infection on bird deposition of mistletoe seeds. *Australian Journal of Ecology* 20: 571-576.
- Mauricio, R. & M. D. Rausher, 1997. Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. *Evolution* 51: 1435-1444
- Mauseth J. D. 1985. Relations between *Trichocereus chilensis* and the holoparasite *Tristerix aphyllus*. *Medio Ambiente* 7: 39-44.
- Mauseth, J. D. 1990. Morphogenesis in a highly reduced plant: the endophyte of *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae). *Botanical Gazette* 151:348-353.
- Mauseth, J. D., G. Montenegro & A. M. Walckowiak. 1984. Studies of the holoparasite *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae) infecting *Trichocereus chilensis* (Cactaceae). *Canadian Journal of Botany*. 62: 847-857.
- Mauseth, J. D., G. Montenegro & A. M. Walckowiak. 1985. Host infection and flower formation by the parasite *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae). *Canadian Journal of Botany*. 63: 567-581.
- Mazer, S. J. & C. T. Schick. 1991. Constancy of population parameters for life history and floral traits in *Raphanus sativus* L. II. Effects of planting density on phenotypes and heritability estimates. *Evolution* 45: 1888-1907.
- Meagher, S., D. J. Penn & W. K. Potts. 2000. Male-male competition magnifies inbreeding depression in wild house mice. *Proceedings of the National Academic of Sciences of the United States of America* 97: 3324-3329.
- Medel, R. 2000. Assessment of parasite-mediated selection in a host-parasite system in plants. *Ecology* 81: 1554-1564
- Medel, R. 2001. Assessment of correlational selection on tolerance and resistance traits in a host plant-parasitic plant interaction. *Evolutionary Ecology* 15: 37-52.

- Medel, R., C. Botto-Mahan, C. Smith-Ramirez, M. A. Mendez, C. G. Ossa, L. Caputo & W. L. Gonzáles. 2002. Historia natural cuantitativa de una relación parásito-hospedero: el sistema *Tristerix*-cactáceas en Chile semiárido *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 127-140.
- Medel, R., E. Vergara, A. Silva & M. Kalin-Arroyo. 2004. Effects of vector behavior and host resistance on mistletoe aggregation. *Ecology* 85: 120-126.
- Merila, J. & B. C. Sheldon. 2000. Lifetime reproductive success and heritability in nature. *American Naturalist* 155: 301-310.
- Messina, F. J. & J. D. Fry. 2003. Environment dependent reversal of a life history trade-off in the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 501-509
- Mitchell-Olds, T. & R. G. Shaw. 1987. Regression analysis of natural selection: statistical and biological interpretation. *Evolution* 41: 1149-1161
- Musselman, L. J. & M. C. Press. 1995. Introduction to parasitic plants. Press M. C. and J. D. Graves (eds) *Parasitic plants: 1-13*. Chapman and Hall, London, UK.
- Mutikainen P, V Salonen, S Puustinen & T. Koskela. 2000. Local adaptation, resistance, and virulence in a hemiparasitic plant-host plant interaction. *Evolution* 54: 433-440.
- Nobel, P. S. 1988. Environmental biology of agaves and cacti. Cambridge University Press, Melbourne.
- Norman, J. K., A. K. Sakai, S. G. Weller & T. E. Dawson, 1995. Inbreeding depression in morphological and physiological traits of *Schiedea lydgatei* (Caryophyllaceae) in two environments. *Evolution* 49: 297-306.
- Norton, D. A. & M. A. Carpenter. 1998. Mistletoes as parasites: host specificity and speciation. *Trends in Ecology and Evolution* 13: 101-105.
- Norton, D. A. & N. Reid. 1997. Lessons in ecosystem management from management of threatened and pest loranthaceous mistletoes in New Zealand and Australia. *Conservation Biology* 11: 759-769.
- Norton, D. A., J. J. Ladley & A. D. Sparrow. 2002. Host provenance effects on germination and establishment of two New Zealand mistletoes (Loranthaceae). *Functional Ecology* 16: 657-663.
- Nuñez-Farfan, J., R. A. Cabrales-Vargas & R. Dirzo. 1996. Mating system consequences on resistance to herbivory and life history traits in *Datura stramonium*. *American Journal of Botany*. 83: 1041-1049.

- O'Brien, S. J. 2000. Adaptive cycles: parasites selectively reduce inbreeding in soay sheep. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 7-9.
- Pederson, D. G. 1968. Environmental stress heterozygote advantage and genotype-environment interaction in *Arabidopsis*. *Heredity* 23: 127-138
- Phillips, P. C. & S. J. Arnold. 1989. Visualizing multivariate selection. *Evolution* 43: 1209-1222.
- Pigliucci, M. & Schlichting, C.D. 1996. Reaction norms of *Arabidopsis*. IV. Relationships between plasticity and fitness. *Heredity* 76: 427-436
- Pigliucci, M. 2001. Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. Johns Hopkins Press, Baltimore, MD.
- Platenkamp, G. A. J. & R. G. Shaw. 1993. Environmental and genetic maternal effects on seed characters in *Nemophila menziesii*. *Evolution* 47: 540-555.
- Press, M. C. & J. D. Graves. 1995. Parasitic plants. Chapman & Hall, London
- Primack, R. B. & H. Kang. 1989. Measuring fitness and natural selection in wild plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20: 367-396.
- Rausher, M. 1992. The measurement of selection on quantitative traits: biases due environmental covariances between traits and fitness. *Evolution* 46: 616-626.
- Relyea, R. A. 2002. Cost of phenotypic plasticity. *American Naturalist* 159: 272-282.
- Reeve, H. K. & P. W. Sherman. 1993. Adaptation and the goals of evolutionary research. *Quarterly Review of Biology* 68: 1-32
- Roach, D. A. & R. D. Wulff. 1987. Maternal effects in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 209-235.
- Rodl, T. & D. Ward. 2002. Host recognition in a desert mistletoe: early stages of development are influenced by substrate and host origin. *Functional Ecology* 16: 128-134.
- Roff, D. A. 1997. Evolutionary quantitative genetics. Chapman & Hall, New York
- Roff, D. A. & T. A. Mousseau. 1987. Quantitative genetics and fitness: lessons from *Drosophila*. *Heredity* 58: 103-118
- Rossiter, M. C. 1996. Incidence and consequences of inherited environmental effects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 451-476.

- Rundel, P. W. 1976. Population variability in the genus *Trichocereus* (Cactaceae) in central Chile. *Plant Systematics and Evolution* 127: 1-9.
- Salathe, P. & D. Ebert. 2003. The effects of parasitism and inbreeding on the competitive ability in *Daphnia magna*: evidence for synergistic epistasis. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 976-985.
- SAS institute. 1997. SAS/STAT software: changes and enhancements through release 6.12. SAS Institute, Cary, NC.
- Scheiner, S. M. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 35-68.
- Scheiner, S. M. & D. Berrigan. 1998. The genetic of phenotypic plasticity. VIII. The cost of plasticity in *Daphnia pulex*. *Evolution* 52: 368-378.
- Schemske, D. W. & R. Lande. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants .II. Empirical observations. *Evolution* 39: 41-52.
- Schlichting, C. D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 667-693.
- Schlichting, C. D. & D. A. Levin. 1986. Effects of inbreeding on phenotypic plasticity in cultivated *Phlox*. *Theor. Appl. Genet.* 72: 114-119.
- Schlichting, C. D. & M. Pigliucci 1998. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Schlichting, C. D. & M. Pigliucci. 1993. Control of phenotypic plasticity via regulatory genes. *American Naturalist* 142: 366-370.
- Schlichting, C. D. & M. Pigliucci. 1995. Gene-regulation, quantitative genetics and the evolution of reaction norms. *Evolutionary Ecology* 9: 154-168.
- Schluter, D. 1988. Estimating the form of natural selection on a quantitative trait. *Evolution* 42: 849-861.
- Schluter, D. & D. Nychka, 1994. Exploring fitness surfaces. *American Naturalist* 143: 597-616.
- Schmitt, J. & R. D. Wulff. 1993. Light spectra quality, phytochrome and plant competitions. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 47-51
- Schmitt, J., A. C. McCormac & H. Smith. 1995. A test of the adaptive plasticity hypothesis using transgenic and mutant plants disabled in phytochrome-mediated elongation responses to neighbors. *American Naturalist* 146:937-953.

- Schmitt, J. & J. Antonovics. 1986. Experimental studies of the evolutionary significance of sexual reproduction 3. Maternal and paternal effects during seedling establishment. *Evolution* 40: 817-829.
- Schmitt, J., J. Eccleston & D. W. Ehrhardt. 1987. Dominance and suppression, size dependent growth and self-thinning in a natural *Impatiens capensis* population. *Journal of Ecology* 75: 651-655
- Schmitt, J., S. A. Dudley & M. Pigliucci. 1999. Manipulative approaches to testing adaptive plasticity: phytochrome-mediated shade-avoidance responses in plants. *American Naturalist* 154: S43-S54.
- Silva, A. & C. Martinez del Río. 1996. Effects of the mistletoe *Tristerix aphyllus* (Loranthaceae) on the reproduction of its cactus host *Echinopsis chilensis*. *Oikos* 75: 437-442.
- Sinervo, B. & R. B. Huey 1990. Allometric engineering: an experimental test of the causes of interpopulational differences in performance. *Science* 248: 1106-1109
- Sinervo, B. 1998. Adaptation of maternal effects in the wild: path analysis of natural variation and experimental tests of causation. En: T. Mousseau and C. Fox (eds) *Maternal Effect as Adaptations*. Oxford University Press, Oxford.
- Sinervo, B. & A. L. Basolo. 1996. Testing adaptation using phenotypic manipulations. En: *Adaptation* M. R. Rose and G. V. Lauder (eds). Academic Press, London
- Sinervo, B., P. Doughty, R. B. Huey & K. Zamudio 1992. Allometric engineering: A causal analysis of natural selection on offspring size. *Science* 258: 1927-1930
- Smith – Ramírez, C. 1999. Selección fenotípica secuencial sobre rasgos reproductivos del muérdago *Tristerix aphyllus*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- Smith-Gill, S. J. 1983. Developmental plasticity: developmental conversion versus phenotypic modulation. *American Zoologist* 23: 47-55.
- Sokal, R. R. & F. J. Rohlf. 1995. *Biometry* 3rd-edition. W. H. Freedman and Company, New York
- Soto-Gamboa, M. & F. Bozinovic. 2002. Fruit-disperser interaction in a mistletoe-bird system: a comparison of two mechanisms of fruit processing on seed germination. *Plant Ecology* 159: 171-174.
- Spitze, K. 1992. Predator-mediated plasticity of prey life-history and morphology: *Chaoborus americanus* predation on *Daphnia pulex*. *American Naturalist* 139: 229-247.

- Stanton, M. L. 1984. Seed variation in wild radish: effect of seed size on components of seedling and adult fitness. *Ecology* 65: 1105-1112.
- Stanton, M. L. 1985. Seed size and emergence time within a stand of wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.). The establishment of a fitness hierarchy. *Oecologia* 67: 524-531
- Stevens, L., G. Y. Yan & L. A. Pray. 1997. Consequences of inbreeding on invertebrate host susceptibility to parasitic infection. *Evolution* 51: 2032-2039.
- Stratton, D. A. 1992. Life-cycle components of selection in *Erigeron annuus*. II. Genetic variation. *Evolution* 46: 107-120.
- Stratton, D. A. 1994. Genotype by environmental interactions for fitness of *Erigeron annuus* show fine scale selective heterogeneity. *Evolution* 48: 1607-1618.
- Sultan, S. E. 1987. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology* 21: 127-178.
- Sultan, S. E. 1992. Phenotypic plasticity and the neo-Darwinian legacy. *Evolutionary Trends in Plants* 6: 61-71.
- Sultan, S. E. 1995. Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Botanica Neerlandica* 44: 363-383.
- Sultan, S. E. 2001. Phenotypic plasticity for fitness components in *Poligonum* species of contrasting ecological breadth. *Ecology* 82: 328-343
- Sultan, S. E. & F. A. Bazzaz 1993. Phenotypic plasticity in *Poligonum persicaria*. I. Diversity and uniformity in phenotypic norm of reaction to light. *Evolution* 47: 1009-1031
- Thompson, J. D. 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends in Ecology and Evolution* 6: 246-249.
- Thompson, J. N. 1994. *The coevolutionary process*. University of Chicago Press, Chicago.
- Tollrian, R. & C. D. Harvell. 1999. *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Traw, M. B. 2002. Is induction response negatively correlated with constitutive resistance in black mustard? *Evolution* 56: 2196-2205.
- Van Buskirk, J., S. A. Mccollum & E. E. Werner. 1997. Natural selection for environmentally induced phenotypes in tadpoles. *Evolution* 51: 1983-1992.

- Van Dam, N. M. & I.T. Baldwin 2001. Competition mediates costs of jasmonate-induced defences, nitrogen acquisition and transgenerational plasticity in *Nicotiana attenuata*. *Functional Ecology*. 2001. 15: 406-415.
- Van Tienderen, P. H. & H.P. Koelewijn, 1994. Selection on reaction norms, genetic correlations and constraints. *Gen. Res.* 64:115-125.
- Via, S. & R. Lande. 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-522.
- Via, S., R. Gomulkiewicz, G. de Jong, S. M. Scheiner, C. D. Schlichting & P. H. Van Tienderen. 1995. Adaptive phenotypic plasticity - consensus and controversy. *Trends in Ecology and Evolution* 10:212-217.
- Voelckel, C., U. Schittko & I. T. Baldwin 2001. Herbivore-induced ethylene burst reduces fitness costs of jasmonate- and oral secretion-induced defenses in *Nicotiana attenuata*. *Oecologia* 127:274-280.
- Wade, M. J. & S. Kalisz. 1990. The causes of natural selection. *Evolution* 44: 1947-1955.
- Weis, A. E. & W. Gorman. 1990. Measuring selection on reaction norms: an exploration of the *Eurosta - Solidago* system. *Evolution* 44: 820-831.
- Wiehn, J., K. Kopp, S. Rezzonico, S. Karttunen & J. Jokela. 2002. Family-level covariation between parasite resistance and mating system in a hermaphroditic freshwater snail. *Evolution* 56:1454-1461
- Winn, A. A. 1985. Effects of seed size and microsite on seedling emergence of *Prunella vulgaris* in 4 habitats. *J. Ecol.* 73: 831-840.
- Winn, A. A. 1988. Ecological and evolutionary consequences of seed size in *Prunella vulgaris*. *Ecology* 69: 1537-1544.
- Wolfe, L. M. 1993. Inbreeding depression in *Hydrophyllum appendiculatum* role of maternal effects, crowding, and parental mating history. *Evolution* 47: 374-386.
- Wulff, F. D. 1986. Seed size variation in *Desmodium paniculatum*. II. Effects on seedling growth and physiological performance. *Journal of Ecology* 74: 94-114.
- Zanger, A. R. & M. R. Berenbaum. 1990. Furanocoumarin induction in wild parsnip: genetics and population variation. *Ecology* 71: 1933-1940.

ANEXOS

Tabla 1. Resultados del ANOVA para el peso de fruto, peso de semilla y longitud de radícula de las especies chilenas de *Tristerix* colectadas en La Reserva Nacional Las Chinchillas (IV Región, Chile), durante el año 2003.

	Peso de fruto (g)	Peso de semilla (g)	Longitud de radícula (mm)
<i>T. aphyllus</i>	0,51 ± 0,016 a	0,130 ± 0.002 a	44,87 ± 1.75 a
<i>T. corymbosus</i>	0.23 ± 0.005 b	0.089 ± 0.002 b	16.08 ± 1.16 b
<i>T. verticillatus</i>	0.36 ± 0.012 c	0.176 ± 0.003 c	18.70 ± 0.90 b

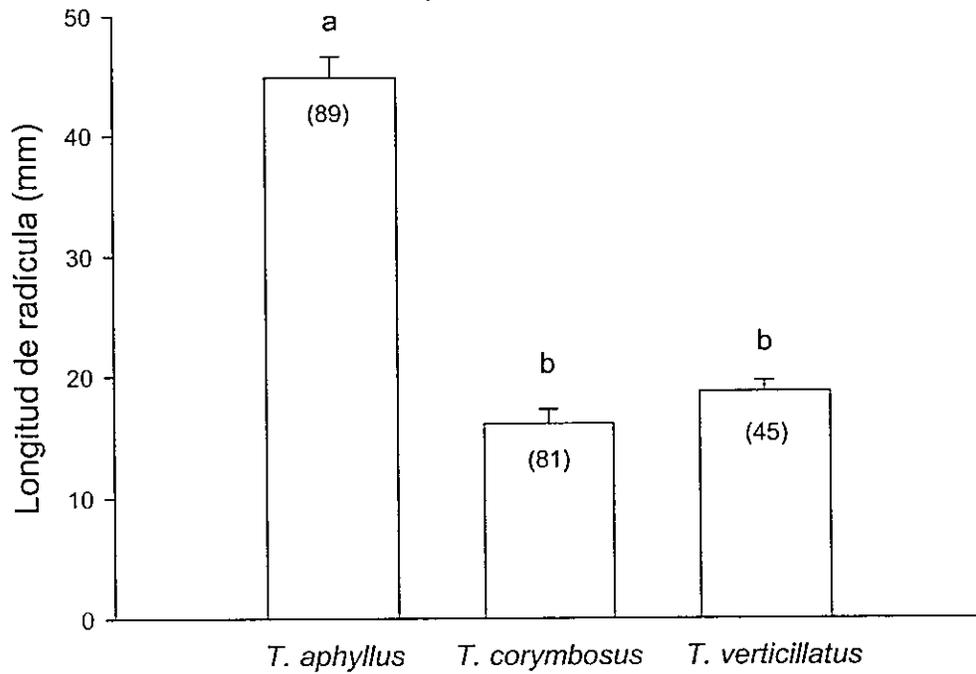
Promedio dentro de las columnas seguido por una letra diferente son significativamente diferentes (A posteriori prueba de Tukey, $P < 0.01$). Se muestra Promedio ± SE

Tabla 2. Resultados del ANOVA para el peso de fruto, peso de semilla y longitud de radícula de *Tristerix aphyllus* colectado de diferentes localidades.

	Peso de fruto (g)	Peso de semilla (g)	Longitud de radícula (mm)
Los Vilos	0,40 ± 0,005 a	0,14 ± 0.002 a	15,17 ± 0.72 a
Caleu	0,41 ± 0,007 a	0,13 ± 0.002 b	16,20 ± 0.52 a
Río Clarillo	0,38 ± 0,018 a	0,10 ± 0.004 c	11,08 ± 0.56 b
Las Chinchillas	0,51 ± 0,016 b	0,13 ± 0.002 b	44,87 ± 1.75 c

Promedio dentro de las columnas seguido por una letra diferente son significativamente diferentes (A posteriori prueba de Tukey, $P < 0.01$). Se muestra Promedio ± SE

Figura 1. Comparación de las longitudes de las radículas de las especies chilenas de *Tristerix*. (muestra colectada en la Reserva nacional Las Chinchillas, año 2002)



Barras con diferentes letras son significativamente diferentes ($P < 0,01$; Prueba A posteriori Tukey HSD)

Figura 2. Distribución de las semillas de *Tristerix aphyllus* depositadas por el ave *Mimus thenca* en el cacto hospedero *Echinopsis chilensis* en el área de estudio. La distancia corresponde entre la semilla y la superficie del hospedero. La semilla fueron mayoritariamente depositadas en las espinas del cacto.

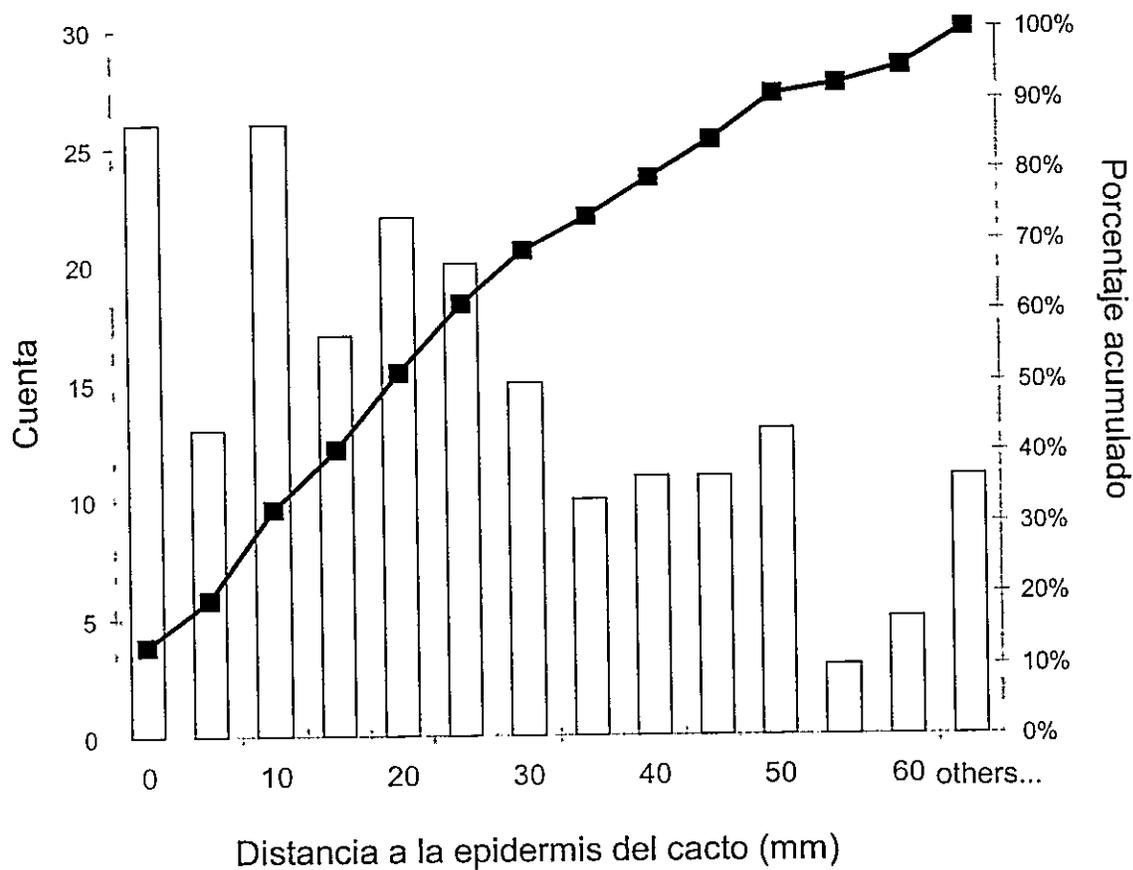


Figura 3. Seguimiento de la elongación de las radículas de *T. aphyllus* agrupadas por origen. Cada 5 días se midió la longitud de la radícula, el crecimiento se produjo durante los primeros 20 días, posteriormente las radículas no continuaron elongando.

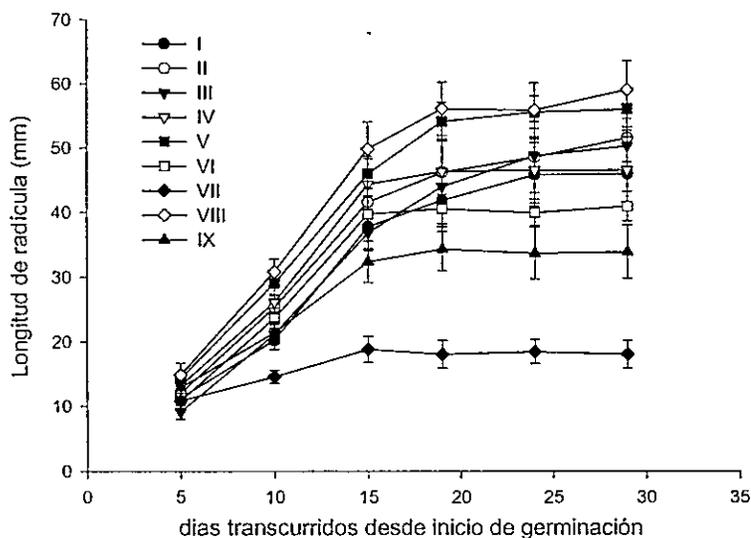
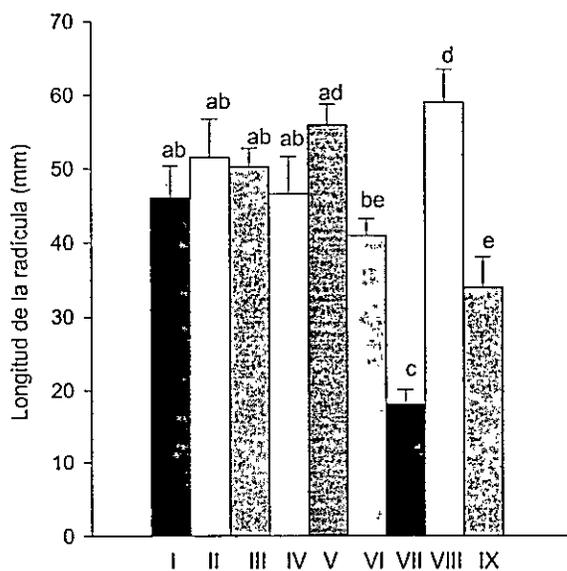


Figura 4. Transcurrido 30 días, se encontró diferencias significativas en la longitudes máximas alcanzadas por las radículas de *T. aphyllus* según el origen de la semilla. Este resultado no nos permite conocer si dichas diferencias son debidas a causas genéticas o ambientales



(Anova $F_{8,80} = 10,60$, $P < 0,0001$). Diferente letra representa diferencias significativas entre los grupos (Tukey-test a posteriori).

Tabla 3. Estadígrafos de tendencia central y dispersión de los caracteres de las inflorescencias de *Tristerix aphyllus*.

	Angulo de exposición	Area (cm ²)	Altura (cm)	Número de flores
Media	147.3	1515.02	128.24	867
Error típico	6.7	126.36	4.13	67.3
Coefficiente de variación	45	83	32	77
Mínimo	0.0	150	20	139
Máximo	355.0	10400	230	2998
(N = 100 inflorescencias)				

Tabla 4. Estadígrafos de tendencia central y dispersión de la apertura floral y la conversión de flores a frutos por individuo de *Tristerix aphyllus*.

	Flores abiertas	tasa diaria de apertura	frutos totales	Porcentaje de conversión
Media	200.72	5.66	144.52	54.97
Error típico	10.51	0.40	8.12	1.76
Coefficiente de variación	42	57	42	24
Mínimo	74	1.80	59	81.61
Máximo	480	16.84	328	27.33
Tamaño de la muestra	65	65	55	55

Tabla 5. Estadígrafos de tendencia central y dispersión de los caracteres florales de *Tristerix aphyllus*.

	OVARIO		NECTARIO		ANTERA		PISTILO Longitud (mm)	Longitud floral (mm)	P - A (mm)
	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Altura (mm)	Tamaño (mm)			
Media	4.28	2.27	3.85	3.43	41.38	4.61	43.86	48.15	2.48
Error típico	0.01	0.01	0.02	0.01	0.14	0.02	0.15	0.16	0.03
Coefficiente de Variación	14	13	23	16	11	17	11	10	41
Mínimo	2.72	1.51	1.76	1.83	28.57	2.61	29.19	33.14	-1.39
Máximo (N = 989)	6.70	4.35	7.94	5.74	59.03	8.54	61.81	67.55	8.04

P - A = longitud del pistilo - altura de la antera

Tabla 6. Matriz de correlación de Pearson de los caracteres florales promedio por individuo de *Tristerix aphyllus* (N = 58)

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Longitud del ovario (1)		0.21	0.54	0.11	0.53	0.40	0.54	0.19	0.62
Ancho del ovario (2)			0.25	0.70	0.46	0.43	0.45	0.02	0.44
Longitud del nectario (3)				0.40	0.61	0.37	0.64	0.28	0.66
Ancho del nectario (4)					0.39	0.38	0.39	0.09	0.38
Altura de la antera (5)						0.49	0.99	0.14	0.98
Tamaño de la antera (6)							0.47	-0.02	0.49
Longitud del pistilo (7)								0.29	1.00
P - A (8)									0.30
Longitud de la flor (9)									

P - A = longitud del pistilo - altura de la antera

Los coeficientes de correlación en negrita tienen $P < 0.001$

Tabla 7. Estadígrafos de tendencia central y dispersión de los caracteres de frutos de *Tristerix aphyllus*

	fruto			semilla Peso (g)	Porcentaje de germinación
	Peso (g)	Longitud (mm)	Ancho (mm)		
Media	0.637	10.130	9.964	0.175	92.18
Error típico	0.003	0.018	0.019	0.001	1.11
Coefficiente de variación	24	9	10	24	9
Mínimo	0.23	7.4	6.44	0.05	67.57
Máximo	1.21	13.18	12.76	0.34	100.00
N	2426	2428	2428	2531	57

Figura 5. Relación entre el peso de semilla de *Tristerix aphyllus* y los componentes principales obtenidos a partir de los caracteres florales maternos

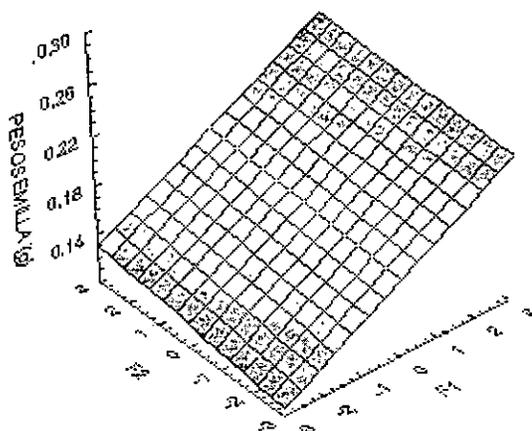


Tabla 8a. Análisis de regresión múltiple para establecer la relación entre el peso de la semilla y los componentes principales obtenidos de los caracteres florales de *T. aphyllus*

	B ± S.E	p
F1	0.5376 ± 0.1125	> 0.0001
F2	0.1191 ± 0.1125	0.2943

R²= .30331527, F(2,55)=11.973, p<.00005

Tabla 8b. Contribución de los caracteres florales sobre los componentes principales.

Caracteres florales	F1	F2
Tamaño de la flor	0.874	-0.094
Tamaño del ovario	0.854	-0.118
Tamaño del nectario	0.827	0.047
Tamaño de antera	0.695	-0.439
P - A	0.315	0.903
Expl.Var	2.763	1.035
Prp.Totl	0.552	0.207

P - A = longitud del pistilo - altura de la antera

Notese que los caracteres asociados al tamaño de los caracteres florales son solo importantes en el componente 1.

Figura 6. Monitoreo de la maduración de frutos obtenidos por tratamientos de polinización manualmente (auto y cruzada) en *Tristerix aphyllus* durante el año 2002.

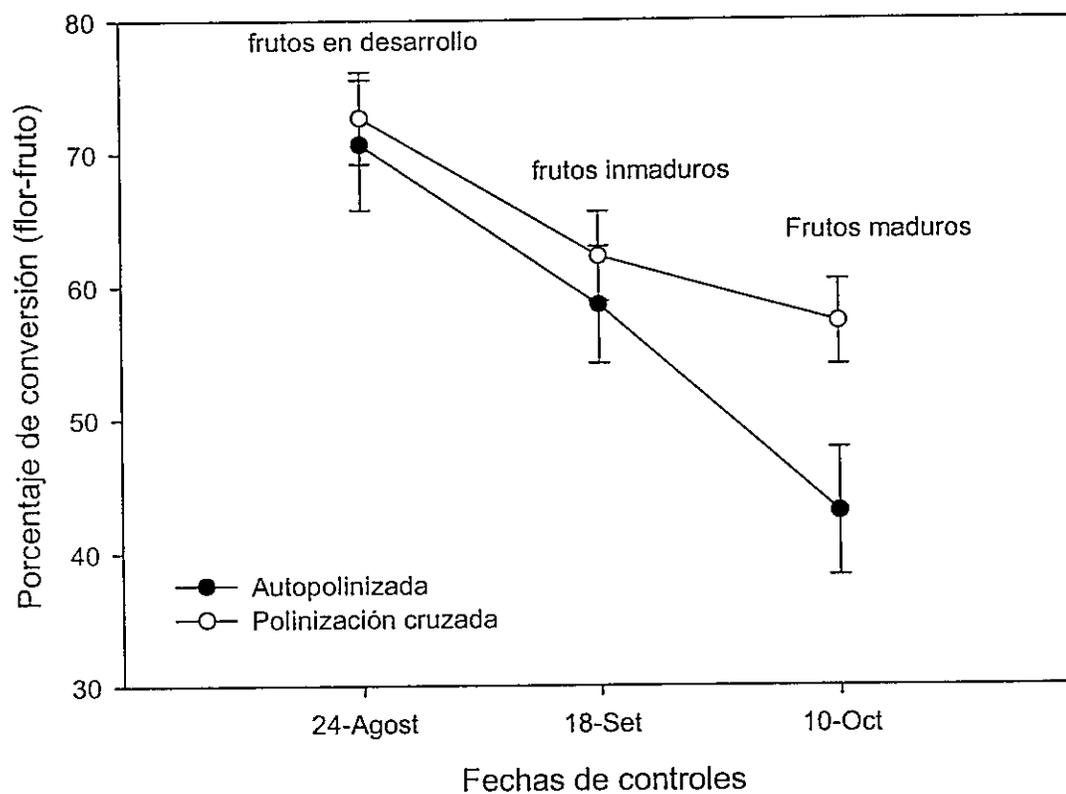


Tabla 9. Comparación de la conversión de flor a fruto, germinación, peso de fruto y peso de semilla entre diferentes tratamientos de polinización de *Tristerix aphyllus* realizadas en la Reserva Nacional Las Chinchillas durante el año 2003. Tamaño de la muestra entre paréntesis

	Conversión flor a fruto	Germinación	Peso semilla (g)
Natural	31.6 ± 1.9 a (31)	97.5 ± 0.009 a (314)	0.139 ± 0.002 a (314)
Cruzada manual	44.1 ± 3.7 c (31)	99.1 ± 0.003 a (671)	0.168 ± 0.001 b (671)
Auto manual	31.4 ± 3.0 a (31)	93.3 ± 0.011 b (491)	0.170 ± 0.002 b (491)
Automática	17.2 ± 2.0 b (31)	83.7 ± 0.028 c (166)	0.143 ± 0.004 a (171)

Promedio dentro de las columnas seguido por una letra diferente son significativamente diferentes (A posteriori prueba de Tukey, $P < 0.05$). Se muestra Promedio ± SE

Tabla 10. Destino de las semillas en terreno. Se registró del total de semillas llevadas a terreno, las semillas caídas, dañadas por insectos, y el número de implantadas por tratamientos (T1 = 4 mm y T2 = 28 mm) durante el año 2002.

		T 1	T 2	χ^2	P
Evaluadas en experimento	962	527	435	39.6	< 0.0001
Porcentaje de implantadas		48.3	9.6	167.5	< 0.0001
Caídas en terreno	113	48	65	2.8	0.095
Dañadas por insectos	168	46	122	42.9	< 0.0001
Total	1243	621	622		