

Predación de semillas de *Acacia aroma* por el brúchido *Pseudopachymerina grata* en función de la posición de las semillas y el número de semillas por vaina

Marcelo A. Aizen

Department of Foresoy and Wildlife Management, University of Massachusetts, Aniherst, MA 01003, USA.

Resumen. *Acacia aroma* posee vainas tonilosas cuyas semillas son predadas por las larvas del brúchido *Pseudopachymerina grata*. En la pared de la vaina, la presencia y posición (con respecto a los extremos basal y estilar) de un orificio de salida perforado por el adulto emergente, evidencia la presencia y posición de una semilla predada. Se estudiaron el número y la distribución de dichos orificios de salida en vainas con distinto número de semillas. Cuando fueron recolectadas, las vainas poseían en promedio 0.4 orificios/vaina y en aquellas que presentaron 1 orificio de salida, éste se halló con mayor frecuencia en la mitad basal. Luego de un año de almacenamiento, las vainas poseían en promedio 4 orificios/vaina y no se observó ninguna diferencia significativa entre la mitad basal y estilar en el número total de orificios. Estos resultados sugieren que, en condiciones naturales, *P. grata* tiende a preda diferencialmente las semillas de la mitad basal de los frutos, las cuales son ligeramente más pesadas que las de la mitad estilar. La presencia de una mayor proporción de restos de huevos en posiciones basales que estilares apoya esta hipótesis. Otra tendencia indica que el porcentaje de semillas predadas aumenta con el número de semillas empaquetadas en una misma vaina. Este factor podría explicar, en parte, el hecho de que la mayoría de las vainas de *A. aroma* contengan un número menor de semillas que el máximo posible.

Abstract. *The torulose, indehiscent pods of Acacia aroma* contain seeds that are preyed upon by larvae of the bruchid beetle *Pseudopachymerina grata*. The presence and position (relative to base of pod) in the pod wall of an adult exit hole reveals the presence and position of a preyed seed. In August 1989, a sample of 7800 pods were collected from 42 shrubs near Vipos, Tucumán, Argentina. The number and distribution of exit holes in pods containing different numbers of seeds were recorded. At the time of collection, pods had an average of 0.4 exit holes/pod. Among those pods having 1 exit hole, holes occurred more frequently (60%) on the basal half than on the stilar half. After being stored for about 1 year, with free access provided to several generations of adult beetles, pods exhibited an average of 4 exit holes/pod with no significant difference in the proportion of exit holes between basal and stilar halves. These results suggest that under natural conditions *P. grata* preys differentially on seeds occupying basal positions, which are slightly heavier than stilar seeds (78 vs. 71 rag). The presence of a larger proportion of egg shell remnants at basal positions than at stilar positions also supports the differential predation hypothesis. The number of seeds per pod varied between 1 and 16 with an average of 7.4 seeds. The percentage of seeds preyed upon increased with number of seeds/pod. This trend could explain, at least in part, why most *A. aroma* contain a much smaller number of seeds than the maximum they could mature.

Introducción

En las angiospermas existe una enorme diversidad morfológica, fenológica y química de tipos de frutos y semillas. Muchas de estas diferencias representan claras adaptaciones a distintos modos de dispersión, que en muchos casos involucran a animales mutualistas (van der Pijl 1972). Menos obvio y menos estudiado es el papel de las interacciones antagonistas entre plantas y animales en la evolución de distintos rasgos de los frutos y las semillas.

Los coleópteros de la familia Bruchidae se han especializado como predadores de semillas, particularmente de leguminosas (Janzen 1969, 1980, Center and Johnson 1974). En esta familia de plantas la predación de semillas por parte de los brúchidos ha sido postulada como una importante fuerza selectiva que ha moldeado dos estrategias reproductivas (i.e., producción de pocas semillas grandes con alto contenido de compuestos secundarios, y producción de numerosas semillas pequeñas con bajo contenido de compuestos secundarios), así como otras características de las semillas y los frutos (Janzen 1969, Green and Palmbald 1975, Mitchell 1977). Buena evidencia de que la evolución de ciertos rasgos reproductivos pudo haber ocurrido bajo la presión de selección de predadores de semillas, constituye el hecho de que procesos selectivos parecen estar ocurriendo en el presente. Por ejemplo, el porcentaje de semillas destruidas por brúchidos en vainas de *Cercidium floridum* con 3 o más semillas es mayor que en vainas con 1 o 2 semillas (Mitchell 1977). La mayoría de las vainas que maduran en *C. floridum*, contienen efectivamente 1 o 2 semillas.

En este trabajo investigo la existencia de predación selectiva por parte del brúchido *Pseudopachymyrmica grata* Terán, en semillas de *Acacia aroma* Gill ap. H. et A. Dos variables son analizadas: posición de la semilla dentro de la vaina y número de semillas empaquetadas por vaina.

Las leguminosas contienen semillas distribuidas en forma lineal con respecto a un polo basal y otro estilar. Dentro de una especie, la probabilidad de aborto y el tamaño de las semillas suelen variar en forma más o menos predecible de acuerdo a la posición de las mismas dentro de la vaina (Schaal 1980, Bawa y Webb 1984, Lee y Bazzaz 1986, Nakamura 1988). A su vez, el tamaño de una semilla puede influir en el desarrollo larval, y en el tamaño y futuro éxito reproductivo del brúchido emergente (Janzen 1969, Mitchell 1975, A. Terán com. pers.). *P. grata* no podría evaluar el tamaño de las semillas de *A. aroma* directamente, ya que estas se encuentran dentro de una vaina indehiscente, por lo tanto la posición de las mismas podría constituir un indicador indirecto del tamaño. El número de semillas/vaina en *A. aroma* es muy variable. Vainas con un alto número de semillas representan una fuente de recursos concentrados a la cual *P. grata* podría responder selectivamente.

Materiales y Métodos

A. aroma es un arbusto o arbolito que produce vainas torulosas lignificadas que pueden contener de 1 a 16 semillas. El tamaño de la vaina es proporcional al número de semillas que contiene. En la localidad de Vipos, Tucumán, donde vainas de esta acacia fueron recolectadas, las mismas maduran a partir de marzo pudiendo ser retenidas por más de un año, aunque la mayoría son dispersadas para fines de agosto.

El ciclo de vida de *P. grata* es característico de la familia (A. Terán, com. pers.). La hembra ovíparita sobre las vainas maduras de *A. aroma*, el huevo eclosiona, la larva perfora la pared de la vaina y entra en una semilla pasando por varias mudas mientras crece alimentándose del contenido seminal. Luego de empupar dentro de la semilla, el adulto abandona la vaina dejando una típica y conspicua perforación de salida en la pared de la vaina. Aparentemente, un solo brúchido emerge por semilla. Debido a que las semillas de esta leguminosa están separadas por estrangulaciones del pericarpio, estos orificios indican la presencia y posición, con respecto a los extremos basal y estilar, de la semilla predada. El ciclo de vida dura alrededor de 30 días. Al

menos en el laboratorio, un indefinido número de generaciones pueden sucederse mientras existan en las vainas semillas sin predar.

A principios de agosto de 1989, fueron recolectadas un total de 7800 vainas de 42 arbustos distribuidos a lo largo de la antigua ruta Tucumán-Salta, entre las localidades de Tapia y Vipos. Con la excepción de un adulto del género *Stator* (probablemente un transeúnte), todos los brúchidos encontrados sobre las vainas de *A. aroma* (alrededor de 60) pertenecieron a la especie *P. grata*. En el laboratorio todos los nuevos brúchidos emergentes se identificaron como *P. grata*, confirmando ser, si no el único, el principal brúchido predador de *A. aroma* (al menos en ese sitio y en ese año).

Las vainas fueron examinadas durante la semana posterior a ser colectadas. La presencia y número de orificios de salida, y el número total de semillas (estimado externamente por el número de constricciones) fueron registrados para cada vaina. La posición de la semilla predada (posición 1 se definió a la del extremo banal) fue registrada en todas las vainas que poseían un solo orificio de salida y contenían al menos dos semillas. La posición de todos los orificios de salida de una submuestra azarosa de estas mismas vainas fue registrada nuevamente en junio de 1990, luego que fueron predadas por varias generaciones de brúchidos durante el período de almacenamiento. En este segundo muestreo se registraron las posiciones que presentaban restos de huevos adheridos al pericarpio.

El peso fresco de semilla fue usado como un estimador del tamaño de las mismas. Un total de 334 semillas provenientes de vainas no predadas de 5 individuos fueron pesadas con una balanza de precisión de ± 1 mg. La posición de las mismas y el tamaño de la vaina (=número de semillas/vaina) de donde provenían fue registrado. Las vainas, incluyendo el pedúnculo, fueron pesadas previamente a la extracción de las semillas. La inversión de biomasa en pericarpio por semilla, o costo de empaquetamiento (B), fue calculada como

$$B = \frac{\text{peso total de la vaina} - \text{peso total de semillas}}{\text{de sencillas/vaina}}$$

Para gran parte de los análisis estadísticos, las semillas fueron agrupadas de acuerdo a su ubicación, ya sea en la mitad basal o en la mitad estilar. Por ejemplo, en una vaina con 2 semillas (tamaño 2), la posición 1 fue catalogada como basal y la 2 estilar; en una de tamaño 6 las posiciones 1, 2 y 3 fueron consideradas basales y las 4, 5 y 6 estilares. La posición media de las vainas con un número impar de semillas no fue considerada basal ni estilar, y en consecuencia no considerada en este tipo de análisis.

Resultados

El porcentaje de semillas predadas (estimado a través de los orificios de salida) al momento de ser colectadas varió entre el 0.5 y el 18% para distintos arbustos (media 5.6%, SD=3.9%, n=42) con un promedio de 0.4 orificios/vaina. Se debe aclarar que estos valores son subestimaciones del total de semillas predadas tomando en cuenta que (1) pudo haber adultos que no hubieran emergido para la fecha en que las vainas fueron colectadas, (2) una o varias generaciones posteriores de brúchidos podrían haberse sucedido en ellas en el campo, y (3) muchos brúchidos suelen morir dentro de las semillas antes de haber completado su desarrollo (e.g. Mitchell 1975). Luego de un año de almacenamiento el porcentaje de semillas predadas fue estimado en 53% lo que representó un promedio de 4 orificios/vaina.

Al tiempo de coleccionar las vainas, las mitades basales presentaron, en total, un mayor número de orificios de salida que las estilares (Tabla 1), tendencia que fue consistente en vainas de distinto tamaño (Fig. 1). Las diferencias entre el número de orificios basales y estilares disminuyeron luego de un año (Tabla 1 y Fig. 1). Restos de huevos fueron encontrados, también, en mayor proporción en posiciones banales que estilares (Tabla 1 y Fig. 1). Asociado a este patrón de

Tabla 1. Diferencias entre posiciones basales y estilares en cuanto al número de orificios de salida y presencia de restos de huevos.

Table 1. Differences in number of exit holes and presence of egg shell remnants between basal and stilar seed positions.

	# de vainas observadas	mitad basal : mitad estilar	basal/estilar	χ^2	P
Orificios 8/89	1430	766:518	1.48	47.9	0.0001
Orificios 6/90	444	832:772	1.08	2.2	0.1
Restos de huevo	356	532:432	1.23	10.4	0.005

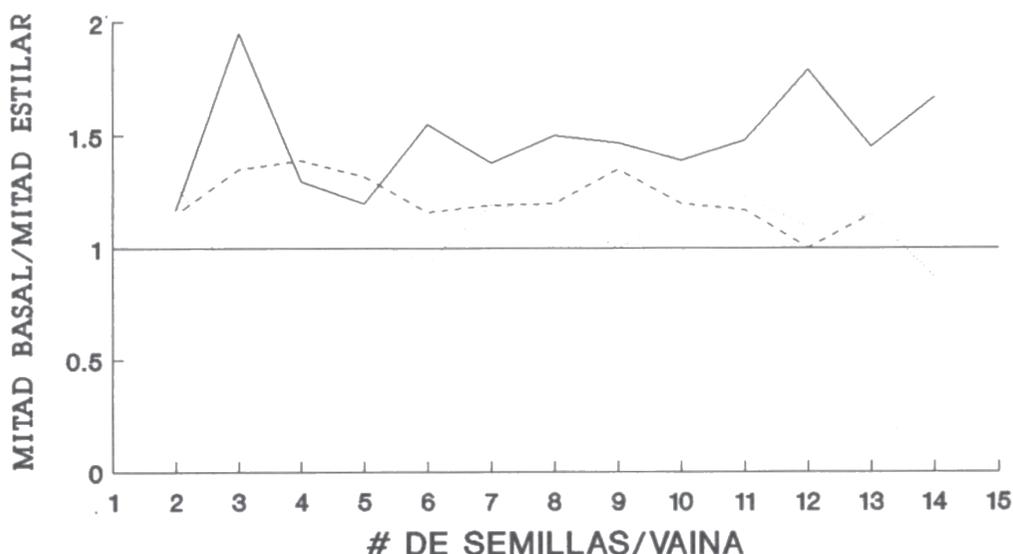


Fig. 1. Relación entre la mitad basal y la estilar con respecto al número total de orificios de salida en agosto 1989 (línea continua), junio 1990 (línea punteada) y presencia de restos de huevos (línea quebrada) de *P. grata* en vainas de *A. aroma* con distinto número de semillas. Las cantidades de vainas observadas para cada categoría de semillas/vaina (de 2 a 14) son las siguientes: 37, 53, 98, 120, 158, 184, 193, 141, 143, 102, 95, 64, 32 (orificios de salida en agosto 1989); 10, 18, 40, 50, 46, 41, 61, 54, 37, 23, 39, 22, 11 (orificios de salida en junio 1990); 17, 38, 38, 42, 35, 53, 41, 48, 31, 11, 14, 12 (restos de huevos).

Fig. 1. Ratio basal half/stilar half of total number of exit holes of *P. grata* recorded in August 1989 (continuous line), those recorded in the same pods in June 1990 (dotted line), and egg shell remnants in June 1990 (dashed line) versus seed number/pod in *A. aroma*. Sample sizes for each category (2-14 seeds/pod): 37, 53, 98, 120, 158, 184, 193, 141, 143, 102, 95, 64, 32 (August 1989 exit holes); 10, 18, 40, 50, 46, 41, 63, 54, 37, 23, 39, 22, 11 (June 1990 exit holes); 17, 38, 38, 42, 35, 53, 41, 48, 31, 11, 14, 12 (egg shell remnants).

predación diferencial, se encontró que las semillas de la mitad basal fueron en promedio más pesadas que las de la mitad estilar (media =78.1 mg, SD =14,1, n=149 vs. media =70.6, SD =18.6, n=145). Esta diferencia es altamente significativa (Kruskal-Wallis $X^2=11.75$, $P<0.001$).

Alrededor del 63% de las vainas de *A. aroma* analizadas contuvieron entre 5 y 10 semillas (Fig. 2), con un promedio de 7.4 semillas/vaina. El número de semillas maduras/fruto es, en general, menor que el número de óvulos (típicamente entre 12 y 17 óvulos/flor, obs. pers.). El porcentaje de semillas predadas aumentó con el número de semillas/vaina (Fig. 2; Spearman $r=0.89$, $P<0.0001$). Sin embargo, no se encontró ninguna tendencia significativa en el costo de empaquetamiento/semilla (Fig. 2; Spearman $r=0.29$, $P>0.35$) ni en el peso medio de semilla

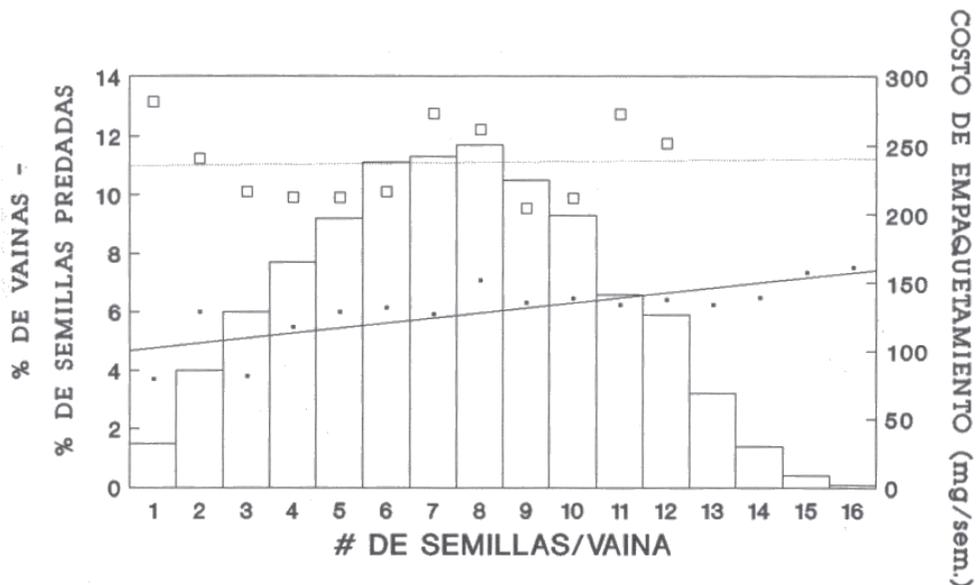


Fig. 2. Histograma porcentual de vainas de *A. aroma* con distinto número de semillas ($n=7800$ vainas). En torma superpuesta se ha graficado (cuadrados rellenos) el porcentaje promedio de semillas Predadas por *P. grata* en cada categoría (cada valor representa el promedio de 42 individuos muestrados) y (cuadrados vacíos) el costo de empaquetamiento en términos de biomasa de pericarpio/semilla (los tamaños de muestra para vainas con 1 a 12 semillas fueron respectivamente: 2, 11, 12, 13, 13, 6, 6, 8, 4, 2, 5, y 5 vainas). La recta de regresión del % de semillas predadas (línea continua) es $y=4.3+0.19x$ ($r^2=0.69$) y del costo de empaquetamiento/semilla (línea punteada) es $y=5.4+0.005x$ ($r^2=0.001$).

Fig. 2. Histogram of percentages of pods containing different number of seeds ($n=7800$ pods), overlaid by (solid squares) the average percentage of seeds preyed upon by *P. grata* in each category (each value represents an average drawn from 42 sampled individuals) and by (open squares) the packaging cost in terms of pericarp biomass/seed (sample sizes for 1-to-12 seeded pods were respectively: 2, 11, 12, 13, 13, 6, 6, 8, 4, 2, 5, and 5 pods). Regression lines are for the % of seeds preyed upon (continuous line), $y=4.3+0.19x$ ($r^2=0.691$), and for the packaging cost (dotted line), $y=5.4+0.005x$ ($r^2=0.001$).

(Spearman $r=-0.11$, $P>0.40$).

Discusión

Predación dependiente de la posición de la semilla

La supervivencia y futuro éxito reproductivo de un individuo brúchido depende de la semilla que ha sido seleccionada por su madre. En brúchidos que ovipositan directamente sobre semillas, las hembras tienden a evitar aquellas que ya contienen uno o más huevos adheridos (Mitchell 1975, Wright 1983) y a seleccionar las semillas de mayor tamaño (Mitchell 1975, y otras referencias citadas allí). Los resultados de este trabajo sugieren que un brúchido puede ser selectivo con respecto al tamaño de la semilla, aunque éste deba ovipositar sobre la pared de una vaina multiseminada. Aparentemente, *P. grata* tiende a ovipositar y preñar diferencialmente las semillas de la zona basal de las vainas de *A. aroma* que son ligeramente más pesadas que las de la zona estilar. La ausencia de diferencias en el número de orificios entre la zona basal y estilar en junio de 1990, se debería al hecho de que luego de varias generaciones de brúchidos, sólo quedaría un pequeño número de semillas - tanto basales como estilares - sin preñar. Esto disminuiría las oportunidades de predación selectiva.

¿Es la Predación dependiente de la posición adaptativa para *P. grata*? Para poder contestar esta pregunta se deberían evaluar la supervivencia y futuro éxito reproductivo de un brúchido en

función del tamaño de la semilla. Actualmente estoy conduciendo experimentos para poder establecer relaciones entre estas variables y el tamaño de semilla aprovechando el hecho de que las hembras de *P. grata*, en cautiverio, ovipositan directamente sobre las semillas de *A. aroma* (Terán 1990).

Se debería aclarar que la existencia de predación dependiente de la posición no implica necesariamente que la posición *per se* sea utilizada por el brúchido como un indicador del tamaño de la semilla. La predación dependiente podría resultar si las hembras arribaran a la vaina por el pecíolo y comenzaran a ovipositar sobre las semillas más próximas (o sea las basales).

La predación selectiva de semillas de mayor tamaño, aún en vainas indehiscentes, argumenta a favor de la hipótesis de Janzen (1969) de que muchas especies de leguminosas pudieron haber evolucionado hacia la producción de semillas de tamaño pequeño bajo la presión selectiva de los brúchidos. Para saber si esto ha sucedido en el caso específico de *A. aroma*, se necesita establecer previamente si existe una relación entre predación y tamaño de semilla entre individuos.

Predación dependiente del número de semillas/vaina

El éxito reproductivo de una hembra brúchido depende, en parte, de cuantos huevos deposita a lo largo de su corta vida, que en general es de pocos días. La preferencia de vainas con alto número de semillas por parte de las hembras les permitiría maximizar el número de huevos depositados por semilla disponible, minimizando costos de búsqueda de nuevas vainas y riesgos de ser predadas. Aunque el patrón que se ha encontrado con respecto a la distribución de orificios de salida (Fig. 2) se ajusta a la hipótesis de oviposición diferencial no se han hecho estudios de los mecanismos que explicarían dicho patrón.

Varios trabajos han discutido sobre los beneficios de empaquetar varias semillas dentro de un fruto, en términos del ahorro de recursos invertidos en la producción de pericarpios y otras estructuras accesorias por cada semilla madurada (e.g. Mitchell 1977, Bookman 1984, Herrera 1984, Ganeshiaiah et al. 1986). Sin embargo, pueden existir costos crecientes si la predación de semillas aumenta con el número de semillas/fruto (e.g. Mitchell 1977). Evolutivamente se seleccionaría un fruto conteniendo un número "óptimo" de semillas que estaría determinado por el signo y magnitud de diferentes presiones selectivas (Lloyd 1987).

De acuerdo a las variables estudiadas, *A. aroma* se ajustaría parcialmente a dicho modelo, ya que no existen beneficios crecientes en cuanto al empaquetamiento de semillas, pero sí existen costos crecientes por predación (Fig. 2). En consecuencia, se puede hipotetizar que vainas con 1o pocas semillas representarían el tamaño óptimo. Por supuesto, existen otros factores que no fueron estudiados. Recientemente se ha considerado la posibilidad de que las presiones selectivas que operan sobre la planta madre (como las consideradas anteriormente) entren en conflicto con las que operan sobre la nueva generación, representada por las semillas (Uma Shaanker et al. 1988). Este conflicto sería potencialmente intenso en el caso de *A. aroma*, que es posiblemente una planta alógama y en la que las semillas de una vaina estarían genéticamente muy relacionadas, ya que la unidad de polinización es una políada compuesta por 16 granos de polen (Uma Shaanker et al. 1988).

Sin embargo, el hecho de que el porcentaje de semillas predadas se incrementa con el número de semillas/vaina y que potencialmente *A. aroma* podría madurar más semillas por vaina que las observadas en promedio, sustenta (no prueba) la hipótesis de que la cantidad de semillas empaquetadas dentro de una vaina podría estar parcialmente determinada por la historia evolutiva de la interacción de esta especie vegetal con su brúchido predador.

Agradecimientos. El presente trabajo fue desarrollado a través de una beca externa del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), una beca de grado de la Universidad de Massachusetts, y con el apoyo de la International Foundation for Science (subsidio D/1700-1). Deseo agradecer a Alejandra Kenigsten por su ayuda en coleccionar las muestras y soportar estoicamente las "delicias" de trabajar en el Chaco tucumano; a Arturo Terán por la determinación de los insectos y por proveer valiosa información básica sobre la biología de *P. grata*; y a Peter Feinsinger, Alejandro Brown, y Jorge Rabinovich por comentarios y sugerencias. También quisiera agradecer a la Fundación e Instituto Miguel Lillo por proveer espacio y otras facilidades.

Bibliografía

- Bawa, K.S. y C.J. Webb. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *Am. J. Bot.* 71:736-751.
- Bookman, S.S. 1984. Evidence for selective fruit production in *Asclepias*. *Evolution* 38:72-8fí.
- Center, T.D. y C.D. Johnson. 1974. Coevolution of some beetles (Coleoptera: Bruchidae) and their hosts. *Ecology* 55: 1096-1103.
- Ganeshaiyah, K.N., Uma Shaanker, R., y R. Shivashanker. 1986. Stigmatic inhibition of pollen grain germination- its implication for frequency distribution of seed number in pods of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Oecologia* 70:568-572.
- Green, T.W. y I.G. Palmald. 1975. Effects of insect predators on *Astragalus cibarius* and *Astragalus utahensis* (Leguminosae). *Ecology* 56:1435-1440.
- Herrera, C.M. 1984. Selective pressures on fruit seediness: differential predation of fly larvae on the fruits of *Berberis hispanica*. *Oikos* 42:166-170.
- Janzen, D.H. 1969. Seed-eaters versus seed size, number, toxicity and dispersal. *Evolution* 23:1-27.
- Janzen, D.H. 1980. Specificity of seed-attacking beetles in a Costa Rican deciduous forest. *J. Ecol.* 68:929-952.
- Lee, T.D. y F.A. Bazzaz. 1986. Maternal regulation of fecundity: non-random ovule abortion in *Cassia fasciculata* Michx. *Oecologia* 68:459-468.
- Lloyd, D.G. 1987. Selection of offspring size at independence and other size-versus-number strategies. *Am. Nat.* 129:800-817.
- Mitchell, R. 1975. The evolution of ovoposition tactics in the bean weevil, *Callosobruchus nraculatus* (F.). *Ecology* 56:696-702.
- Mitchell, R. 1977. Bruchid beetles and seed packaging by polo verde. *Ecology* 58:644-651.
- Nakamura, R.R. 1988. Seed abortion and seed size within fruits of *Phaseolus vulgaris*: pollen donor and resource limitation effects. *Am. J. Bot.* 75:1003-1010.
- Schaal, B.A. 1980. Reproductive capacity and seed size in *Lupinus texensis*. *Am. J. Bot.* 67:703-709.
- Terán, A.L. 1990. Observaciones sobre Bruchidae del Noroeste argentino VII. *Pseudopachymerina spinipes* (Er.) y *P. grata* n. sp. (Coleoptera). *The coleopterists Bulletin* 44:25-28.
- Uma Shaanker, R., K.N. Ganeshaiyah y K.S. Bawa. 1988. Parent-offspring conflict, sibling rivalry, and brood size patterns in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 19:177-205.
- van der Pijl. 1972. Principles of dispersal in higher plants, 2nd edition. Springer-Verlag, Berlin.
- Wright, S.J. 1983. The dispersion of eggs by a Bruchid beetle among *Scheelea* palm seeds and the effect of distance to the parent palm. *Ecology* 64:1016-1021.