Universidad de los Andes

Facultad de Ciencias

Departamento de Biología

Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas

Hemiparasitismo y Aspectos Ecofisiológicos de *Castilleja fissifolia* L.f. (Lamiales, Orobanchaceae) en el Páramo de Piedras Blancas.

Autor: Ricardo Carrasco

Tutor: Dr. Fermín Rada

Co-tutora: M.Sc. Lirey Ramírez

Co-tutora Académica: M.Sc. Carmen Julia Azócar

Trabajo Especial de Grado

Diciembre 2021

RESUMEN

Castilleja fissifolia L.f. (Lamiales, Orobanchaceae) es un sufrútice perenne, que se encuentra asociado espacialmente a un gran número de especies vegetales en el páramo de Piedras Blancas.

En este estudio demostramos que *C. fissifolia* L.f. actúa como un hemiparásito no especialista de al menos otras 44 especies de plantas y exponemos nuestras observaciones sobre la facultatividad de estas relaciones parasíticas en el área de estudio.

Finalmente, analizamos algunas respuestas funcionales de individuos de *C. fissifolia* durante la temporada húmeda de 2017.

Encontramos que *C. fissifolia* fija carbono por la vía autotrófica a tasas de asimilación de carbono que caen dentro del rango bajo reportado para plantas C_3 (6.18±1.43 μmol CO_2 $m^{-2}.s^{-1}$), aunadas a valores de ψ bastante negativos (-2.01 ±0.18 MPa) y conductancias estomáticas relativamente altas (190±60 mmol $m^{-2}.s^{-1}$) en un rango amplio de Densidades de flujo fotonico fotosintetico, (DFFF), en relación con otras plantas de páramo.

Estos resultados sugieren que además de la vía fotosintética, *C. fissifolia* suple parte de sus requerimientos de carbono por la vía heterótrofa, y mantiene un estado hídrico que permite mantener un flujo neto de agua y solutos hacia el parásito.

ÍNDICE

RESUMEN **2**

ÍNDICE **3**

ÍNDICE DE FIGURAS **6**

ÍNDICE DE TABLAS **8**

CAPÍTULO 1: Introducción y Marco Teórico **9**

1.1. El síndrome parasítico en plantas superiores **10**

1.1.1. El Haustorio **12**

1.2. *Castilleja fissifoli*a L.f. (Lamiales, Orobanchaceae) **14**

1.2.1. La estructura de la interfaz *Castilleja*-hospedador **15**

1.2.2. El rango de hospedadores de *Castilleja* **17**

1.3. Antecedentes de investigación: *Castilleja fissifolia* como elemento de la vegetación en los Andes Venezolanos **18**

1.3.1. Plant functional traits along an old-field succession in the high tropical andes (Rada et. al 2021). **18**

1.3.2. Linking patterns and processes through ecosystem engineering: effects of shrubs on microhabitat and water status of associated plants in the high tropical Andes (Ramírez et al. 2015). **19**

1.3.3. Relaciones espaciales y mecanismos de interacción entre un arbusto dominante (*Hypericum laricifolium*) y otras especies de plantas en el páramo altiandino (Cáceres et al. 2015). **20**

1.3.4. Efecto de una roseta gigante (*Coespeletia timotensis* Cuatr.) sobre las condiciones microambientales y la estructura de la comunidad en el Páramo Altiandino (Mora et al. 2016). **21**

1.4. Los páramos andino y altiandino sensu Monasterio (1980) **21**

1.4.1 El Páramo de Piedras Blancas Como área de estudio y ambiente extremo **23**

1.5. Objetivos e Hipótesis **26**

1.5.1. Hipótesis **26**

1.5.2 Objetivos **26**

CAPÍTULO 2. Relaciones *Castilleja fissifolia*-hospedador en el Páramo de Piedras Blancas **27**

2.1. Métodos **28**

2.1.1. Sitio de Estudio **28**

2.1.2. Determinación de la existencia de relaciones parasíticas *Castilleja fissifolia*-hospedador en el Páramo de Piedras Blancas **30**

2.1.3. Análisis de datos **31**

2.2. Resultados **31**

2.2.1. Rango de hospedadores observados de *C. fissifolia* **32**

2.2.2. Diagramas de Rango-Abundancia **33**

2.2.3. Análisis Multivariado de Ordenación **37**

2.3. Discusión **39**

2.3.1. El Rango de hospedadores de *Castilleja fissifolia* en el Páramo de Piedras Blancas **39**

2.3.2. Consideraciones sobre las porciones observables del haustorio de *Castilleja fissifolia* **40**

2.3.3. Interacciones *Castilleja fissifolia*-hospedador notables **42**

2.3.4. Facultatividad de las relaciones parasíticas *Castilleja fissifolia*-hospedador en el Páramo de Piedras Blancas **44**

CAPÍTULO 3: Aspectos Ecofisiológicos de las Relaciones *Castilleja*-hospedador en el Páramo de Piedras Blancas **47**

3.1 Ecofisiología de Plantas Parásitas **48**

3.1.1 Relaciones Hídricas y Conductancias Estomáticas **48**

3.1.2 Capacidad Fotosintética y Transferencia de Carbono desde el Hospedador hacia el Parásito. **50**

3.2. Métodos **52**

3.2.1. Intercambio de Gases **52**

3.2.2. Relaciones Hídricas **53**

3.2.3. Análisis de Datos **53**

3.3. Resultados **53**

3.3.1. Intercambio de Gases **54**

3.3.2. Relaciones Hídricas **56**

3.4. Discusión **57**

3.4.1. Tasas de Asimilación de Carbono (A) y Obtención de Carbono por la Vía Heterotrófica **57**

3.4.2. Conductancia Estomática (G_s) **58**

3.4.3. Potenciales Hídricos Foliares (ψ) Medidos en Campo **59**

3.4.4. 3.5. Consideraciones Sobre la Ecofisiología de *Castilleja fissifolia* y sus Implicaciones Sobre el Modo de Vida Parasítico **59**

CONCLUSIÓN **61**

REFERENCIAS **62**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclos de vida de Orobanchaceae holoparásitas obligadas y hemiparásitas facultativas. Adaptado de Parasitic Orobanchaceae: Parasitic mechanisms and control strategies (Joel et al. 2013) **13**

Figura 2. Diagrama de rango-abundancia de génets pertenecientes a especies identificadas como hospedadores de *C. fissifolia* a 4300 msnm en el páramo de Piedras Blancas. Las especies están ordenadas de acuerdo a las abundancias promedio de génets identificados como hospedadores compatibles de *C. fissifolia.* **35**

Figura 3. Diagrama de ordenamiento multidimensional no métrico (MDS) de las 30 unidades de muestreo, basado en las matrices de densidad de rámets pertenecientes a especies hospedadoras de *C. fissifolia* estudiadas a 4300 msnm en el páramo de Piedras Blancas (n=1784). **38**

Figura 4. Haustorios de *C. fissifolia* anclados a raíces de *Hinterhubera ericoides* (Asterales, Asteraceae). Foto de diciembre 2017 **42**

Figura 5. Haustorios de *C. fissifolia* anclados a raíces de *Aa paleaceae* (Asparagales, Orchidaceae). Foto de diciembre 2017 **44**

Figura 6. Plántulas de *C. fissifolia* ancladas a raíces de *Aciachne sp.* (Poales, Poaceae). Foto de diciembre 2017. **47**

Figura 7. Diagrama de dispersión de Tasas de asimilación de carbono (A) de plantas de *C. fissifolia* vs. Densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) (n=69; r^2=0.5540). Datos

recolectados entre noviembre y diciembre 2017. La curva de respuesta a la luz presentada se encuentra ajustada a una función hiperbólica rectangular (Landsberg 1977). **55**

Figura 8. Diagrama de dispersión de Tasas de asimilación de carbono (A) vs. Conductancias estomáticas (G_s) de plantas de *C. fissifolia* (n=69; r^2=0.0737). Datos recolectados entre noviembre y diciembre 2017. **56**

Figura 9. Diagrama de dispersión de Conductancias Estomáticas (G_s) de plantas de *C. fissifolia* vs. Densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) (n=69; r^2=0.0345). Datos recolectados entre noviembre y diciembre 2017. **57**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Abundancias relativas de génets pertenecientes a especies parasitadas por *Castilleja fissifolia* L.f., y sus respectivas familias en el páramo de Piedras Blancas. **32**

Tabla 2. Valores mínimos, máximos y promedios (sobre 1000 μmol $m^{-2}.s^{-1}$ DFFF donde aplique) de tasas de asimilación de carbono (A), y conductancias estomáticas (G_s), potenciales hídricos foliares (ψ) medidas en *C. fissifolia* y densidades de flujo de fotones fotosintéticamente activos (DFFF). Datos recolectados entre noviembre y diciembre 2017. **57**

CAPÍTULO 1: Introducción y Marco Teórico

En este capítulo presentamos las bases teóricas de nuestra investigación, comenzando con una síntesis del síndrome parasítico en plantas angiospermas, haciendo especial énfasis en el haustorio como elemento central de las interacciones parásito-hospedador.

Describiremos varios aspectos generales de la biología de *C. fissifolia* y presentaremos los antecedentes de investigación sobre la biología de *Castilleja* y las interacciones *Castilleja*-planta hospedadora en los Andes venezolanos. Luego discutiremos las características edáficas y climáticas de los páramos Andino y Altiandino en Venezuela, enfocadas en el páramo de Piedras Blancas como ambiente extremo.

Finalmente, exponemos los objetivos e hipótesis sobre los que basamos este trabajo de investigación.

1.1. El síndrome parasítico en plantas superiores

Síndrome

Del gr. συνδρομή syndromḗ 'concurso': Conjunto de síntomas característicos de una condición o estado determinado.

La competencia por el agua y los nutrientes es una de las principales fuerzas modeladoras de la evolución de las plantas terrestres, por tanto, cualquier planta que se especializa en 'robar', o de cualquier otra manera explotar los recursos obtenidos por otras plantas, obtiene una clara ventaja competitiva en estos dos frentes (Joel et al. 2013). Las plantas parásitas son un claro ejemplo del éxito de esta estrategia basada en el robo de recursos, la cual les ha permitido establecerse en todos los ecosistemas del planeta, desde la tundra subantártica, arbustales y sabanas, hasta en desiertos y bosques templados y tropicales (Press y Phoenix 2005).

Actualmente, se reconoce la presencia del síndrome parasítico en alrededor de 4500 especies de plantas repartidas en 275 géneros pertenecientes a 28 familias, lo que representa aproximadamente el 1% de las plantas con semillas conocidas (Thorne 2002). El número de familias en las que se reconoce la presencia del síndrome parasítico ha ido en aumento recientemente, en parte gracias a que las familias Olacaceae y Santalaceae fueron subdivididas luego de la realización de estudios moleculares (Malécot y Nickrent 2008; Nickrent et al., 2010).

Aunque estudios moleculares han revelado que el síndrome parasítico ha evolucionado al menos once veces en plantas angiospermas (Barkman et al. 2007), solo en la familia Orobanchaceae se encuentran todos los tipos nutricionales conocidos en plantas parásitas:

Las **hemiparásitas**, que son plantas que retienen cierto grado de capacidad fotosintética, aunque no necesariamente son autosuficientes en cuanto a la obtención de carbono, y las **holoparásitas**, que han perdido completamente la capacidad de soportarse mediante fotosíntesis (de Pamphilis y Palmer, 1990; Hibberd et al. 1998), y, por tanto, son completamente dependientes de sus hospedadores.

Esta familia incluye a *Lindenbergia,* un género hermano de todas las Orobanchaceae parásitas que no posee especies parasíticas (Young et al. 1999; Olmstead et al. 2001; Bennett et al. 2006) y al género *Striga*, que es de altísima importancia económica en el África subsahariana, donde afecta más de 50 millones de hectáreas de cultivos de maíz, arroz, sorgo y caña de azúcar, causando alrededor de 3 mil millones de dólares anuales en daños (Parker 2009). Existen además numerosas especies raras consideradas en peligro de extinción, mientras que otras especies son capaces de ejercer efectos positivos sobre la diversidad biológica en sus ecosistemas (Norton y Carpenter 1998; Press y Phoenix 2005).

En el resto del reino vegetal, las familias que incluyen plantas parásitas están compuestas únicamente de especies parasíticas, excepto por Lauraceae y Convolvulaceae, en las que solamente *Cassytha* y *Cuscuta*, respectivamente, actúan como holoparásitos.

Tanto plantas hemiparásitas como holoparásitas son capaces de conectarse al sistema vascular de sus hospedadores a través del tallo o de las raíces. Existe consenso en que los

parásitos que se conectan al tallo evolucionaron a partir de ancestros parásitos radiculares, y en la familia Orobanchaceae, se ha observado que algunas especies pueden penetrar tanto raíces como rizomas (Weber 1976; 1993). Algunos autores distinguen además entre plantas parásitas facultativas y obligadas y entre parásitas invasoras de xilema o floema (Raven 1983; Irving y Cameron 2009). Alrededor del 90% de las plantas parásitas son hemiparásitos, y los parásitos radiculares representan el 60% de todas las plantas parásitas.

Naturalmente, sólo las plantas hemiparásitas pueden funcionar como parásitos facultativos. Sin embargo, las plantas holoparásitas suelen existir como autótrofos por un período más o menos corto después de la germinación, durante el cual subsisten únicamente usando los nutrientes almacenados en la semilla y/o realizando fotosíntesis usando los cotiledones. Se ha encontrado además que algunos individuos suficientemente robustos de parásitos como *Nuytsia floribunda* (Santalales, Loranthaceae) tienen la capacidad de soportar períodos prolongados sin asociación parasítica, viviendo solamente de los nutrientes almacenados en sus tejidos (Finneran y Hocking 1983).

1.1.1. El Haustorio

La capacidad de desarrollar haustorios (del latín *haurire*: beber u obtener de), es lo que distingue a las plantas parásitas de las no parásitas. En las palabras de Kuijt (1969):

"El haustorio representa la esencia misma del parasitismo"

El término haustorio fue acuñado por A.P. de Candolle (1813), para describir el órgano que establecía la conexión entre *Cuscuta* y sus hospedadores. El haustorio es un órgano

homólogo de las raíces -encontrado exclusivamente en plantas parásitas- que provee una vía de conexión fisiológica entre parásito y hospedador.

El modo de desarrollo de esta estructura establece diferencias clave entre los ciclos de vida de las plantas hemiparásitas y holoparásitas. En Orobanchaceae holoparásitas, las plántulas se desarrollan independientemente por un período muy corto, durante el cual desarrollan un haustorio terminal a partir del meristema apical radicular y se vuelven receptivas a señales químicas emitidas por sus hospedadores compatibles. Si algún hospedador es detectado, la plántula crece hasta anclarse a la raíz de su hospedador (Figura 1).

Finalmente, el haustorio penetra e invade los tejidos de su hospedador durante su desarrollo, conectándose con los elementos conductivos primarios de las raíces invadidas. Una vez que se han establecido conexiones efectivas con uno o varios hospedadores compatibles, el parásito coordina la comunicación entre ambos mediante el uso de señales químicas que obligan al hospedador a reconocer al parásito como un sumidero efectivo para los metabolitos que produce.

En cambio, las hemiparásitas de la familia Orobanchaceae solo son capaces de desarrollar haustorios laterales a partir de sus raíces secundarias una vez que se han establecido autotróficamente. Los haustorios laterales de las hemiparásitas son de menor longitud que los haustorios terminales presentes en holoparásitas, y a menudo pueden encontrarse haustorios que varían en su grado de madurez en una misma planta (Heide-Jørgensen y Kuijt 1995; Neumann et al. 1999; Rumer et al. 2007).

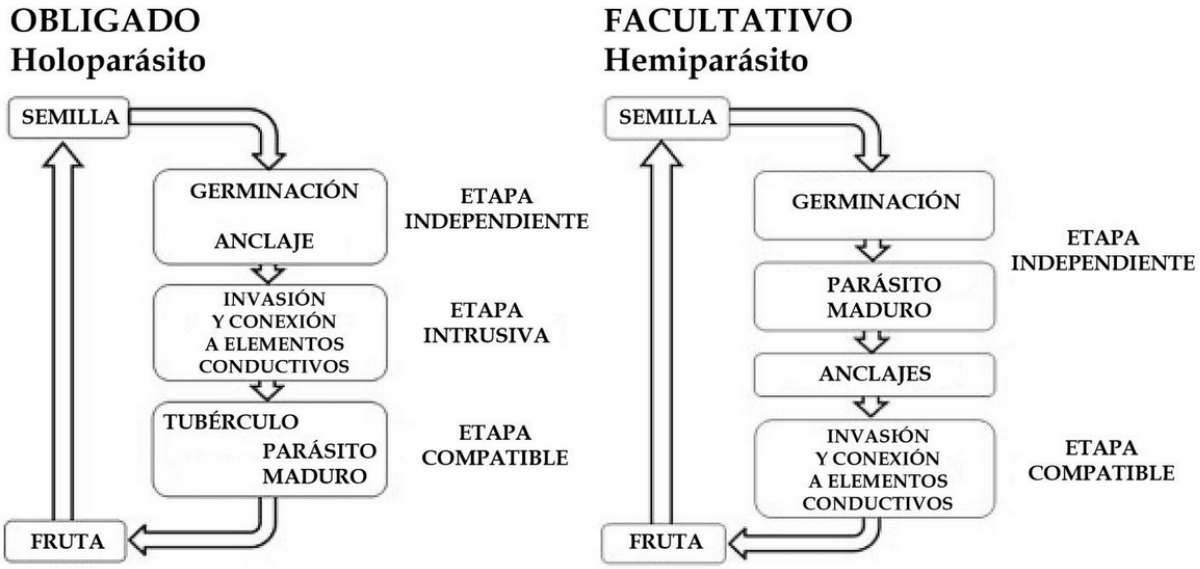

Figura 1. Ciclos de vida de Orobanchaceae holoparásitas obligadas y hemiparásitas facultativas. Adaptado de Parasitic Orobanchaceae: Parasitic mechanisms and control strategies (Joel et al. 2013).

Durante muchos años se asumió que el xilema constituía la principal ruta para el transporte de agua y nutrientes desde el hospedador hacia el parásito. Sin embargo, estudios realizados por Coetzee y Finneran (1987), demostraron la existencia de un continuo apoplástico en las interfaces de varios pares parásito-hospedador. En *Tryphisaria pusilla* (Lamiales, Orobanchaceae), una planta filogenéticamente cercana a *Castilleja*, muchos haustorios carecen completamente de puente xilemático o poseen elementos de xilema incompletos, pero todos poseen un órgano intrusivo bien establecido con un área considerable para la translocación apoplástica de nutrientes (Heide-Jørgensen y Kuijt 1995).

Los haustorios más avanzados desde los puntos de vista anatómico y fisiológico son los que contienen floema con elementos de tubo criboso muy cercanos a, o en conexión con, los elementos del floema del hospedador. Esto ha sido observado en algunas especies de *Cuscuta* (Convolvulaceae), *Castilleja* y otras Orobanchaceae (Kuijt y Dobbins 1971).

1.2. *Castilleja fissifolia* L.f. (Lamiales, Orobanchaceae)

Castilleja Mutis ex L. f. es el género más grande y ampliamente distribuido de plantas hemiparásitas facultativas del continente americano. Está compuesto por alrededor de 200 especies concentradas principalmente en el noreste de América del norte y México, incluyendo un pequeño grupo de menos de 30 especies distribuidas principalmente en los Andes centrales. Este género representa taxonómicamente al subgrupo de la subtribu Castillejinae en el que la mayoría de sus especies (~160) han evolucionado hacia el modo de vida perenne a partir de clados de linajes anuales de otras Castillejinae (Tank et al. 2008). Dentro del género se han descubierto especies poliploides y diploides, siendo la poliploidía una característica común entre las *Castilleja* perennes.

Castilleja fissifolia L.f., es la especie tipo del género *Castilleja*. Es un sufrútice perenne hemiparásito abundante en el páramo de Piedras Blancas (Mérida, Venezuela), distribuido desde Costa Rica hasta Perú, entre los 1600 y los 4600 m snm (Briceño et al., 2002; Pelayo, 2017). Aunque sus flores suelen ser amarillas o rojas, pueden encontrarse morfotipos blanquecinos o con combinaciones de los colores mencionados. Las plantas están generalmente cubiertas de

brácteas rojas en la zona apical de las ramas y sus frutos son cápsulas de 10-13 mm (Pelayo, 2017).

Los haustorios de *Castilleja* son considerados como algunos de los más complejos entre las plantas parásitas gracias a la presencia reportada de elementos de tubo criboso del floema en su zona endofítica (Kuijt y Dobbins 1971).

1.2.1. La estructura de la interfaz *Castilleja*-hospedador

Como es el caso para otras especies hemiparásitas, las plantas del género *Castilleja* son capaces de producir haustorios a partir de sus raíces secundarias, pero también pueden producir haustorios desde sus raíces primarias aunque no son del tipo terminal. En estas plantas, el desarrollo de los haustorios ocurre en respuesta a la detección de exudados alelopáticos emitidos por potenciales hospedadores compatibles (Joel et al., 2013).

Los haustorios de *Castilleja* consisten de dos partes, una parte **ectofítica** que se mantiene fuera de las raíces del hospedador, y una parte **endofítica** que penetra al hospedador y representa la interfaz fisiológica que media la relación entre el parásito y el hospedador. La descripción más completa de esta estructura en un miembro del género *Castilleja* fue realizada por Dobbins y Kuijt (1973a y 1973b) utilizando microscopía electrónica para estudiar la estructura de los haustorios de *Castilleja sulphurea* Rydb. (Orobanchales, Orobanchaceae), la cual es resumida a continuación.

La sección ectofítica de los haustorios de *C. sulphurea* Rydb. Se ve a simple vista como un engrosamiento terminal de entre 1 a 3 mm de diámetro y consiste en una zona o plato

xilemático, una zona parenquimatosa adyacente, una zona colenquimática localizada centralmente y una zona periférica cortical.

El endófito, que empieza su desarrollo a partir de las células parenquimáticas situadas entre el núcleo colenquimático y la corteza del haustorio, consiste de un tallo de células que contienen lípidos y células digitadas en su extremo distal.

Esta zona endofítica contiene elementos de vasos que recorren toda la longitud de la estructura. Las observaciones de Dobbins y Kuijt (1973b) sugieren que el hospedador es penetrado en parte gracias a la disolución enzimática de sus células por parte del parásito. La presión ejercida por las células del endófito en crecimiento durante la colonización también aplasta algunas células del hospedador, causando que los tejidos floemáticos del hospedador se vean obligados a disponerse en forma de bucle, y sus paredes celulares sean dobladas. Los autores no observaron conexiones entre las paredes celulares del parásito y el hospedador, sin embargo, los plasmodesmos observados dentro del endófito están altamente ramificados.

Los elementos del xilema del parásito se encuentran conectados a los del hospedador mediante la disolución de las paredes celulares del hospedador o por la penetración directa de alguna célula digitada dentro de una célula xilemática del hospedador. Luego de la penetración, la célula penetrante se diferencia a un elemento de vaso.

Dobbins y Kuijt (1973b) fueron los primeros en reportar la presencia de elementos de floema cercanos a la periferia de la interfaz parásito-hospedador y en los tejidos interiores del endófito, con presencia de células acompañantes del floema en las adyacencias de las células de

la corteza del hospedador, además de conexiones bordeadas de calosa entre los elementos de tubo criboso y sus células acompañantes.

1.2.2. El rango de hospedadores de *Castilleja*

Numerosas especies pertenecientes al género *Castilleja* son reconocidas como plantas hemiparásitas facultativas (Press y Phoenix 2005; Bardgett et al. 2006; Quested 2008; Cameron et al. 2009) que pueden "forrajear" creciendo selectivamente en una dirección específica o penetrando selectivamente las raíces de los hospedadores al tocarlas (Pennings y Callaway 2002).

Aunque hasta el momento se han documentado interacciones parasíticas entre las plantas del género *Castilleja* y más de 100 especies distintas de hospedadores (Press 1998), no existe consenso en cuanto al número de especies totales que sirven de hospedadores compatibles para los parásitos del género, ya que es difícil determinar este tipo de relaciones en condiciones naturales. A pesar de esto, se entiende que estas plantas pueden asociarse a una amplia gama de especies en comunidades alpinas y montanas (Spasojevic y Suding 2010). Estudios conducidos utilizando *Castilleja indivisa* en Texas, Estados Unidos, han demostrado que aunque puede parasitar una amplia cantidad de especies, algunos de sus hospedadores tienen efectos positivos más fuertes sobre la productividad del hemiparásito que otros (Adler 2003).

A pesar de su importancia histórica como especie tipo de su género, y de ser una de las especies con mayor rango de distribución del género *Castilleja*, no encontramos estudios sobre el rango de hospedadores, la estructura de la interfaz *C. fissifolia*-hospedador, u otros aspectos del

síndrome parasítico en *C. fissifolia*, por lo que éste estudio representa una mirada pionera a los detalles de las relaciones parásito-hospedador en esta especie.

1.3. Antecedentes de investigación: *Castilleja fissifolia* como elemento de la vegetación en los Andes Venezolanos

1.3.1. Plant functional traits along an old-field succession in the high tropical andes (Rada et al. 2021).

En este estudio, los autores describieron algunos aspectos ecofisiológicos de *Castilleja fissifolia* en la localidad de Gavidia entre los 3300 y 3800 m snm, encontrando que dado un valor promedio de DFFF de 1000 μmol $m^{-2}.s^{-1}$, *C. fissifolia* posee los valores de asimilación máxima de carbono más bajos (4.1±0.14 μmol $m^{-2}.s^{-1}$) y la segunda mayor conductancia estomática promedio (277.1±19.0 mmol $m^{-2}.s^{-1}$), de un total de 18 hierbas y gramíneas estudiadas durante la temporada de alta disponibilidad hídrica. La única otra planta con mayor conductancia estomática observada fue la gramínea *Agrostis trichodes* (324.6±19.0 mmol $m^{-2}.s^{-1}$).

En este trabajo también se demuestra que *C. fissifolia* posee las menores tasas de asimilación de CO_2 por unidad de área foliar y por unidad de peso de todas las hierbas y gramíneas examinadas, además de poseer los potenciales hídricos en campo más negativos de las 11 especies de plantas dicotiledóneas examinadas (-1.3±0.6 MPa), siendo superadas en este aspecto solamente por gramíneas presentes en la localidad.

1.3.2. Linking patterns and processes through ecosystem engineering: effects of shrubs on microhabitat and water status of associated plants in the high tropical Andes (Ramírez et al. 2015).

En este estudio realizado en la localidad de Piedras Blancas, los autores encontraron que *C. fissifolia* exhibía patrones positivos de interacción (RII; Armas et al. 2004) con *H. laricifolium* a 4300 msnm, siendo la única especie con potenciales hídricos foliares en campo significativamente mayores bajo la influencia de *H. laricifolium*, en comparación con áreas abiertas ($p = 0.0166$).

Vale destacar que los autores mencionan que las hierbas *Noticastrum marginatum* (Asteraceae) y *C. fissifolia*, ambas asociadas espacialmente de forma positiva con *H. laricifolium*, poseían valores de potenciales hídricos foliares mínimos y potenciales de punto de pérdida de turgor promedios similares dentro y fuera de la cobertura del arbusto, lo que aunado a sus valores de potenciales hídricos foliares mínimos relativamente altos, sugieren que ambas especies dependen de estrategias de evasión de la sequía para sobrevivir, hecho que sugiere que el estado hídrico más favorable desplegado por *C. fissifolia* podría ser producto de la presencia de relaciones de parasitismo.

1.3.3. Relaciones espaciales y mecanismos de interacción entre un arbusto dominante (*Hypericum laricifolium*) y otras especies de plantas en el páramo altiandino (Cáceres et al. 2015).

Cáceres et al. (2015) mencionan que *C. fissifolia* "reviste cierta complejidad en los términos de [su] investigación", debido a que el patrón de asociación espacial positiva (RII; Armas et al. 2004) encontrado entre *C. fissifolia* e *Hypericum laricifolium*, sugiere la posibilidad de que "las raíces de *C. fissifolia* estén conectadas con las de *H. laricifolium* en la localidad de Piedras Blancas, resaltando que "la falta de información acerca de este tipo de interacciones parasíticas es generalizada a pesar de que los botánicos europeos del siglo antepasado fueron los primeros en investigar esta característica en éste grupo de plantas".

Parte de la complejidad mencionada por la autora, es atribuida al hecho de que *C. fissifolia*, representó la única excepción a lo esperado en términos de su balance hídrico, presentando valores de potenciales hídricos foliares en campo más negativos bajo la copa del arbusto, lo que la autora establece como una condición hídrica "menos favorable". También se encontró que *C. fissifolia* no posee áreas foliares específicas significativamente mayores bajo la influencia de *H. laricifolium*, y es además una de tres especies en las que se describió como evidente la capacidad de acumular pigmentos fotoprotectores en las hojas, mostrando una disminución importante en la proporción de hojas con compuestos fotoprotectores bajo la copa del arbusto.

En conclusión, Cáceres et al. (2015) sugieren que a pesar de ser percibidas como poco importantes, es preciso "mejorar nuestra comprensión de los aspectos mencionados en un género de extensa distribución geográfica, y más aún; en una especie tan común en los páramos venezolanos a lo largo de un considerable gradiente de distribución altitudinal que va desde 2.000 hasta los 4.300 m de altitud (Briceño et al., 2002)."

1.3.4. Efecto de una roseta gigante (*Coespeletia timotensis* Cuatr.) sobre las condiciones microambientales y la estructura de la comunidad en el Páramo Altiandino (Mora et al. 2016).

Según estos autores, *C. fissifolia* está asociada positivamente (RII; Armas et al. 2004) a la roseta caulescente *Coespeletia timotensis* (Asteraceae), aumentando hasta en un 500% su cobertura bajo la influencia de *C. timotensis*, considerando a *C. fissifolia* "[una de] las especies que definen a la comunidad vegetal presente bajo la influencia de la roseta".

1.4. Los páramos andino y altiandino sensu Monasterio (1980)

Se denomina **páramo andino** al bioma dominante sobre los 2800 y hasta aproximadamente los 4000 msnm en la alta montaña neotropical, distribuido entre los 11°N desde el macizo de Santa Marta en el norte de Colombia hasta los 8°S en el norte de Perú (Monasterio 1980a), abarcando las secciones de la cordillera de los Andes presentes en Ecuador y Venezuela. En este bioma la vegetación presente cubre casi totalmente la superficie del suelo.

Por otra parte, se denomina **páramo altiandino** a la región morfoclimática de alta montaña que ocurre sobre los ~4000 msnm en el neotrópico. Los elementos de delimitación de esta unidad ecológica son las huellas dejadas por los eventos glaciales ocurridos durante el cuaternario, la evidencia de morfogénesis periglacial producida por el régimen climático actual, y un mayor porcentaje de suelo sin cobertura vegetal en comparación con la unidad páramo andino.

Ambos tipos de páramo están expuestos a elevada radiación solar, en conjunto con bajas presiones de saturación de vapor de agua y la oscilación extrema de las temperaturas atmosféricas y de la capa superior del suelo. El régimen térmico en los páramos andinos se caracteriza por experimentar altas temperaturas durante el día que pueden caer por debajo del punto de congelación del agua durante la noche, por lo que ha sido descrito como de "verano en el día e invierno en la noche" (Hedberg, 1964).

El aumento de la severidad de estos factores climáticos suele estar correlacionado positivamente con el aumento de la elevación (Azócar y Rada 2006), variando en mayor grado en ciclos circadianos, pero manteniéndose relativamente constantes durante el año (Sarmiento 1986).

Con respecto a lo hídrico, los páramos varían mucho en regímenes de precipitación y en humedad atmosférica (Monasterio 1980b; Sarmiento 1986), dependiendo de la altitud y orientación de cada localidad. En las vertientes influenciadas por el patrón ecuatorial, las precipitaciones ocurren en un régimen bimodal, mientras que en páramos influenciados por los vientos alisios, las precipitaciones ocurren en un régimen unimodal.

Esta alta heterogeneidad abiótica, característica de los páramos, genera una alta diversidad de hábitats entre los que se pueden encontrar desde bosques parameros, pastizales parameros, pajonales parameros, páramos de rosetal y arbustal, y bosques altimontanos, hasta páramos desérticos y desiertos periglaciales (Monasterio 1980a), en los que la cobertura vegetal es casi inexistente debido a la ausencia de agua líquida durante casi todo el año. Cada uno de

estos pisos altitudinales están delimitados por los patrones de precipitación a los que están sometidos, dependiendo si se encuentran en vertientes secas o húmedas.

Según Körner (1999), los suelos de las zonas alpinas suelen ser jóvenes y sin estructura definida, ya que son regularmente alterados por movimientos de masa, erosión y la alta frecuencia de heladas. En el piso andino se encuentran principalmente suelos de tipo Inceptisol, Entisol, e Histosol (Malagón 1982), húmicos de color oscuro, ácidos y pobres en nutrientes (Azócar y Rada 2006).

Los contenidos de materia orgánica y humedad en el suelo son mayores en los niveles altitudinales inferiores del páramo, disminuyendo en cantidad al aumentar la altitud debido a las reducciones paulatinas de la cobertura vegetal, de la profundidad de la capa de raíces en el suelo, y de la producción de biomasa anual. Coûteaux et al. (2002), encontraron que los aumentos en las cantidades de carbono total en el suelo estaban inversamente correlacionados con el incremento de la altitud en la interfaz páramo andino/páramo altiandino. Vale la pena acotar que estas variables pueden estar sometidas a cambios locales debido a la heterogeneidad climática expuesta anteriormente.

El congelamiento del agua empieza a tener efectos importantes sobre la estructura del suelo a medida que aumenta la altitud. En zonas donde el agua sufre ciclos frecuentes de congelamiento-descongelamiento, aumenta el contenido de rocas y arena, y disminuye la producción de materia orgánica, por lo que a partir de los ~4000 msnm aparecen suelos rocosos y poco profundos, característicos del páramo altiandino.

1.4.1 El Páramo de Piedras Blancas Como área de estudio y ambiente extremo

El páramo de Piedras Blancas se encuentra en el valle alto del río Chama, en una zona influenciada por el clima seco del bolsón semiárido de Mucuchíes. Esta localidad representa la zona más árida de la alta montaña venezolana, con un patrón unimodal de precipitaciones, que alcanzan valores máximos entre 600 y 800 mm durante los 4 meses de la estación seca de diciembre a marzo, y temperaturas medias anuales entre -2 a 2.5 °C (Ataroff y Sarmiento, 2003).

Malagón (1982), clasificó los suelos de Piedras Blancas, sector Pico el Águila (~4118 msnm) como Inceptisoles, que poseen estructuras muy poco estables debido a la presencia de afloramientos rocosos, un manto móvil de solifluxión de ~7 cm de profundidad, y un horizonte B estructurado, producto de los procesos periglaciales que han ocurrido en la zona. Pérez (1991) reporta contenidos bajos de materia orgánica en Piedras Blancas, de aproximadamente 2% en los primeros 5 cm del suelo.

La altísima incidencia de radiación y el bajo contenido de humedad atmosférica hacen que la amplitud térmica experimentada por las plantas del lugar a nivel del suelo y a 10 cm de profundidad, sea de hasta 50 °C y 10 °C, respectivamente, en días despejados. En esta localidad las nevadas son comunes durante la estación húmeda, pero suelen ser de corta duración (Sarmiento 1986) debido al rápido aumento de la temperatura en las primeras horas del día.

El efecto conjunto de todas las características edáficas y climáticas descritas imponen limitaciones importantes sobre el establecimiento y crecimiento de la vida vegetal en el páramo de Piedras Blancas, que las especies de plantas del lugar han evolucionado para sortear mediante una amplia gama de adaptaciones morfológicas y fisiológicas.

La capacidad de evadir o soportar el congelamiento es una de las características esenciales de las plantas presentes en Piedras Blancas. Estas adaptaciones deben ser permanentes, ya que no existe una temporada de crecimiento definida y el congelamiento puede ocurrir en cualquier noche del año, especialmente en el páramo altiandino (Cáceres, 2011).

Durante la temporada de lluvias, la incidencia de radiación solar puede alcanzar valores muy bajos durante períodos prolongados, los cuales aunados a temperaturas bajas pueden afectar negativamente la asimilación de carbono y el crecimiento (Sarmiento, 1986). Al mismo tiempo, las plantas establecidas en Piedras Blancas deben ser capaces de adaptar y proteger sus aparatos fotosintéticos a cambios bruscos en la incidencia de radiación solar, ya que en las mañanas y durante la temporada seca los niveles de radiación son de los más altos registrados a nivel mundial (Cáceres 2011).

Estas constantes condiciones ambientales extremas influyen a gran escala sobre la estructura vertical y horizontal de la vegetación, la cual restringe espacialmente a la vegetación a mosaicos intercalados entre grandes extensiones de suelo desnudo o rocoso, que varían entre 50% y 90% de cobertura dependiendo del sitio (Monasterio 1979). Las condiciones propias del ambiente en Piedras Blancas restringen además la diversidad morfológica y de modos de vida posibles para las plantas que sobreviven en la localidad. Con pocas excepciones, las plantas vasculares de este tipo de biomas son: rosetas acaules perennes, cojines, gramíneas en macolla o arbustos pequeños (Körner y Larcher 1988) o rosetas caulescentes gigantes. Las rosetas acaules y los cojines alcanzan las mayores altitudes, siendo el límite superior de distribución de plantas vasculares de alrededor de 4700 m snm en estas regiones (Azócar y Rada 2006).

Todas las actividades concernientes a este trabajo de investigación fueron realizadas en tres localidades situadas a lo largo del camino vía Piñango, entre los 4250 y 4300 m snm, en el páramo de Piedras Blancas. Esta zona está descrita como un ambiente seco (Monasterio 1980a). Todos los sitios seleccionados comparten la presencia de poblaciones importantes de *Castilleja fissifolia* L.f.

1.5. Objetivos e Hipótesis

1.5.1. Hipótesis

- Ya que las plantas pertenecientes al género *Castilleja* han sido descritas como hemiparásitas, *C. fissifolia* debe incurrir en relaciones de parasitismo en el sitio de estudio.
- Puesto que se ha descrito que las plantas pertenecientes al género *Castilleja* son parásitos facultativos, *C. fissifolia* debe incurrir en relaciones de parasitismo de forma facultativa en el sitio de estudio.
- *C. fissifolia* debe poseer un perfil de respuestas ecofisiológicas (Altas conductancias estomáticas, bajas tasas de asimilación de carbono y potenciales hídricos más negativos) que permitan la toma de recursos de sus potenciales hospedadores.

1.5.2 Objetivos

- Determinar si *C. fissifolia* incurre en relaciones de parasitismo en el sitio de estudio.
- Establecer si las relaciones parásito-hospedador establecidas por *C. fissifolia* son de naturaleza obligatoria o facultativa en el sitio de estudio.
- Describir el síndrome parasítico de *C. fissifolia* en el sitio de estudio a través de la medición de variables ecofisiológicas en individuos adultos.

CAPÍTULO 2. Relaciones *Castilleja fissifolia*-hospedador en el Páramo de Piedras Blancas

En este capítulo explicaremos las metodologías empleadas para determinar la presencia de relaciones *Castilleja*-hospedador en el sitio de estudio y presentaremos los resultados obtenidos.

2.1. Métodos

2.1.1. Sitio de Estudio

Todas las actividades expuestas en este trabajo de investigación fueron realizadas en tres localidades situadas a lo largo del camino entre 4250 y 4300 msnm en el páramo de Piedras Blancas, vía Piñango. Esta zona está descrita como un gradiente altitudinal seco (Monasterio 1980a). Todos los sitios seleccionados diferían cualitativamente en cobertura vegetal, y pendiente:

- El sitio número 1 (N 08°52' 11.8" ; W 070°50' 42.7"), situado a 4256 m snm, poseía la menor cantidad de cobertura vegetal. El suelo de esta localidad es altamente pedregoso, y con una pendiente poco pronunciada.

- El sitio número 2 (N 08°52' 10.2"; W 070°50' 39.1"), situado a 4238 m snm, poseía la mayor cantidad de cobertura vegetal, aunque también poseía una gran cantidad de rocas en el suelo. La pendiente en esta localidad también es poco pronunciada.
- El sitio número 3 (N 08°52' 41.4"; W 070°51' 41.0"), situado a 4249 m snm, en una localidad donde aproximadamente la mitad del área delimitada estaba situada sobre una planicie poco pedregosa con cobertura media donde se encontraba un humedal, con la otra mitad situada sobre una colina con una pendiente bien pronunciada, suelo arenoso y cobertura vegetal escasa.

En todos los sitios se observó la presencia de poblaciones importantes de *Castilleja fissifolia* L.f., *Hypericum laricifolium*, cojines del género *Aciachne* y numerosos individuos de *Rumex acetosella*, pero interesantemente diferían en cuanto a la presencia de otros elementos característicos de la vegetación de páramo altiandino, como lo son individuos adultos de *Espeletia schultzii* y *Coespeletia timotensis*: En el sitio 1, sólo se encontraron individuos adultos de *E. schultzii*, mientras que en el sitio 2 se encontraron individuos adultos de ambas especies, y en el sitio 3 sólo se encontraron individuos adultos de *C. timotensis*.

2.1.2. Determinación de la existencia de relaciones parasíticas *Castilleja fissifolia*-hospedador en el Páramo de Piedras Blancas

Para este fin se escogieron de manera aleatoria 10 individuos adultos de *C. fissifolia* en etapa reproductiva (con flores viables visibles) y mayores a los 60 cm de altura por sitio, a partir de los cuales establecimos unidades de muestreo compuestas por el bloque de suelo de aprox.

60x40x30 cm (0.072 m^3) excavado alrededor de cada individuo de *C. fissifolia*, para un total de 30 bloques, con un volumen total aproximado de 2.16 m^3 de suelo. Cada unidad muestral contenía la bola intacta de raíces de las plantas presentes, así como todas sus partes aéreas.

Los bloques de suelo fueron transportados hasta el laboratorio, en donde cada uno de ellos fue cuidadosamente examinado a mano separando las raíces de la tierra circundante, cuidando de mantener intactas las raicillas de todas las plantas presentes al estilo de Piehl (1963) y Musselman y Mann (1978).

Se identificaron las especies presentes, y se señalaron las interfaces *Castilleja*-hospedador encontradas, definidas como las instancias donde se observó la presencia de haustorios de *C. fissifolia* anclados a las raíces de sus potenciales hospedadores compatibles.

Vale la pena acotar que en el caso de plantas que producen varios rámets por génet, como *Rumex acetosella*, se trató cada rámet como un génet.

Se guardó en solución fijadora por lo menos una instancia de interfaz *C. fissifolia*-hospedador por cada par de plantas, consistente de porciones de raíz del hospedador con haustorios maduros de *C. fissifolia* adheridos a su superficie, como evidencia anatómica de la existencia de cada interfaz *C. fissifolia*-hospedador.

2.1.3. Análisis de datos

Se registraron las abundancias de interfaces *Castilleja*-hospedador, las cuales se presentan por sitio, junto con diagramas de rango-abundancia para las especies totales

observadas, presentando también abundancias relativas y diagramas de rango-abundancia para las formas de vida vegetales parasitadas por *C. fissifolia*.

Se realizaron análisis de ordenamiento multidimensional no métrico (MDS), utilizando transformaciones de raíz cuadrada y el índice de Bray-Curtis como medida de disimilaridad con el fin de comparar las comunidades vegetales asociadas a los individuos de *C. fissifolia*, seleccionando el sitio de muestreo como factor de comparación. Los resultados del análisis de coordenadas principales (PCA) fueron sometidos a PERMANOVA de una vía (PERMANOVA+ for Primer 6.0, Anderson et al. 2008) para establecer si existían diferencias significativas entre las comunidades vegetales asociadas a *C. fissifolia*, utilizando el sitio de muestreo como factor de comparación. Para las pruebas de PERMANOVA, el número de permutaciones seleccionado fue de 9999, y la probabilidad de error tipo 1 fue configurada a 95% (α=0.05).

2.2. Resultados

Usando esta metodología, se logró demostrar la existencia de relaciones parasíticas *Castilleja fissifolia*-hospedador en el sitio de estudio, mediante la observación directa de haustorios de *C. fissifolia* anclados sobre la raíz de al menos 44 especies vegetales hospedadoras.

2.2.1. Rango observado de potenciales hospedadores de *C. fissifolia*

En total se analizaron 1784 génets, a partir de los cuales se identificaron un total de 44 especies de plantas (ver Tabla 1) susceptibles de ser parasitadas por *C. fissifolia* pertenecientes a 33 géneros repartidos en 16 familias de plantas distintas que incluyen monocotiledóneas, dicotiledóneas y una especie de helecho.

- En el Sitio 1 se analizaron 471 génets, identificando asociaciones parasíticas *C. fissifolia*-hospedador con el 19.7% (93) de génets presentes pertenecientes a 21 especies diferentes, que representaban el 70% del total de 30 especies encontradas en el sitio.
- En el Sitio 2 se analizaron 557 génets, identificando asociaciones parasíticas *C. fissifolia*-hospedador con el 17.2% (96) de génets presentes pertenecientes a 24 especies diferentes, que representaban el 70.6% del total de 34 especies encontradas en el sitio.
- En el Sitio 3 se analizaron 756 génets, identificando asociaciones parasíticas *C. fissifolia*-hospedador con el 17.9% (135) de génets presentes pertenecientes a 28 especies diferentes, que representaban el 82.4% del total de 34 especies encontradas en el sitio.

Especie	*Familia*	*Abundancia Relativa (%)*
Aa paleacea	Orchidaceae	1.23
Acaulimalva acaulis	Malvaceae	0.93
Aciachne sp.	Poaceae	3.70
Agrostis breviculmis	Poaceae	1.23
Agrostis jahnii	Poaceae	1.85
Agrostis sp.	Poaceae	0.31
Agrostis tolucensis	Poaceae	0.62
Azorella julianii	Apiaceae	1.85
Bartsia sp.	Orobanchaceae	0.93
Belloa radians	Asteraceae	5.25
Calamagrostis fuscata	Poaceae	0.93
Calamagrostis heterophylla	Poaceae	4.01
Calamagrostis mulleri	Poaceae	0.31
Calandrinia sp.	Asteraceae	0.31
Carex brachycalama	Cyperaceae	0.31
Carex columanthus	Cyperaceae	1.85
Carex sp.	Cyperaceae	1.23
Castilleja fissifolia	Orobanchaceae	0.93
Coespeletia timotensis	Asteraceae	1.23
Conyza sp.	Asteraceae	1.85
Echeveria bicolor	Crassulaceae	0.31
Espeletia schultzii	Asteraceae	2.47
Festuca fragilis	Poaceae	0.31
Geranium sp.	Geraniaceae	7.72
Gnaphallium sp.	Asteraceae	2.16
Hinterhubera ericoides	Asteraceae	0.31
Hypericum juniperinum	Clusiaceae	0.31
Hypericum laricifolium	Clusiaceae	1.23
Hypochaeris sp	Asteraceae	1.54
Lachemilla sp.	Rosaceae	2.78
Luciliocline longifolia	Asteraceae	0.31
Lupinus jahnii	Fabaceae	1.54
Luzula racemosa	Juncaceae	0.62
Oenothera epilobii	Asteraceae	3.40
Ophioglossum crotalophoroides	Ophioglossaceae	1.23
Oxylobus glandulifera	Asteraceae	0.31
Pentacalia imbricatifolia	Asteraceae	1.23
Rumex acetosella	Polygonaceae	38.27
Senecio formosum	Asteraceae	0.31
Senecio funckii	Asteraceae	0.93
Sisyrrinchium jamesonii	Iridaceae	0.31
Sysirinchium tinctorium	Iridaceae	0.93
Vulpia australis	Poaceae	0.31
Vulpia myuros	Poaceae	0.31

Tabla 1. Abundancias relativas de génets pertenecientes a especies donde se encontraron interfaces *C. fissifolia*-hospedador junto a sus respectivas familias en el páramo de Piedras Blancas.

2.2.2. Diagramas de Rango-Abundancia

En la figura 2 se presenta el diagrama de rango-abundancia para las especies identificadas como potenciales hospedadores compatibles de *C. fissifolia* a 4300 m snm en el páramo de Piedras Blancas. Las especies están ordenadas de acuerdo a las abundancias relativas de génets identificados como potenciales hospedadores compatibles de *C. fissifolia*. A fines de nuestro análisis se considerarán las abundancias como indicadores indirectos de la cobertura.

La hierba invasora *Rumex acetosella* es la especie con la mayor abundancia relativa (38.27%) de génets hospedadores de *C. fissifolia* en el páramo altiandino. Es importante destacar que el 48.77% de los génets identificados como potenciales hospedadores compatibles de *C. fissifolia* pertenecen a especies raras, presentes en abundancias relativas menores al 5%.

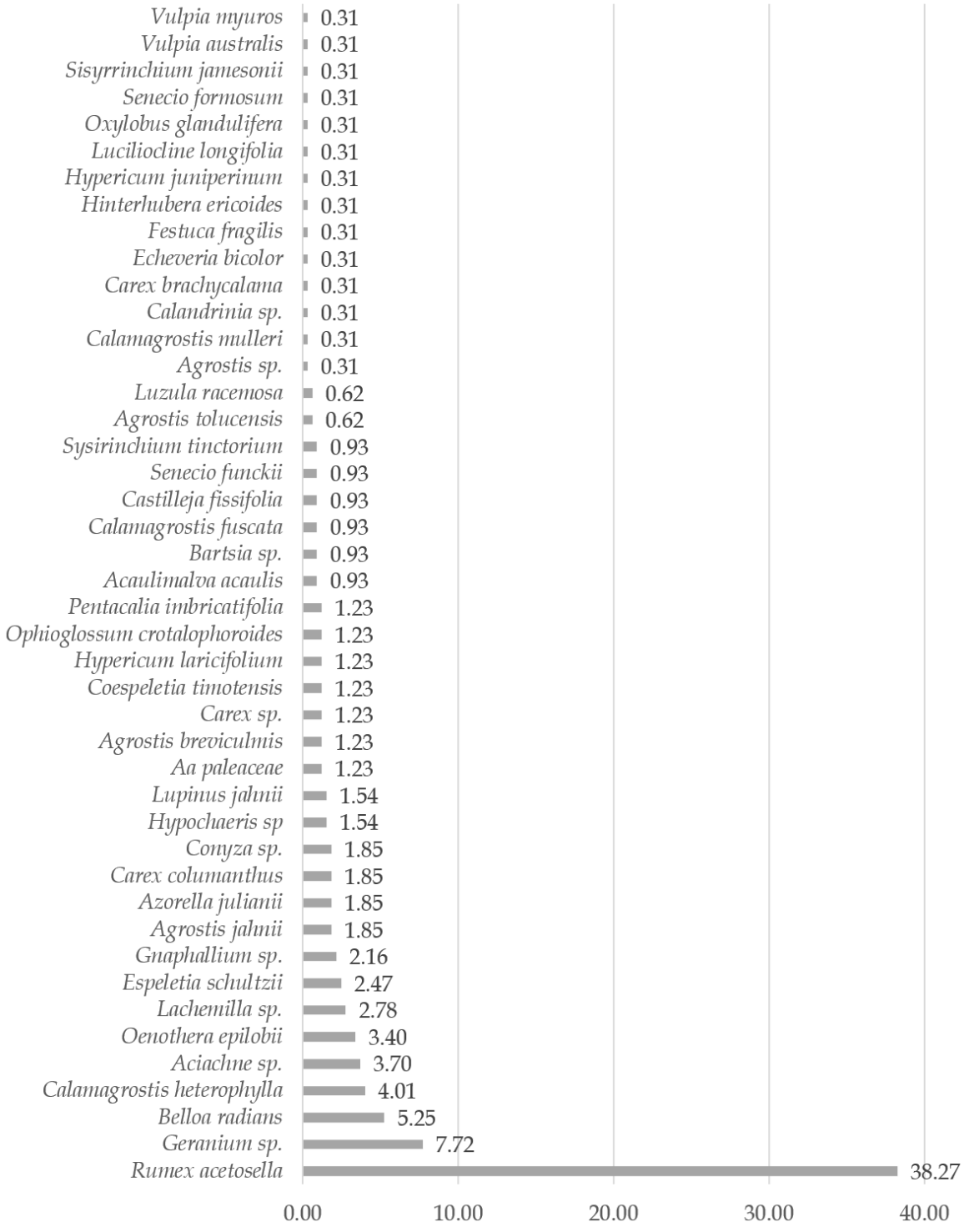

Figura 2. Diagrama de rango-abundancia de génets pertenecientes a especies identificadas como potenciales hospedadores de *C. fissifolia* en el páramo de Piedras Blancas. Las especies están ordenadas de acuerdo a las abundancias promedio.

2.2.4. Análisis Multivariado de Ordenación

Se realizaron análisis de ordenamiento multidimensional no métrico (MDS) de dos dimensiones para comparar las estructuras de abundancias observadas de especies identificadas como potenciales hospedadores compatibles de *C. fissifolia*.

Para este fin se construyó una matriz de densidades (número de génets pertenecientes a especies hospedadoras de *C. fissifolia* por m^2 de terreno), a partir de la cual se calculó una matriz de disimilaridad utilizando Bray-Curtis como métrica de disimilaridad y el sitio de muestreo como factor de comparación (ver Figura 2). Todos los cálculos fueron efectuados empleando el software Primer 6.0.

En la figura 3 se presenta el Diagrama de Ordenamiento Multidimensional no métrico (MDS) de las 30 unidades de muestreo. Puede observarse que, aunque se percibe cierta variabilidad, esta no puede atribuirse a la existencia de diferencias notables entre las estructuras de abundancias de especies asociadas a *C. fissifolia* entre sitios de muestreo.

Finalmente, la matriz de disimilaridad de Bray-Curtis obtenida a partir del análisis anterior fue sometida a un PERMANOVA de una vía (PERMANOVA+ for Primer 6.0, Anderson et al. 2008), el cual reveló que no existen diferencias significativas entre las comunidades vegetales asociadas a *C. fissifolia* encontradas en cada sitio de muestreo (Pseudo F=1.244; p=0.199).

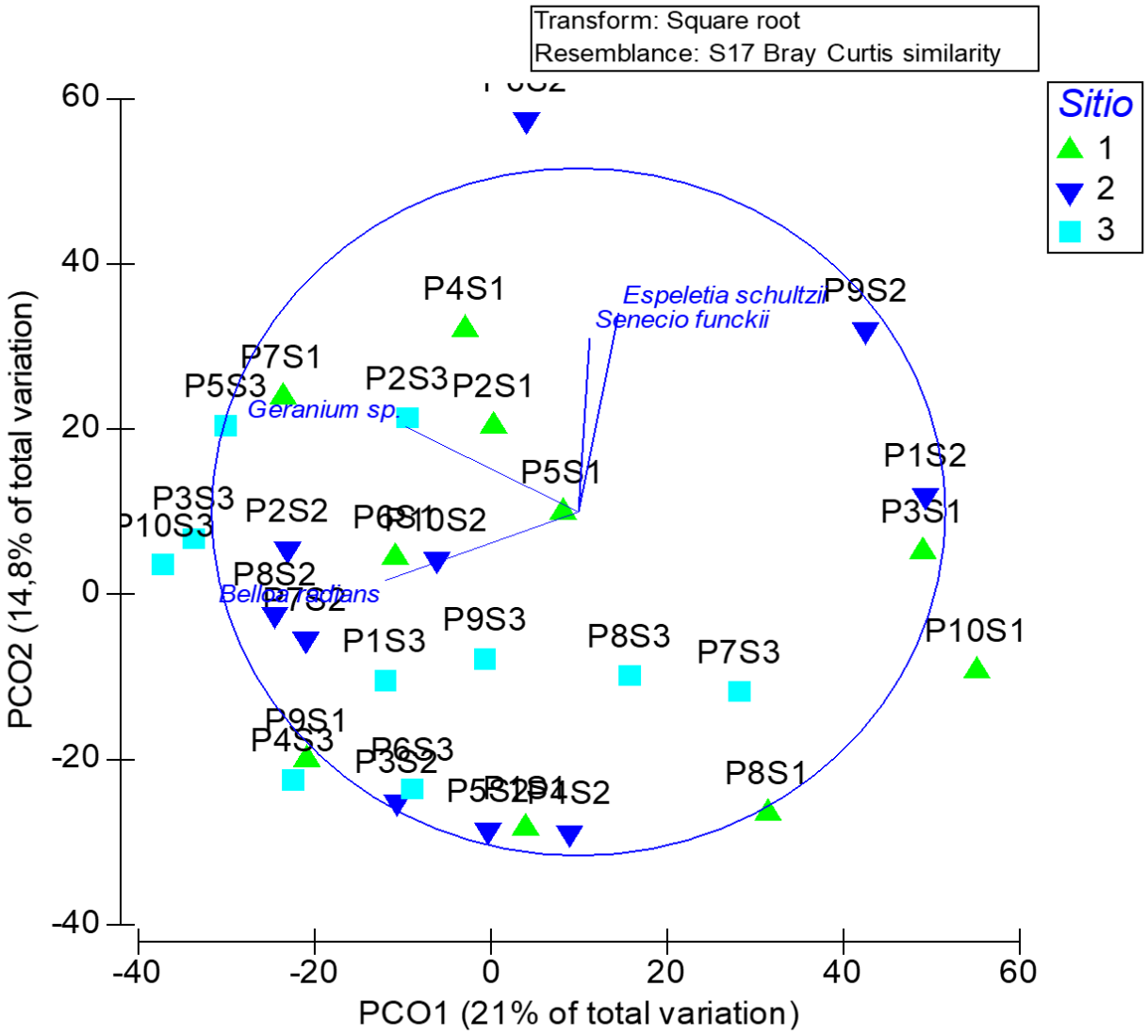

Figura 3. Diagrama de ordenamiento multidimensional no métrico (MDS) de las 30 unidades de muestreo, basado en las matrices de densidad de génets pertenecientes a especies identificadas como potenciales hospedadoras de *C. fissifolia* en el páramo de Piedras Blancas (n=1784).

2.3. Discusión

2.3.1. El Rango de hospedadores de *Castilleja fissifolia* en el Páramo de Piedras Blancas

Los resultados de este trabajo de investigación permiten afirmar que *C. fissifolia* incurre en relaciones de parasitismo en el sitio de estudio. Se logró detectar la presencia de interacciones *Castilleja fissifolia*-hospedador en un total de 44 especies de plantas vasculares, incluyendo a 25 especies de plantas eudicotiledóneas, 18 especies de monocotiledóneas y una especie de pteridofita pertenecientes a 16 familias distintas (ver Tabla 1), dispuestas en ensambles que no presentaron diferencias entre sitios. No se realizaron análisis para determinar si existían diferencias entre los ensambles de hospedadores por unidad de muestreo.

Estos resultados representan el rango de hospedadores más amplio descrito por observación directa (Piehl 1963; Musselman y Mann 1978) para cualquier especie del género *Castilleja* del que se tenga conocimiento hasta el momento de la redacción de este documento.

La capacidad de establecer relaciones parasíticas con tan diversa variedad de especies vegetales que no comparten otras características, excepto el solapamiento de sus rangos de distribución con *C. fissifolia*, nos lleva a proponer que la especie se comporta como un parásito generalista. Sin embargo, es importante considerar que este rango de hospedadores observado pudiese ser distinto al rango de hospedadores reales, debido a varios aspectos claves:

La morfogénesis de los haustorios laterales de los hemiparásitos como *Castilleja* es disparada por la presencia de una variedad de exudados alelopáticos emitidos por las raíces de

sus hospedadores compatibles (Joel et al. 2013). El ambiente subterráneo observado durante nuestro estudio se caracteriza por el solapamiento de las bolas de raíces de todas las especies adyacentes en cada unidad de muestreo.

Estos hechos sugieren que las bolas de raíces de todos los parásitos examinados para esta investigación están sumergidas en un cóctel molecular que pudiese elicitar el desarrollo inespecífico de haustorios, lo que podría traer como consecuencia que *C. fissifolia* ataque virtualmente a cualquier planta que crezca en su área de influencia, incluyendo a hospedadores que podrían no ser los más adecuados o incluso sean incompatibles. Es importante establecer el grado en el que los haustorios de *C. fissifolia* logran penetrar y asociarse efectivamente al tejido vascular de los hospedadores observados, para establecer con mayor autoridad el rango real de hospedadores de la especie.

La hierba invasora *Rumex acetosella* es la especie más atacada por *C. fissifolia* en el páramo de Piedras Blancas, presentando la mayor abundancia relativa (38.27%) de génets parasitados. Es importante destacar que una gran parte (48.77%) de los génets identificados como hospedadores de *C. fissifolia* pertenecen a especies presentes en abundancias relativas menores al 5%. Además, casi todas estas especies raras producen vástagos notablemente más pequeños que los del parásito. No se realizó ningún análisis para determinar si las frecuencias observadas de establecimiento de interfaces *C. fissifolia*-hospedador responden a la preferencia del parásito por alguna especie.

2.3.2. Consideraciones sobre las porciones observables del haustorio de *Castilleja fissifolia*

Las porciones ectofíticas de los haustorios observados para esta especie estaban compuestas de una estructura globular, aparentemente glabra, de entre 1 y 4 mm de longitud, presumiblemente por haber sido observados durante distintas fases de su desarrollo. Aunque los haustorios observados de *C. fissifolia* eran glabros, podría ser necesario verificar esto al microscopio, ya que se ha encontrado que la presencia de pelos radiculares es común para distintas especies de *Agalinis*, *Pedicularis* y *Castilleja* (Piehl 1963, Dobbins y Kuijt 1973a, Samira et al. 2001, Montes et al. 2015).

C. fissifolia es capaz de generar haustorios en cualquier sección de sus raíces secundarias, como unidades únicas o dispuestas en grupos de dos o más, separadas por un segmento corto de raíz de entre 1 y 3 mm al estilo de un rosario (ver Figura 4). Estos tamaños observados para las porciones ectofíticas de los haustorios de *C. fissifolia* son similares a los reportados para *C. lutescens* y *C. cusickii*, los cuales son en promedio de 1 mm y 2 mm de longitud, respectivamente (Dobbins y Kuijt 1973a).

En la mayoría de los pares *C. fissifolia*-hospedador obtenidos en cantidades suficientes, se encontraron múltiples conexiones haustoriales por ramet hospedador, consistente con lo reportado en la literatura (Heide-Jørgensen y Kuijt 1995, Neumann et al. 1999, Rumer et al. 2007). La capacidad observada de ésta especie de atacar simultáneamente a varias especies de plantas anuales y perennes, en distintas etapas de sus ciclos de vida sugiere que los individuos de *C. fissifolia* son capaces de producir haustorios durante toda su existencia, aunque en este estudio

no demostramos si una vez establecidos, estos haustorios se mantienen anclados permanentemente a su hospedador o son renovados con cierta frecuencia. Este comportamiento de parasitismo simultáneo a múltiples especies podría estar sugiriendo que el parásito obtiene diferentes nutrientes de distintos hospedadores, como se ha demostrado para *Odontites verna* (Orobanchaceae; Govier et al. 1967).

Figura 4. Haustorios de *C. fissifolia* anclados a raíces de *Hinterhubera ericoides* (Asterales, Asteraceae). Foto de diciembre 2017.

2.3.3. Interacciones *Castilleja fissifolia*-hospedador notables

Durante este estudio se verificó la presencia de haustorios de *C. fissifolia* anclados a las raíces de las especies que históricamente han sido estudiadas en Piedras Blancas, como lo son las rosetas caulescentes de los géneros *Espeletia* Mutis y *Coespeletia* Cuatr., el arbusto *Hypericum laricifolium* Juss., la hierba fijadora de nitrógeno *Lupinus jahnii* Rose, los tabacotes amarillo y morado *Senecio funckii* Sch. Bip y *Senecio formosus* H.B.K, y la hierba invasora *Rumex acetosella* L.

Como resultado de esta investigación hemos descubierto las primeras instancias reportadas de relaciones parásito-hospedador entre una planta de la familia Orobanchaceae y miembros pertenecientes a la familia Orchidaceae y al orden Pteridophyta. En nuestro caso hemos encontrado la existencia de interfaces *Castilleja fissifolia*-hospedador en la especie de orquídea *Aa palacea* Kunth (Figura 5) y el helecho acuático *Ophioglossum crotalophoroides* Walter.

Además, reportamos que *C. fissifolia* posee la capacidad observada de funcionar como epiparásito sobre individuos del género *Bartsia* (Lamiales, Orobanchaceae). Al parecer esto constituye también el primer reporte de relaciones parasíticas entre plantas pertenecientes a estos géneros. Finalmente, encontramos haustorios de *C. fissifolia* anclados a otros individuos de su misma especie, así como a sí mismos.

Figura 5. Haustorios de *C. fissifolia* anclados a raíces de *Aa paleacea* Kunth (Asparagales, Orchidaceae). Foto de diciembre 2017.

2.3.4. Facultatividad de las relaciones parasíticas *Castilleja fissifolia*-hospedador en el Páramo de Piedras Blancas

Como parte de las fases iniciales de este trabajo de investigación, se creía incorrectamente que era posible encontrar individuos de *C. fissifolia* que fuesen capaces de existir naturalmente en ausencia de relaciones parasíticas con otras especies. Esfuerzos de prospección realizados antes y durante la ejecución de este trabajo no permitieron encontrar individuos de *C. fissifolia* creciendo en ausencia de posibles hospedadores compatibles en condiciones naturales.

Posteriormente a los intentos de encontrar individuos aislados de *C. fissifolia* mediante prospección, se intentó realizar la remoción de la parte aérea de plantas adyacentes a individuos de *C. fissifolia* seleccionados por encontrarse relativamente (aunque no completamente) aislados de plantas de más de 10 a 15 cm de altura, excavando además zanjas circulares de aprox. 10 cm de profundidad, con el fin de intentar evitar el restablecimiento de conexiones haustoriales con plantas fuera de la zona manipulada. Este experimento no rindió los resultados esperados, ya que las tasas de germinación y recambio de plantas con rizomas tipo *Rumex acetosella*, son muy altas y se encontraron numerosos individuos de distintas especies creciendo en las adyacencias de los individuos seleccionados de *C. fissifolia* a menos de dos semanas de realizar las manipulaciones experimentales.

En un último intento de obtener plantas aisladas de posibles hospedadores compatibles, se excavaron cuidadosamente 5 individuos adultos de *C. fissifolia* los cuales fueron replantados en bolsas de polietileno linear de baja densidad de 25 litros de capacidad, cuidando de no dañar la rizósfera y de dejar fuera de la bolsa cualquier otra planta. Todos los individuos de *C. fissifolia* excavados murieron por marchitamiento a los pocos días de ser manipuladas, excepto una que se encontró viva casi un año después con numerosos individuos de *Rumex acetosella* creciendo en la bolsa, lo que lleva a pensar que algunos individuos de *C. fissifolia* relativamente robustos pueden resistir el detenimiento abrupto de la obtención de recursos por la vía heterotrófica, presumiblemente mediante la pérdida controlada de parte de su biomasa hasta tener hospedadores nuevos a su disponibilidad.

Adicionalmente, durante la etapa de determinación del rango de hospedadores de *C. fissifolia*, se encontraron plántulas de *C. fissifolia* recién germinadas ancladas vía sus haustorios a raíces de cojines del género *Aciachne* (ver Figura 6).

De acuerdo a Joel et al. (2013), una de las diferencias claves entre holoparásitos y hemiparásitos de la familia Orobanchaceae es que en Orobanchaceae holoparásitas, las plántulas se desarrollan independientemente por un período muy corto, después del cual deben anclarse rápidamente a un hospedador compatible o morir, mientras que las Orobanchaceae hemiparásitas solo son capaces de desarrollar haustorios una vez que se han establecido autotróficamente.

La severidad de las condiciones ambientales dominantes en el páramo de Piedras Blancas podría estar ejerciendo presiones selectivas sobre las poblaciones de *C. fissifolia*, obligando a las plantas de la zona a adquirir un modo de vida más parecido al de Orobanchaceae holoparásitas obligadas, lo cual se ve reflejado en el acortamiento de la duración de la fase independiente post-germinación, en la alta dificultad de obtener plantas natural o artificialmente aisladas, y en la aparentemente baja dependencia de la vía autotrófica para la obtención de carbono.

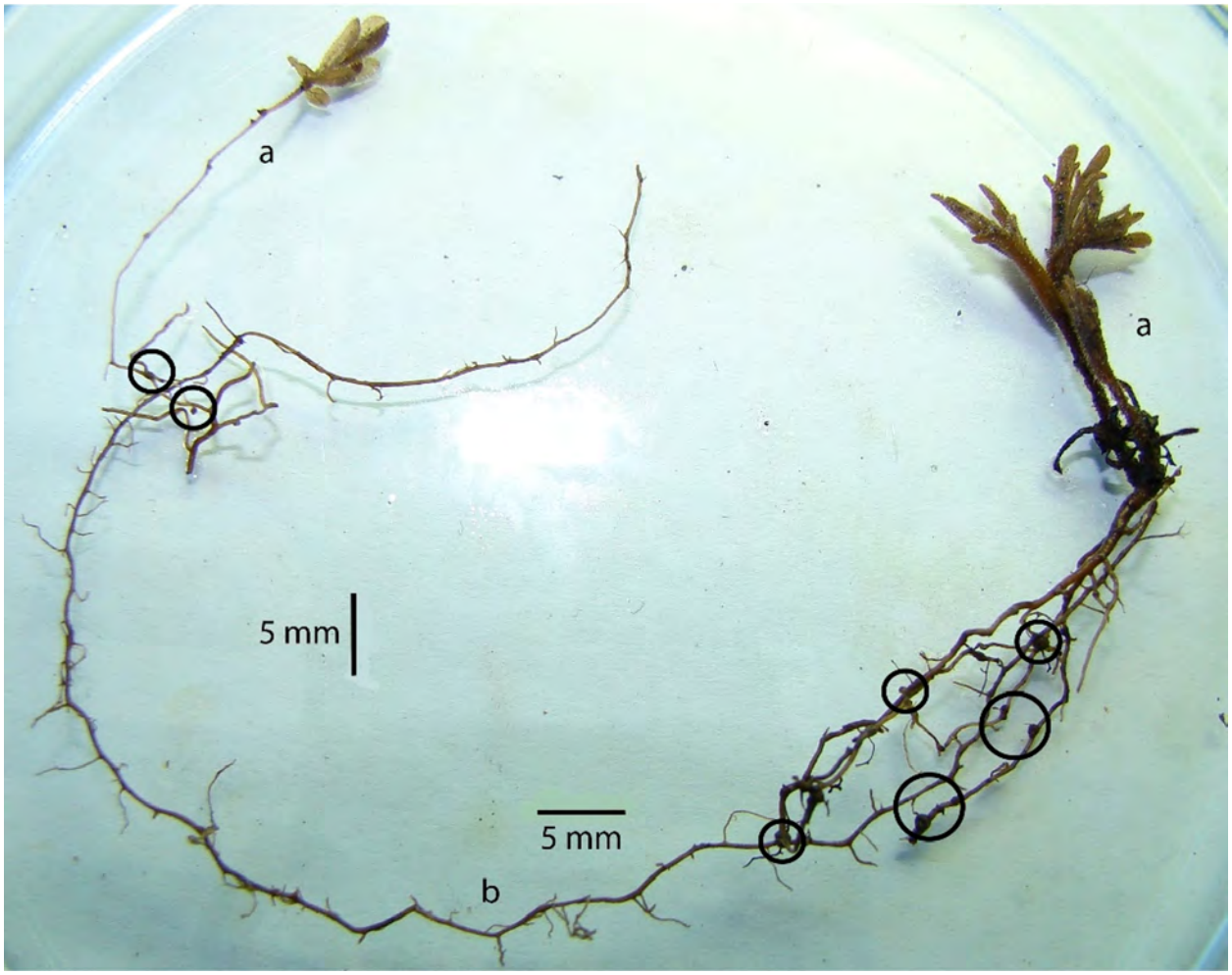

Figura 6. Plántulas de *C. fissifolia* ancladas a raíces de *Aciachne sp.* (Poales, Poaceae); a: Plántulas de *C. fissifolia*; b: Raíces de *Aciachne sp*; dentro de los círculos: Haustorios de *Castilleja*. Foto de diciembre 2017.

CAPÍTULO 3: Aspectos Ecofisiológicos de las Relaciones *Castilleja*-hospedador en el Páramo de Piedras Blancas

En este capítulo se introducirán algunos elementos teóricos sobre la ecofisiología de plantas parásitas. Luego se explicarán las metodologías empleadas para el estudio de variables ecofisiológicas relacionadas con el intercambio de gases y relaciones hídricas de *C. fissifolia* en el área de estudio.

Finalmente, se expondrá un análisis de los resultados previos obtenidos para las mismas variables por otros investigadores en plantas de *C. fissifolia*, con el fin de describir las relaciones *Castilleja*-hospedador observadas en Piedras Blancas en el contexto de las respuestas ecofisiológicas de *C. fissifolia*.

3.1 Ecofisiología de Plantas Parásitas

Los procesos fisiológicos entre parásitos y hospedadores son determinantes claves para el desempeño y el fitness del parásito, y pueden incluso ejercer efectos indirectos a nivel comunitario, en plantas no hospedadoras, micorrizas, herbívoros y polinizadores (Press y Phoenix 2005).

3.1.1 Relaciones Hídricas y Conductancias Estomáticas

Una característica ecofisiológica sobresaliente de la mayoría de plantas parásitas es el mantenimiento de elevadas tasas de transpiración, las cuales típicamente exceden las del hospedador por un orden de magnitud y se encuentran hacia los valores máximos observados en angiospermas.

En algunas especies como *Amyema linophyllum* (Santalales, Loranthaceae) (Davidson et al. 1989) y *Phtirusa maritima* (Santalales, Loranthaceae; Goldstein et al. 1989) y múltiples Orobanchaceae hemiparásitas radiculares (Press et al. 1988; Shah et al. 1987), las tasas de transpiración nocturna son mucho mayores que las del hospedador, lo que indica que estas plantas son capaces de extraer agua de su hospedador tanto en el día como en la noche.

Estudios en *Striga hermonthica* y *S. asiatica* (Orobanchales, Orobanchaceae) han demostrado además que el déficit hídrico tiene un efecto muy pequeño sobre la conductancia estomática, observándose que en éstas especies no se ve un cierre permanente de los estomas

hasta que el contenido relativo de agua en las hojas se reduce hasta alrededor del 70% (Press et al. 1988).

Este atributo es común en parásitos de tallo (Fisher, 1983; Ullmann et al. 1985) y raíz (Press et al. 1988) en regiones subárticas, templadas y tropicales. Las tasas de transpiración en plantas parásitas, aunadas a las respuestas débiles observadas de los estomas a la irradiación y el déficit hídrico podrían ser características generales de los parásitos con hojas. El mecanismo que explica este aparente desacoplamiento entre los estomas y el ambiente es desconocido.

Estas características ecofisiológicas son esenciales para mantener un gradiente de potencial hídrico foliar que facilita el flujo de recursos hacia el parásito. Estudios comparativos de potenciales hídricos entre parásitos y hospedadores en una amplia gama de especies y condiciones ambientales han encontrado que los potenciales de los parásitos tienden a ser más negativos que los de su hospedador (Scholander et al. 1965; Fisher 1983).

Estos potenciales hídricos observados en plantas parásitas están muy comúnmente asociados a altas osmolaridades; típicamente, muchas especies de plantas parásitas poseen altas concentraciones de iones inorgánicos en sus tejidos, particularmente potasio (Lamont 1983; Popp 1987; Pate et al. 1989). La suma de cationes hidrosolubles en hojas de *Viscum album* (Santalales, Santalaceae) se encuentra en el rango entre 300 y 900 mol. m^{-3}, siendo las concentraciones mayores en las hojas más viejas (Popp 1987). Además, altas concentraciones de carbohidratos solubles como el manitol han sido reportadas en parásitos de la familia Orobanchaceae (Nour et al. 1984; Press et al. 1988; Wegmann 1986), las cuales se presume están implicadas en la generación de un gradiente osmótico entre el parásito y el hospedador.

Una observación interesante hecha por Davidson et al. (1989) ha atraído atención al control coordinado de las relaciones hídricas en el sistema parásito-hospedador entre el muérdago *Amyema linophyllum* y su hospedador *Casuarina obesa* (Fagales, Casuarinaceae). Sus resultados indican que el parásito despliega una marcada sensibilidad al estado hídrico de su hospedador, lo que implica que el parásito podría estar respondiendo a señales potencialmente emitidas por la raíz del hospedador.

3.1.2 Capacidad Fotosintética y Transferencia de Carbono desde el Hospedador hacia el Parásito.

La mayoría de plantas parásitas son hemiparásitos con aparatos fotosintéticos funcionales, aunque no necesariamente independientes de sus hospedadores. La eficiencia de fijación de carbono puede variar ampliamente entre especies e intra específicamente, dependiendo de la calidad de los hospedadores y las condiciones ambientales (Cechin & Press 1993, Seel & Press 1994, Radomiljac et al. 1999, Strong et al. 2000, Těšitel et al. 2015).

Las plantas hemiparásitas suelen desplegar tasas de asimilación de carbono relativamente bajas 0.5-5.0 μmol $m^{-2}.s^{-1}$) que se encuentran hacia el extremo menor del rango observado en plantas C_3 (de la Harpe et al. 1981; Press et al. 1987; Shah et al. 1987), y pueden variar desde niveles que apenas exceden el punto de compensación hasta niveles comparables a los de plantas no parásitas.

En algunas especies se ha encontrado que una posible causa de baja actividad fotosintética es la disminuida actividad del fotosistema II en cloroplastos aislados. Estudios de

polipéptidos extraídos de tilacoides han demostrado la presencia de diferencias en la organización de las antenas del fotosistema II entre las antenas de *Striga hermonthica* y otras plantas no parásitas (Salle et al. 1987).

A pesar de la posibilidad de fotosintetizar de forma relativamente eficiente, las plantas hemiparásitas toman carbono orgánico del hospedador en la forma de elementos orgánicos móviles en el xilema (Těšitel et al. 2010, Bell y Adams 2011). Este carbono derivado del hospedador puede terminar contribuyendo sustancialmente a la biomasa del hemiparásito. Sin embargo, la importancia como fuente de energía del carbono obtenido del hospedador parece ser mayor cuando la fotosíntesis propia del hemiparásito es limitada, sea por la competición por luz, o una fotoquímica deficiente causada por estreses como deficiencias nutricionales (Těšitel et al. 2015).

Aunque múltiples estudios han demostrado que existe transporte de carbono hacia el parásito en distintos pares parásito-hospedador, no ha sido la norma determinar cuantitativamente los flujos de esta transferencia. El mecanismo para el transporte de carbono no está bien establecido (Wesselingh et al. 2005) o se desconoce completamente en la mayoría de los casos.

Como se ha observado, el modo de vida hemiparásito exige justificaciones mecanísticas para la obtención de nutrientes por la vía heterotrófica. Ya que hemos confirmado la presencia de relaciones hemiparasíticas en distintos sistemas *C. fissifolia* - hospedador en el área de estudio, esperaríamos que las plantas de *C. fissifolia* que examinamos a continuación posean un perfil de variables ecofisiológicas que permitan la toma de agua y de carbohidratos de sus hospedadores.

3.2. Métodos

Todas las mediciones de intercambio de gases y relaciones hídricas presentadas en este trabajo fueron realizadas en condiciones naturales y en intervalos de aproximadamente una hora entre las 10:00 y 13:00 h, de forma indistinta en días soleados y nublados durante la temporada húmeda correspondiente a los meses de noviembre y diciembre de 2017.

Se ejecutaron además una serie adicional de mediciones correspondientes a la temporada seca del mes de febrero 2018, pero no se pudo acceder a los datos debido a una falla del equipo.

3.2.1. Intercambio de Gases

Siguiendo protocolos estándar (Pérez-Harguindeguy et al. 2013), se midieron: la tasa de asimilación de carbono (A); conductancia estomática (G_s), y las densidades de flujo de fotones fotosintéticamente activos (DFFF) en 6 plantas adultas (mayores a 60 cm de altura) de *C. fissifolia* por sitio, seleccionadas aleatoriamente. Las medidas fueron tomadas en 3 hojas por planta, utilizando un sistema portátil de análisis infrarrojo de gases (Modelo LCA-4, The Analytical Development Co. Ltd. Hoddesdon, Inglaterra).

Los datos promedios que se presentarán en la tabla de resultados corresponden a las mediciones tomadas a valores de DFFF mayores a 1000 µmol $m^{-2}.s^{-1}$ (n=64) donde corresponda. Para los diagramas de dispersión incluimos todas las mediciones tomadas (n=69).

3.2.2. Relaciones Hídricas

Se midieron los potenciales hídricos foliares en campo (ψ) en 20 plantas adultas de *C. fissifolia* mayores a 60 cm de altura, dos veces por planta (n=40), seleccionadas aleatoriamente, utilizando la cámara de presión de Scholander (Modelo 1000, PMS Instruments, Berkshire, Inglaterra).

3.2.3. Análisis de Datos

Los datos se presentan como diagramas de dispersión que permiten apreciar las tendencias generales para cada parámetro con coeficientes de correlación de Pearson calculados para cada par de variables.

Se calcularon valores máximos y promedio con sus respectivos errores estándar para las tasas de asimilación de carbono (A); conductancia estomática (G_s), y la tasa de flujo de fotones fotosintéticamente activos (DFFF) medidas en *C. fissifolia*. Se presentan además los valores mínimos y promedio de potenciales hídricos foliares en campo (ψ) con sus respectivos errores estándar.

La curva de respuesta a la luz presentada se encuentra ajustada a una función hiperbólica rectangular (Landsberg 1977; y = m * (a + x)/(a + x + k)), en donde: y= tasa de asimilación de CO_2 (A), x= DFFF; a= punto de compensación de luz (a=x cuando y=0); m= tasa máxima de asimilación bajo saturación lumínica (A_{max}); k=intensidad lumínica a $A_{max}/2$). La curva presentada en la figura muestra el mejor ajuste a esta ecuación.

3.3. Resultados

3.3.1. Intercambio de Gases

- **Tasa de Asimilación de Carbono (A):** La tasa promedio de asimilación de carbono medida en campo para *C. fissifolia* (n=69) fue de 6.18±1.43 μmol CO_2 $m^{-2}.s^{-1}$, alcanzando un valor máximo de 8.98 μmol CO_2 $m^{-2}.s^{-1}$.

- **Conductancia Estomática (G_s):** La conductancia estomática promedio medida en campo para *C. fissifolia* (n=69) fue de 190±60 mmol $m^{-2}.s^{-1}$, alcanzando un valor máximo de 350 mmol $m^{-2}.s^{-1}$.

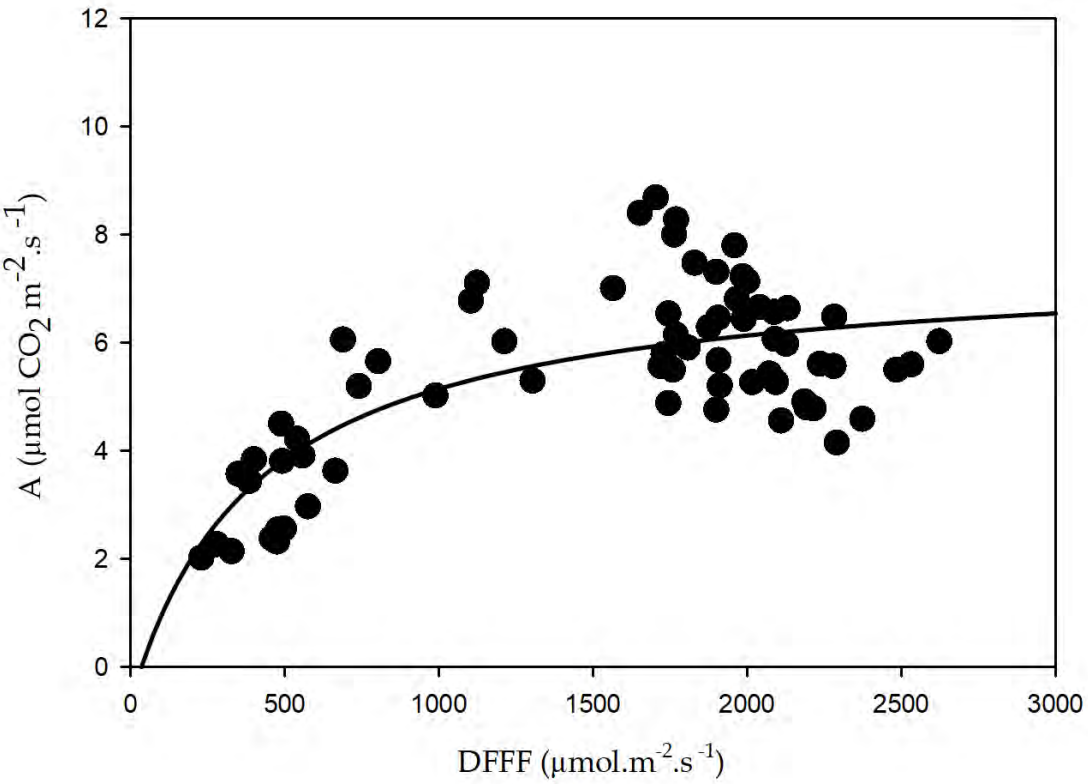

Figura 7. Diagrama de dispersión de tasas de asimilación de carbono (A) de plantas de *C. fissifolia* vs. Densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) (n=69; r^2=0.5540). Datos recolectados entre noviembre y diciembre 2017. La curva de respuesta a la luz presentada se encuentra ajustada a una función hiperbólica rectangular (Landsberg 1977; y = m * (a + x)/(a + x + k)), en donde: y= tasa de asimilación de CO_2 (A), x= DFFF; a= punto de compensación de luz (a=x cuando y=0); m= tasa máxima de asimilación bajo saturación lumínica (A_{max}); k=intensidad lumínica a $A_{max}/2$).

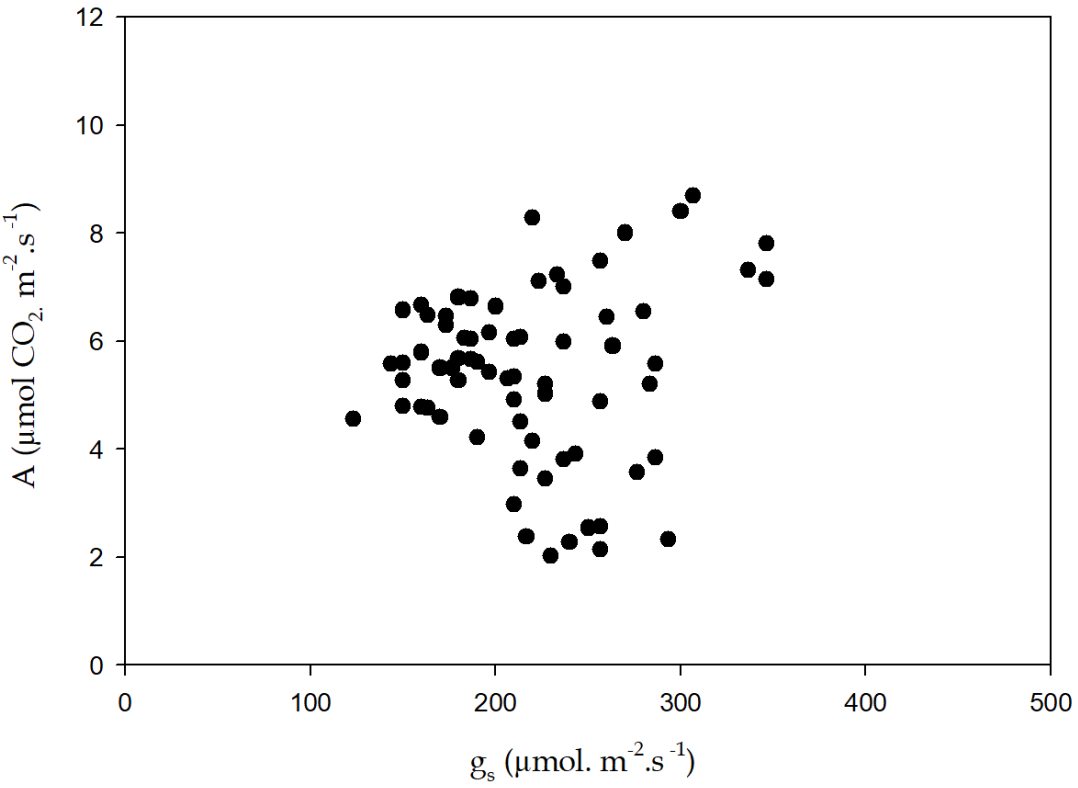

Figura 8. Diagrama de dispersión de tasas de asimilación de carbono (A) vs. conductancias estomáticas (G_s) de plantas de *C. fissifolia* (n=69; r^2=0.0737). Datos recolectados entre noviembre y diciembre 2017.

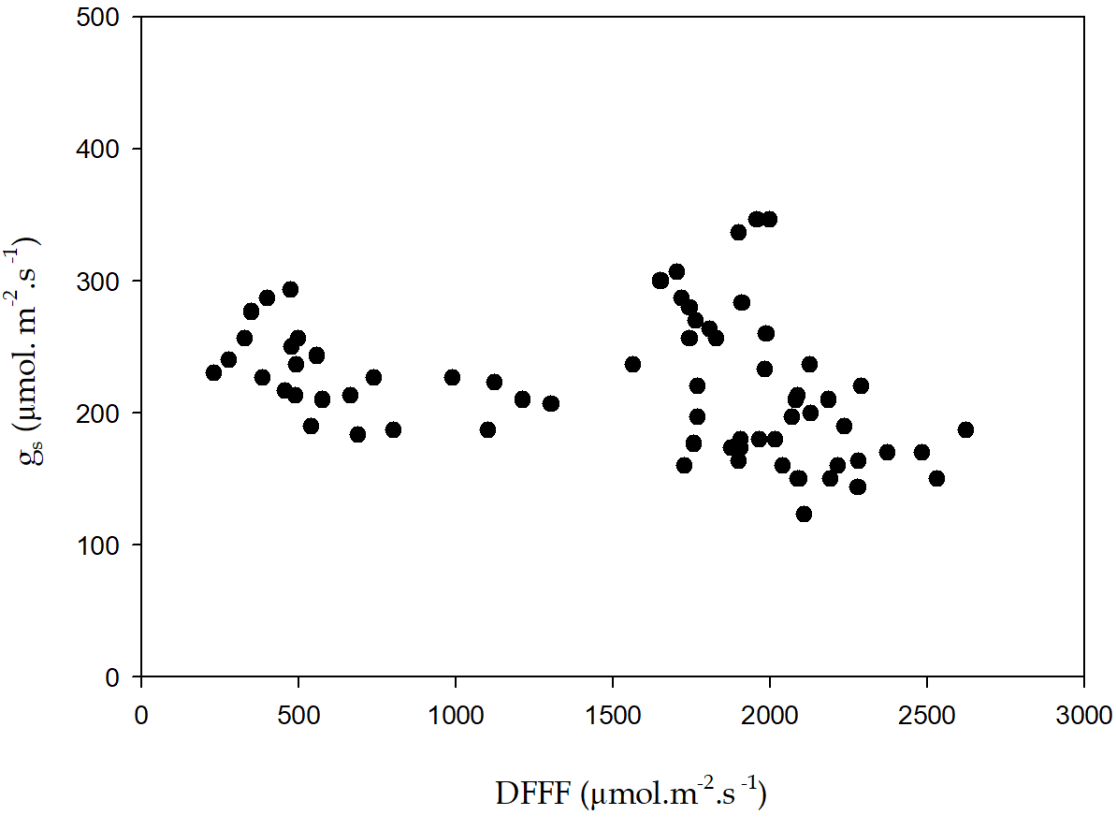

Figura 9. Diagrama de dispersión de conductancias estomáticas (G_s) de plantas de *C. fissifolia* vs. densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) (n=69; r^2=0.0345). Datos recolectados entre noviembre y diciembre 2017.

3.3.2. Relaciones Hídricas

Los potenciales hídricos foliares (ψ) medidos en campo para *C. fissifolia* (n=32) fueron en promedio de -2.18±0.29 MPa, con valores mínimos de -2.7 MPa.

Tabla 3. Valores mínimos, máximos y promedios (sobre 1000 µmol $m^{-2}.s^{-1}$ DFFF donde aplique) de tasas de asimilación de carbono (A), conductancias estomáticas (G_s), potenciales hídricos foliares (ψ) medidas en *C. fissifolia* y densidades de flujo de fotones fotosintéticamente activos (DFFF). Datos recolectados entre noviembre y diciembre 2017.

	Mínimo	***Máximo***	***Promedio***
A (µmol CO_2 $m^{-2}.s^{-1}$)		8,98	6.18±1.43
G_s (mmol $m^{-2}.s^{-1}$)		350	190 ±60
ψ *(*MPa*)*	-2.7	-1.61	-2.01 ±0.18
DFFF (µmol $m^{-2}.s^{-1}$)	1000	2622	1805 ±385

3.4. Discusión

3.4.1. Tasas de Asimilación de Carbono (A) y Obtención de Carbono por la Vía Heterotrófica

Los valores promedio de tasas de asimilación de carbono (6.18±1.43 μmol CO_2 $m^{-2}.s^{-1}$) medidos durante este trabajo revelan que *C. fissifolia* fija carbono por la vía autotrófica a tasas que caen dentro del rango bajo reportado para plantas C_3 (Ducharme et al. 1996) y otras hemiparásitas radiculares ex Scrophulariaceae (Press et al. 1987).

Rada et al. (2021), reportaron resultados similares en el páramo de Gavidia durante la temporada húmeda, donde se encontró que *C. fissifolia* desplegaba los valores de asimilación máxima de carbono más bajos (4.1±0.14 μmol $m^{-2}s^{-1}$) de un total de 18 hierbas y gramíneas examinadas.

La relativamente estable y baja capacidad fotosintética observada en Piedras Blancas para *C. fissifolia* podría deberse a pérdidas de la eficiencia bioquímica de la fijación de carbono, lo cual es una tendencia evolutiva observada en las Orobanchaceae hemiparásitas (Joel et al. 2013) y puede sugerir que esta especie depende de otros mecanismos para suplir sus necesidades de carbono.

El factor limitante para la fijación de carbono en *C. fissifolia* parece no estar relacionado con la disponibilidad de luz, ya que experimentamos una alta incidencia de radiación durante nuestra experiencia, con el 30.43% de nuestras mediciones tomadas sobre valores de DFFF mayores a 2000 μmol $m^{-2}.s^{-1}$ (n=21). Realizamos una pequeña prueba de comparación de

medias entre las mediciones de A entre 1500-2000 µmol $m^{-2}.s^{-1}$ (n=74) y las de 2000-2500 µmol $m^{-2}.s^{-1}$) (n=61), encontrando diferencias significativas entre los valores promedio de A entre los dos grupos (P= <0.001), siendo menor la media de las muestras tomadas por encima de 2000 µmol $m^{-2}.s^{-1}$. Esto podría indicar una posible tendencia hacia la fotoinhibición a radiaciones altas, pero es necesario confirmar esta hipótesis mediante estudios de fluorescencia.

3.4.2. Conductancia Estomática (G_s)

Los valores de G_s promedios obtenidos para *C. fissifolia* en Piedras Blancas (190 ±60 mmol $m^{-2}.s^{-1}$) son menores a los reportados por Rada et al. (2021) en el páramo de Gavidia, en donde *C. fissifolia* mostró la segunda mayor conductancia estomática promedio (277.1±19.0 mmol $m^{-2}.s^{-1}$) de un total de 18 hierbas y gramíneas examinadas, únicamente por debajo de *Agrostis trichodes* (Poales, Poaceae). Las Orobanchaceae holoparásitas de importancia agrícola *Striga hermontica* y *Striga asiatica* poseen conductancias estomáticas en rangos similares de entre los 250 y 500 mmol $m^{-2}.s^{-1}$ (Press et al. 1987).

Las tasas fotosintéticas relativamente bajas observadas para *C. fissifolia* en el sitio de estudio no se deben a limitaciones de disponibilidad lumínica o de conductancia estomática (ver Figuras 7 y 8), ya que *C. fissifolia* parece no ejercer mayor control sobre sus estomas en respuesta a un amplio rango de intensidades de radiación (ver Figura 9), a pesar de la severidad de las condiciones ambientales en Piedras Blancas.

3.4.3. Potenciales Hídricos Foliares (ψ) Medidos en Campo

Los valores mínimos de ψ obtenidos para *C. fissifolia* en Piedras Blancas se encuentran dentro del rango descrito para esta especie en la misma localidad, época de disponibilidad hídrica y piso altitudinal por Ramírez et al. (2015) y Cáceres (2011), pero representan un poco más del doble de los reportados para *C. fissifolia* en el páramo de Gavidia por Rada et al. (2021), los cuales representaron los ψ en campo más negativos de 11 especies de plantas dicotiledóneas examinadas, siendo superada en este aspecto solamente por gramíneas presentes en la localidad.

Estos valores marcadamente negativos de ψ medidos en campo durante nuestra experiencia, son concomitantes con las relativamente altas conductancias estomáticas observadas y ambos mecanismos contribuyen en el mantenimiento de un gradiente de potencial hídrico que facilita el flujo de recursos hacia el parásito. Otro componente importante del mantenimiento de tales gradientes de potencial es la tendencia en Orobanchaceae hemiparásitas a la acumulación de distintos compuestos osmóticamente activos, siendo el manitol uno de los principales en esta familia (Těšitel et al., 2010).

3.4.4. Consideraciones Adicionales Sobre la Ecofisiología de *Castilleja fissifolia* y sus Implicaciones Sobre el Modo de Vida Parasítico

Las variables ecofisiológicas medidas en *C. fissifolia* proveen una explicación mecanística para el modo de vida parasítico, ya que tales condiciones permiten a *Castilleja* mantener un flujo de agua y solutos desde el hospedador hacia el parásito, como ha sido descrito para otras especies de plantas parásitas.

Ducharme et al. (1996) examinaron tasas fotosintéticas anuales promedio de *Castilleja linariifolia* en sistemas parasíticos *C. linariifolia-Artemisia tridentata* encontrando que los individuos de *C. linariifolia* examinados asimilaban carbono por la vía autotrófica a tasas promedio de 18.3 ± 2.1 μmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$ durante el año 1995 en condiciones de laboratorio. Interesantemente, los autores de ese mismo trabajo estimaron mediante el estudio de las proporciones de isótopos de carbono presentes en las hojas de *C. linariifolia*, que estos parásitos derivan en promedio hasta 40% de su carbono foliar por la vía heterotrófica.

C. linariifolia es un sufrútice que crece hasta aproximadamente un metro de altura y posee hojas lineares escasas y trilobadas que alcanzan entre los 20 y 80 mm de longitud. Sus flores consisten de un cáliz rosa, rojo o amarillo con un tubo floral verde-amarillo y están dispuestas en panículos o espigas que se producen en un solo pico de floración entre junio y septiembre en su rango nativo (Heckard 1993).

Esta especie es nativa de pendientes rocosas y en planicies áridas de los estados de Arizona, California, Colorado, Idaho, Montana, New Mexico, Nevada, Oregon, Utah y Wyoming.

Considerando (1) que *C. linariifolia* es una especie perenne de tamaño y hábito muy similar a *C. fissifolia*, (2) que *C. linariifolia* también ocurre en ambientes de baja disponibilidad hídrica, (3) que *C. linariifolia* exhibe un solo pico de floración en su rango natural (Heckard 1993) y (4) la relación entre las tasas de fijación de carbono por las vías autotrófica y heterotrófica presentadas por los autores para esta especie, proponemos la hipótesis de que *C.*

fissifolia deriva proporciones mayores al 40% del carbono que consume a través de la vía heterotrófica en Piedras Blancas, ya que:

1. *C. linariifolia* demuestra tener ingresos mayores de carbono por la vía autotrófica que *C. fissifolia*, puesto que *C. linariifolia* fija carbono por la vía autotrófica a tasas aproximadamente 290% mayores que las obtenidas para *C. fissifolia*.
2. Ambas especies invierten cantidades aproximadamente equivalentes de carbono en biomasa vegetativa, dadas las dimensiones parecidas del vástago en individuos adultos de ambas especies.
3. *C. fissifolia* tiene egresos de carbono mayores que los de *C. linariifolia* en la producción de biomasa reproductiva debido a su disponibilidad floral permanente.
4. *C. fissifolia* produce néctares con concentraciones promedio de carbohidratos mayores en el Páramo de Piedras Blancas (27.57%w/w; n=15; Pelayo, 2017) que las medidas para *C. linariifolia* en su rango nativo (18.7%w/w; n=53 ; Luo et al. 2014).

CONCLUSIÓN

Hemos demostrado que *Castilleja fissifolia* actúa como un hemiparásito no especialista de al menos otras 44 especies de plantas en el sitio de estudio. Además, las respuestas funcionales analizadas, sugieren que *C. fissifolia* no depende de la vía fotosintética para suplir la mayoría de sus requerimientos de carbono y mantiene un estado hídrico que permite mantener un flujo neto de agua y solutos hacia el parásito.

Estos resultados representan el rango de hospedadores más amplio descrito hasta la fecha, para cualquier Orobanchaceae parásita y, estos, aunados a resultados obtenidos por otros investigadores locales, sugieren que *C. fissifolia* es una especie clave de este ecosistema, debido a los importantes impactos que tal organismo causa a distintos niveles tróficos en Piedras Blancas.

REFERENCIAS

1. Adler, L. S. (2003) Host Species Affects Herbivory, Pollination, and Reproduction in Experiments with Parasitic *Castilleja*. *Ecology* 84: 2083-2091.
2. Anderson M.J., Gorley R.N., Clarke K.R. (2008) PERMANOVA+ for PRIMER: a guide to software and statistical methods. PRIMER-E, Plymouth
3. Armas C, Ordiales R, Pugnaire FI (2004) Measuring plant interactions: a new comparative index. *Ecology* 85(10):2682–2686
4. Ataroff, M. y Sarmiento, L. 2003. Las Unidades Ecológicas de los Andes de Venezuela. En: La Marca, E. y Soriano, P. Reptiles de los Andes de Venezuela. Fundación Polar, Conservación Internacional, CODEPRE-ULA, Fundacite Mérida, BIOGEOS. Mérida Venezuela.
5. Azócar, A, y F. Rada. (2006) Ecofisiología de Plantas de Páramo. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas. Facultad de Ciencias. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
6. Bardgett, R.D., Smith, R.S., Shiel, R.S., Peacock, S., Simkin, J.M., Quirk, H. & Hobbs, P.J. (2006). Parasitic plants indirectly regulate below-ground properties in grassland ecosystems. *Nature*, 439, 969–972.
7. Barkman, T.J., McNeal, J.R., Lim, S.H., Coat, G., Croom, H.B., Young, N.D., and dePamphilis, C.W. (2007) Mitochondrial DNA suggests at least 11 origins of parasitism in angiosperms and reveals genomic chimerism in parasitic plants. *BMC Evol. Biol*. 7, 248.

8. Bell, Tina & Adams, M. (2011). Attack on all fronts: Functional relationships between aerial and root parasitic plants and their woody hosts and consequences for ecosystems. *Tree physiology*. 31. 3-15. 10.1093/treephys/tpq108.
9. Bennett JR, Mathews S. (2006) Phylogeny of the parasitic plant family Orobanchaceae inferred from phytochrome A. Am J Bot 93:1039–1051
10. Briceño B., Morillo G. (2002) Catálogo abreviado de las plantas con flores de los páramos de Venezuela. Parte I. Dicotiledóneas (Magnoliopsida). *Acta Bot Venez* 25(1).
11. Cáceres, Y. (2011) Relaciones espaciales y mecanismos de interacción entre un arbusto dominante (*Hypericum laricifolium* Juss) y otras especies de plantas en el páramo Altiandino. Dissertation, Universidad de los Andes
12. Cameron D.D.; White A.; Antonovics J. (2009) Parasite–grass-forb interactions and rock-paper-scissors dynamics: predicting the effects of the parasitic plant *Rhinanthus minor* on host plant communities. *J Ecol* 97:1311–1319
13. Cechin I., Press M.C. (1993) Nitrogen relations of the sorghum - *Striga hermonthica* host-parasite association: growth and photosynthesis. *Plant, Cell & Environment 16*: 237–247. http://dx. doi.org/10.1111/j.1365-3040.1993.tb00866.x
14. Coetzee J.F. Finneran B.A. (1987) The apoplastic continuum, nutrient absorption, and plasma tubules in the dwarf mistletoe *Korthalsella lindsayi* (Viscaceae). *Protoplasma* 136:145–153
15. Coûteaux, M.M. Sarmiento, L. Bottner, P. Acevedo, D. y Thiéry, J.M. (2002) Decomposition of standard plant material along an altitudinal transect (65-3968 m) in the tropical Andes. *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 69-78.

16. Davidson, N. J., True, K. C., Pate, J. S. (1989) Water relations of the parasite: host relationship between the mistletoe *Amyema linophyllum* (Fenzl) Tieghem and *Casuarina obesa* Miq. *Oecologia.* In press.
17. de Candolle A.P. (1813) Théorie élémentaire de la botanique. Déterville, Paris
18. de Pamphilis CW, Palmer JD (1990) Loss of photosynthetic and chlororespiratory genes from the plastid genome of a parasitic flowering plant. *Nature* 348:337–339.
19. Dobbins D.R. Kuijt J. (1973a) Studies on the haustorium of *Castilleja* (Scrophulariaceae). I. The upper haustorium. *Can J Bot* 51:917–922
20. Dobbins D.R. Kuijt J. (1973b) Studies of the haustorium of *Castilleja* (Scrophulariaceae). II. The endophyte. *Can J Bot* 51:923–931
21. Ducharme LA. and Ehleringer JR. (1996). Gas exchange, $\Delta^{13}C$, and heterotrophy for *Castilleja linariifolia* and *Orthocarpus tolmiei*, facultative root hemiparasites on Artemisia tridentata. *The Great Basin Naturalist*. Vol. 56, No. 4 (31 October 1996), pp. 333-340
22. Finneran B.A. Hocking P.J. (1983) Features of parasitism, morphology, and haustorial anatomy in Loranthaceous root parasites. In: Calder M, Bernhardt P (eds) *The biology of mistletoes*. Academic, Sidney, pp 205–227.
23. Fisher, J. T. (1983). Water relations of mistletoes and their hosts. In The Biology of Mistletoes, ed. D. M. Calder, P. Bernhardt , pp. 161-83. New York: Academic
24. Goldstein, G., Rada, F., Sterngerg, L. Burguera, 1. L. , Burguera, M., et al. 1989. Gas exchange and water balance of a mistletoe species and its mangrove hosts. *Oecologia.* In press

25. Govier R., Nelson D., Pate S, (1967) Hemiparasitic nutrition in angiosperms. *New Phytol. New Phytologist.* 66. 10.1111/j.1469-8137. 1967. tb06006. x.

26. de la Harpe, A. L. Visser, J. H. Grobbelaar, N. (1981) Photosynthetic characteristics of some South African parasitic flowering plants. *Z. Pflanzenphysiol.* 103:265-75

27. Heckard, LR (1993) UC/JEPS: Jepson Manual treatment for *Castilleja linariifolia*. The University and Jepson Herbaria, University of California, Berkeley. Retrieved 2008-04-08.

28. Heide-Jørgensen H.S,. Kuijt J. (1995) The haustorium of the root parasite *Triphysaria* (Scrophulariaceae), with special reference to xylem bridge ultrastructure. *Am J Bot* 82:782–797

29. Hibberd JM, Bungard RA, Press MC, Jeschke WD, Scholes JD, Quick WP (1998) Localization of photosynthetic metabolism in the parasitic angiosperm *Cuscuta reflexa*. *Planta* 205:506–513.

30. Irving L.J., Cameron D.D. (2009) You are what you eat: interactions between root parasitic plants and their hosts. *Adv Bot Res* 50:87–138.

31. Joel, D. M., Gressel, J., & Musselman, L. J. (2013). Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and control strategies. Heidelberg: Springer.

32. Körner C.H., Larcher W. (1988) Plant life in cold climates. *Symp Soc Exp Biol* 42:25–57 [1, 3, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 14]

33. Körner C (1999) Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystems. Springer-Verlag. Berlin. Germany.

34. Kuijt J. (1969) The biology of parasitic flowering plants. University of California Press, Berkeley

35. Kuijt J. Dobbins D.R. (1971) Phloem in the haustorium of *Castilleja* (Scrophulariaceae). *Can J Bot* 49:1735–1737

36. Lamont, B. (1983) Mineral nutrition of mistletoes. In The Biology of Mistletoes. ed. D. M. Calder, P. Bernhardt, pp. 1 85-204. New York: Academic

37. Landsberg J.J. (1977). Some useful equations for biological studies. *Experimental Agriculture* 13:273-286.

38. Luo E.Y. Ogilvie J.E. Thomson J.D. (2014) Stimulation of Flower Nectar Replenishment by Removal: A Survey of Eleven Animal-Pollinated Plant Species. *Journal of Pollination Ecology*, 12(7), pp 52-62

39. Malagón D (1982) Evolución de los suelos en el páramo andino. CIDIAT. Mérida, Venezuela.

40. Malécot V, Nickrent DL (2008) Molecular phylogenetic relationships of Olacaceae and related Santalales. *Syst Bot* 33:97–106.

41. Monasterio, M. 1979. El Páramo Desértico en el altiandino de Venezuela. En: Salgado-Labouriau, M.L. (Ed). El Medio Ambiente Páramo. Ediciones del CIET-IVIC/MAB-UNESCO. Caracas. Pp. 117-146.

42. Monasterio M. (1980a) Los páramos andinos como región natural. Características biogeográficas generales y afinidad con otras regiones andinas. In: Monasterio M (ed) Estudios ecológicos en los páramos andinos. Universidad de Los Andes, Mérida, pp 15–27

43. Monasterio M. (1980b) Las formaciones vegetales de los páramos de Venezuela. In: Monasterio M. (ed) Estudios ecológicos en los páramos andinos. Universidad de Los Andes, Mérida, pp 93–158

44. Montes E. Sandoval-Zapotitla E. Bermúdez Torres K. Trejo-Tapia G. (2015). Potential hosts of *Castilleja tenuiflora* (Orobanchaceae) and characterization of its haustoria. *Flora -Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants.* 214. 10.1016/j.flora.2015.05.003.

45. Musselman L.J., Mann W.F. (1978) Root parasites of southern forests. Forest Service, USDA. *General Technical Report* SO-20

46. Neumann U. Vian B. Weber H.C. Sallé G. (1999) Interface between haustoria of parasitic members of the Scrophulariaceae and their hosts: a histochemical and immunocytochemical approach. *Protoplasma* 207:84–97

47. Nickrent DL, Malécot V, Vidal-Russell R, Der JP (2010) A revised classification of Santalales. *Taxon* 59:538–558.

48. Norton, D.A. and M.A. Carpenter. (1998) Mistletoes as parasites: host specificity and speciation. *Trends Ecol. Evol.* 13:101–105.

49. Nour, J. 1. Todd, P. Yaghmaie, P. Panchal. G. Stewart. G. R. (1984). The role of mannitol in *Striga hermonthica*. See Ref. 68, pp. 81-89

50. Olmstead, R.G., dePamphilis, C.W., Wolfe, A.D., Young, N.D., Elisons, W.J., and Reeves, P.A. (2001). Disintegration of the scrophulariaceae. Am. J. Bot. 88, 348–361.

51. Parker, C. (2009). Observations on the current status of *Orobanche* and *Striga* problems worldwide. *Pest Manag. Sci.* 65, 453–459.

52. Pate, J. S., Kuo, J., Davidson, N. J. (1989) Morphology and anatomy of the haustorium of the root hemiparasite *Olax phyllanthi* (Labill.) R. Br. (Olacaceae), with special reference to the haustorial interface. *Ann. Bot.* In press

53. Pelayo, R.C. (2017) Implicaciones ecológicas y evolutivas del robo de néctar en ecosistemas neotropicales venezolanos. Tesis Doctoral, Universidad de VIGO, España.

54. Pennings, S.C. & Callaway, R.M. (2002) Parasitic plants: parallels and contrasts with herbivores. *Oecologia*, 131, 479–489.

55. Pérez, F.L. (1991) Soil moisture and the distribution of giant Andean rosettes on talus slopes of a desert paramo. *Climate Research*. 1: 217-231.

56. Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., et al. (2013). New handbook for standardized measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot*. 61, 167–234. doi: 10.1071/BT12225.

57. Piehl M.A. (1963) Mode of attachment, haustorium structure, and hosts of *Pedicularis canadensis*. *Am J Bot* 50:978–985

58. Popp, M. (1987) Osmotica in *Amyema miquelii* (Lehm. ex Mig.) Tieghem. and *Amyema pendulum* (Sieber ex Sprengel) Tieghem, (Loranthaceae) on different hosts. See Ref. 1 07, pp. 62 1-30

59. Press, M.C. Tuohy, J. M., Stewart, G. R. (1987) Gas exchange characteristics of the sorghum-Striga host-parasite association. *Plant Physiol.* 84:814--19

60. Press M.C. Graves J.D. Stewart G.R. (1988) Transpiration and carbon acquisition in root hemiparasitic angiosperms. *J Exp Bot* 39:1009–1014

61. Press, M. C. (1998) Dracula or Robin Hood? A functional role for root hemiparasites in nutrient-poor ecosystems. *Oikos* 82: 609–611.

62. Press, MC, & Phoenix, GK (2005). Impacts of parasitic plants on natural communities. *New phytologist*, Wiley Online Library

63. Quested, H.M. (2008). Parasitic plants – impacts on nutrient cycling. *Plant and Soil*, 311, 269–272.

64. Rada F., Sarmiento L., García-Varela S. (2021) Plant functional traits along an old-field succession in the high tropical andes. *Acta Oecol.* 111 (2021) 103738.

65. Radomiljac A., Mccomb J. Pate J. (1999) Gas exchange and water relations of the root hemi-parasite *Santalum album* L. in association with legume and non-legume hosts. *Annals of Botany* 83: 215–224. http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1998.0815

66. Ramírez, L.A., Rada, F. & Llambí, L.D. (2015) Linking patterns and processes through ecosystem engineering: effects of shrubs on microhabitat and water status of associated plants in the high tropical Andes. *Plant Ecol* 216, 213–225. https://doi.org/10.1007/s11258-014-0429-5

67. Raven, J.A. (1983) Phytophages of xylem and phloem: a comparison of animal and plant sap-feeders. *Adv. ecol. Res.* 13, 135-234.

68. Rumer S. Cameron D.D. Wacker R. Hartung W. Jiang F. (2007) An anatomical study of the haustoria of Rhinanthus minor attached to roots of different hosts. *Flora* 202:194–200

69. Salle, G. Dembele, B. Raynal Roques, A. Hallais, M. F. (1987) Biological aspects of Striga species, pest of food crops (Scrophulariaceae), pp. 719-3 1

70. Samira Ismael, E & Souza, Vinicius & Appezzato-da-Glória, B. (2001). Anatomical confirmation of root parasitism in Brazilian *Agalinis* Raf. species (Scrophulariaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 44. 10.1590/S1516-89132001000300013.
71. Sarmiento, G. (1986) Ecologically crucial features of climate in high tropical mountains. En: Vuilleumier, F., Monasterio, M. (Eds): *High Altitude Tropical Biogeography*, Oxford University Press, Oxford, pp. 11-45
72. Seel W., Press M.C. (1994) Influence of the host on three sub-Arctic annual facultative root hemiparasites. II. Gas exchange characteristics and resource use-efficiency. *New Phytologist* 127: 37–44. http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb04257.x
73. Scholander, P. F., Hammel, H. T., Bradstreet, E. D., Hemmingson, E. A. (1965) Sap pressure in vascular plants. Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* 148:339-46
74. Shah, N., Smirnoff, N., Stewart, G.R., (1987) Photosynthesis and stomatal characteristics of *Striga hermonthica* in relation to its parasitic habit. *Physiol. Plant* 69:699-703
75. Strong G.L., Bannister P., Burritt D. (2000) Are mistletoes shade plants? CO2 assimilation and chlorophyll fluorescence of temperate mistletoes and their hosts. *Annals of Botany* 85: 511– 519. http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1999.1098
76. Spasojevic, M. J., and K. N. Suding. (2010). Contrasting effects of hemiparasites on ecosystem processes: can positive litter effects offset the negative effects of parasitism? *Oecologia* 165: 193-200
77. Tank D.C. Olmstead R.G. (2008) From annuals to perennials: phylogeny of subtribe Castillejinae (Orobanchaceae). *Am J Bot* 95:608–625

78. Těšitel, J. Plavcova, L. Cameron, D. (2010). Interactions between hemiparasitic plants and their hosts: The importance of organic carbon transfer. *Plant signaling & behavior*. 5. 1072-6. 10.4161/psb.5.9.12563.

79. Těšitel J., Těšitelová T., Fisher J.P., Lepš J., Cameron D.D. (2015) Integrating ecology and physiology of root-hemiparasitic interaction: interactive effects of abiotic resources shape the interplay between parasitism and autotrophy. *New Phytologist* 205: 350–360. http://dx.doi.org/10.1111/nph.13006

80. Thorne RF (2002) How many species of seed plants are there? *Taxon* 51:511–512

81. Ullmann, I., Lange, O. L., Ziegler, H., Ehleringer, J. R. , SchUlze, E.-D., Cowan, I. R. (1985). Diurnal courses of leaf conductance and transpiration of mistletoes and their hosts in central Australia. *Oecologia* 67:577-87

82. Weber HC (1976) Über Wirtspflanzen und Parasitismus einiger mitteleuropäischer Rhinanthoideae (Scrophulariaceae). *Plant Syst Evol* 125:97–107.

83. Weber HC (1993) Parasitismus von Blütenpflanzen. *Wissenschaftliche Buchgesellschaft*, Darmstadt.

84. Wegmann, K. (1986). Biochemistry of osmoregulation and possible biochemical reasons for resistance against Orobanche.

85. Wesselingh R.; van Groenendael J. (2005). The biology of non-weedy hemiparasitic Orobanchaceae: Synthesis and perspectives. *Folia Geobotanica*. 40. 311-318. 10.1007/BF02803242.

86. Young, N.D., Steiner, K.E., and de Pamphilis, C.W. (1999). The evolution of parasitism in Scrophulariaceae/Orobanchaceae: Plastid gene sequences refute an evolutionary transition series. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 86, 876–893.