

¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE
MODIFICAR EL PATRÓN DE
ESPECIALIZACIÓN DE *Rhopalosiphum
maidis* (Homoptera: Aphididae)?

Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Biológicas con mención en Zoología
Por

Paula Caballero Soto

Octubre, 1999

Director de Tesis: Dr Hermann Niemeyer M.

RESUMEN .	1
ABSTRACT .	3
INTRODUCCIÓN .	5
Patrón de especialización .	5
Experiencia previa o condicionamiento .	6
Especialización en áfidos . .	6
HIPÓTESIS . .	8
Hipótesis general . .	8
OBJETIVOS GENERALES .	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .	9
MATERIALES Y MÉTODOS .	10
Rhopalosiphum maidis (Fitch) . .	10
Sorghum halepense L. .	10
Triticum durum L. .	11
Obtención y mantenimiento de áfidos y plantas. .	11
Identificación clonal. . .	12
Diseño experimental .	13
Evaluación del desempeño . .	14
Metodología estadística .	15
RESULTADOS . .	17
Identificación clonal .	17
Desempeño de los áfidos inmediatamente después de colectados de terreno (evaluación de “trade-off”). .	18
Desempeño una vez transcurridas 20 generaciones (después de experiencia en trigo). .	22
Desempeño después de tres generaciones en el hospedero de origen (reversibilidad del efecto de la experiencia) . .	27
DISCUSIÓN .	29

CONCLUSIONES . .

35

REFERENCIAS .

37

RESUMEN

Como la mayoría de los insectos fitófagos, los áfidos (Homoptera, Aphididae) presentan un importante grado de especialización, lo que normalmente se relaciona con un desempeño mayor en el hospedero en el cual están especializados (hospedero de origen) respecto a uno alternativo. Sin embargo, existen evidencias de cambios en el uso de hospederos alternativos luego de experiencia de desarrollo ontogenético en ellos, por lo que se ha postulado a la experiencia como uno de los mecanismos capaces de modificar el patrón de especialización. En esta tesis se estudió el efecto de la experiencia en un hospedero alternativo sobre el patrón de especialización del áfido *Rhopalosiphum maidis* (Fitch). Se evaluó el desempeño de 23 clones de *R. maidis* sobre *Sorghum halepense* L. (hospedero de origen) y *Triticum durum* L. (hospedero alternativo), antes y después de experiencia durante 20 generaciones en *T. durum*. Antes del período de experiencia en trigo se observó una relación inversa en el desempeño sobre ambos hospederos y sobrevivencia diferencial de los clones desarrollados en ambos hospederos. Sólo 8 de los 23 clones iniciales lograron sobrevivir 20 generaciones en *T. durum*. Después de este período aumentó la sobrevivencia en trigo y aumentó significativamente el desempeño de algunos clones en *S. halepense*. En tanto que la mayoría de los clones mantuvo inalterado su desempeño en *T. durum* con relación al desempeño que se observó antes del período de experiencia, aun cuando se constató una tendencia general a disminuir. Estos resultados sugieren que el patrón de especialización de *R. maidis* se relaciona mayormente con la variación genética y no tanto con la experiencia, puesto que sólo algunos genotipos de *R. maidis* son capaces de resistir al trigo. Se considera también que la experiencia en este hospedero alternativo no produce la disminución de la capacidad de usar *S. halepense*.

**¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE
Rhopalosiphum maidis (Homoptera: Aphididae)?**

ABSTRACT

Aphids (Homoptera, Aphididae) have an important degree of specialization, which is frequently related with a higher performance on the host in which they are specialized (host of origin) than on other host plants (alternative host). Nevertheless, considerable evidence of changes in host use after experience (i.e. ontogenetic development) on alternative hosts suggests experience as a mechanism able to modify the specialization degree. The aim of this thesis was to study the effect of experience on an alternative host in the specialization pattern of the aphid *Rhopalosiphum maidis* (Fitch). The performance of 23 clones of *R. maidis* on *Sorghum halepense* L. (origin host) and *Triticum durum* L. (alternative host) before and after experience on *T. durum* during 20 generations was evaluated. Before that period of experience on *T. durum* there was a negative correlation between performances on both hosts and differential survival of clones living in both hosts. Only 8 out of 23 initial clones survived 20 generations in *T. durum*. However, survival in wheat, as well as performance on *S. halepense* showed significant increase, after the experience. Over generations most clones maintained their performance as showed before the period of experience on *T. durum*. Since some *R. maidis* genotypes were able to resist *T. durum* exigencies, it is suggested that specialization pattern is more related with genetic variation than experience. It is also discussed the fact of experience on this alternative host does not cause a capacity decrease of using *S. halepense*.

**¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE
Rhopalosiphum maidis (Homoptera: Aphididae)?**

INTRODUCCIÓN

Patrón de especialización

Se observa un patrón de especialización cuando una especie se limita a usar sólo una porción del amplio espectro de recursos disponibles. Este patrón también se ha llamado “fidelidad” a la planta hospedera (Jaenike 1990), puesto que, a diferencia de especies generalistas, un insecto especialista usa recurrentemente sólo algunos pocos hospederos disponibles con relación a las llamadas especies generalistas.

El patrón de especialización en insectos puede obedecer básicamente a dos causas: 1) limitaciones en la disponibilidad de especies de plantas que le son favorables como hospederas o 2) restricciones en el uso de diferentes plantas hospederas a pesar de disponer de varias plantas potencialmente hospederas (Fox & Morrow 1981).

Con relación al uso restringido de hospederos en presencia de varios hospederos potenciales, varios investigadores han desarrollado una serie de hipótesis explicativas, recurriendo a mecanismos que involucran tanto factores intrínsecos como externos al insecto. Entre estos últimos se incluye competencia inter e intraespecífica (Fox & Morrow 1981, Futuyma & Moreno 1988, Jaenike 1990, Rausher 1992, Bernays & Chapman 1994), similitud de ciertas plantas hospederas a plantas no hospederas (Fox & Morrow 1981, Jaenike 1990), presión de niveles tróficos superiores (parásitos y depredadores)

(Fox & Morrow 1981, Rausher 1992, Bernays & Chapman 1994) y abundancia de un hospedero en particular (Futuyma & Moreno 1988, Jaenike 1990, Bernays & Chapman 1994). Dentro de los factores intrínsecos al insecto, que actuarían como mecanismos que dan cuenta de especialización, se ha incluido limitaciones fisiológicas (Jaenike 1990, Bernays & Chapman 1994), neurofisiológicas (Levins & MacArthur 1969, Bernays & Chapman 1994, Bernays 1996) y/o morfológicas (Bernays & Chapman 1994), variaciones en la resistencia a depredadores (Jaenike 1990) o a defensas químicas de las plantas, variación genética en el uso del hospedero entre los individuos de una especie (Jaenike 1990 Fox & Morrow 1981), y diferencias generadas por variación de la experiencia previa sobre el hospedero (Fox & Morrow 1981, Jaenike 1990, Rausher 1992, Bernays & Chapman 1994).

Independientemente del mecanismo subyacente, las restricciones en la capacidad de usar varios hospederos diferentes puede implicar la existencia de costos asociados al uso de más de una planta hospedera. Es decir, un individuo (genotipo) en particular no es capaz de mantener un alto desempeño en dos hospederos diferentes. En otras palabras, desempeño óptimo sobre un hospedero implica costos que conducen a un menor desempeño sobre otro hospedero (Mackenzie 1996). Estos costos son evidenciados a través de una correlación negativa entre la capacidad de uso de dos hospederos diferentes (Via, 1990). Se ha postulado este fenómeno como potencialmente importante para la mantención o inducción de la especialización y como base para el proceso de selección disruptiva, el cual puede conducir a diferenciación de razas, especiación y diversificación de insectos con distintas fidelidades (Gouldemond & Mackenzie 1994)

Experiencia previa o condicionamiento

Un mecanismo mediante el cual se ha explicado el patrón de especialización es el efecto de la experiencia previa, también conocido en la literatura como condicionamiento. La experiencia previa puede generar variados efectos en el uso del recurso hospedero, tales como inducción de modificaciones fenotípicas a nivel morfológico, fisiológico o conductual. De esta manera, la fidelidad a un hospedero puede ser alterada por cambios inducidos por la experiencia en la elección de hospedero, en la conducta alimentaria, en la conducta de oviposición o en la tasa de encuentro del hospedero (Futuyma 1983, Jaenike & Papaj 1992, Papaj & Prokopy 1989, Szentesi 1990, Mackenzie & Guldemond 1994). La experiencia puede llegar a establecer razas fenotípicas 1) cambiando las preferencias por los hospederos o 2) eliminando los fenotipos que quedarían en desventaja debido a los costos ("trade off's") inducidos por los cambios ya mencionados. Si cualquiera de estos mecanismos ocurriese, las diferenciaciones fenotípicas mediadas por los hospederos tendrían potencial evolutivo, puesto que las diferencias entre hospederos pueden modificar localmente la frecuencia de genes beneficiosos, permitiendo el establecimiento de razas genéticamente diferenciadas (Bush 1969, Mackenzie & Guldemond 1994).

Especialización en áfidos

Los áfidos son insectos con un alto grado de especialización y de asociación con su hospedero. El 99% de las 4000 especies registradas están confinadas a una o pocas especies de plantas filogénicamente cercanas (Eastop 1973). Estos insectos poseen ciertas características que han sido de gran relevancia en su evolución y que influyen en su alto grado de especialización. Dentro de las características más relevantes están: 1) su modo de alimentación; son insectos succionadores de floema, por lo que existe una fuerte asociación durante todo su desarrollo a la planta hospedera, y 2) reproducción partenogenética cíclica, la que consta de un ciclo sexual y otro asexual con varias generaciones partenogenéticas, con una alta tasa de producción de individuos de igual genotipo (clones) (Dixon 1992).

En diversos trabajos donde se ha estudiado la afinidad de los áfidos con su hospedero, se ha encontrado que existe variación intraespecífica significativa en caracteres asociados al uso del recurso hospedero (De Barro et al. 1995, Mackenzie & Guldemon 1994, Guldemon & Mackenzie 1994, Via 1990). Estos autores han resumido la evidencia que indica la existencia de subespecies, biotipos de áfidos y razas (“host races”) que ocurren en forma simpátrida y que siendo muy similares morfológicamente difieren substantivamente en el uso de la planta hospedera y, de esta manera, están vinculadas a un hospedero en particular. Se ha propuesto que sería un cambio definitivo de hospedero (“host shift”) el que llevaría a divergencia de poblaciones y a la formación de biotipos, razas o subespecies y, eventualmente, especies especializadas en un hospedero determinado (Guldemon & Mackenzie 1994).

Via (1991), adhiriéndose a los factores que explican el uso restringido de hospederos, señaló que en áfidos éste puede ser el resultado tanto de diferenciación genética entre individuos como de diferencias producidas debido a experiencias ambientales distintas. Dados estos dos mecanismos posibles de diferenciación poblacional, se ha investigado los aportes relativos de cada uno en el proceso de evolución de la fidelidad a los hospederos en áfidos. Se encuentra así evidencia que apoya a ambos mecanismos. Mackenzie (1996) mostró en *Aphis fabae* la existencia de correlación negativa (ver más arriba) entre el desempeño sobre los dos hospederos utilizados, lo que se mantiene en una segunda generación sexual. Weber (1985), trabajando con *Sitobion avenae*, encontró que la variabilidad genética entre clones contribuye a la adaptabilidad a distintas plantas hospederas, pero que la importancia de la contribución depende del hospedero particular. Via (1991) realizó experimentos de transferencia recíproca con dos clones de *Acyrtosiphon pisum*, provenientes de dos hospederos. Luego de tres generaciones en el nuevo hospedero, realizó pruebas para determinar el desempeño de los clones en las dos plantas hospederas. Los resultados demostraron que la experiencia no tiene efecto significativo en el desempeño posterior. Por otro lado, en varias especies de áfidos se ha evidenciado modificación del uso de hospederos por medio de la experiencia. En particular, Apablaza y Robinson (1967) realizaron experimentos con tres especies de áfidos de los cereales (*Schizaphis graminum*, *S. avenae* y *Rhopalosiphum maidis*) mantenidos sobre tres especies de cereales, y encontraron que la experiencia previa de *R. maidis* y *S. graminum* sobre una nueva planta hospedera, desde el nacimiento hasta alcanzar el estado adulto, tiene efecto en el desempeño posterior del clon en el hospedero donde se produjo la

experiencia, con relación al desempeño sobre otros hospederos. Similarmente, De Barro et al. (1995) trabajaron con 16 clones de *S. avenae* provenientes de dos hospederos, realizando transferencias recíprocas y determinando el desempeño durante cuatro generaciones. Los clones provenientes de ambos hospederos presentaron desempeños diferentes en su hospedero de origen, lo que es evidencia de una componente genética en la especialización. Además, encontraron efecto significativo de la experiencia en el desempeño posterior de los clones. Douglas (1997) trabajó con 29 clones de *A. fabae*, midiendo su desempeño en dos hospederos. Se evidenció asimetría de los clones en la capacidad de desempeño en cada hospedero; la mortalidad fue significativamente mayor en el hospedero alternativo que en el hospedero de origen. Posteriormente, Douglas (1997) trabajó sólo con el único clon que sobrevivió por varias generaciones partenogenéticas en el hospedero alternativo. Este clon se desempeñó mejor en el hospedero de origen que en el alternativo, pero a lo largo de sucesivas generaciones el desempeño del clon mostró un aumento significativo en el hospedero alternativo. Los resultados de este trabajo señalan la existencia de un costo asociado a la utilización de hospederos y sugieren que la intensidad de éste disminuye a medida que aumenta el tiempo sobre el nuevo hospedero (Douglas 1997).

Estos trabajos proveen evidencias que apuntan a explicar la fidelidad a los hospederos, dando peso a los aportes tanto de las diferencias genéticas como de aquellas generadas por el ambiente (plantas hospederas).

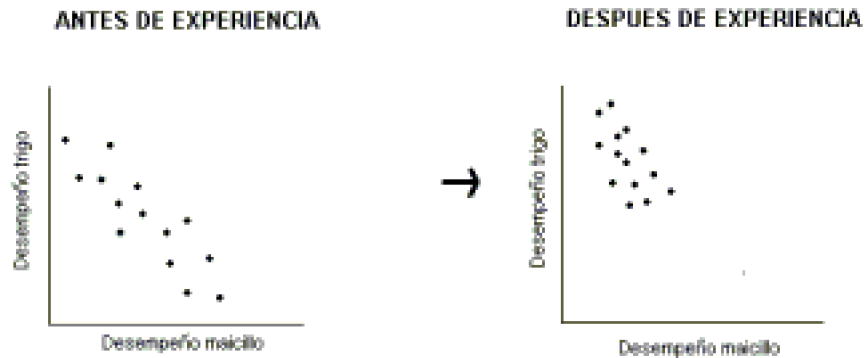
En esta tesis se estudió la modulación ambiental que tolera el patrón de especialización de un insecto fitófago. Se evaluó el efecto de la experiencia sobre un hospedero alternativo en el posterior uso del hospedero de origen y del hospedero alternativo de un áfido de los cereales. En particular, se estudió *R. maidis*, una especie de áfido que se caracteriza por tener en Chile un espectro estrecho de hospederos, y dos especies de cereales que han sido reportadas como hospederas para este áfido: maicillo (*Sorghum halepense* L.), como hospedero de origen, y trigo (*Triticum durum* L.), como hospedero alternativo.

HIPÓTESIS

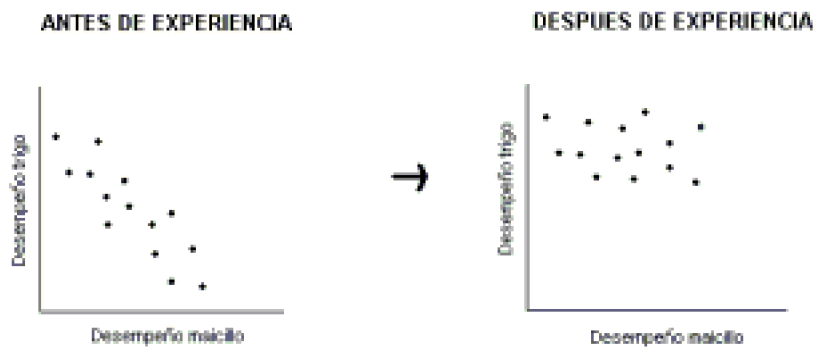
Hipótesis general

La experiencia por varias generaciones sobre un hospedero alternativo es capaz de modificar el patrón de especialización de *R. maidis*. Respecto de esta hipótesis general, se puede derivar, entre otras, otras dos hipótesis:

1. La alteración del patrón de especialización de *R. maidis* como efecto de experiencia sobre el hospedero alternativo, conduce a un cambio de hospedero ("host shift") de *R. maidis* al aumentar el desempeño de los clones en el hospedero alternativo y disminuir en forma irreversible en el hospedero de origen.



Alternativamente, la alteración del patrón de especialización de R. maidis como efecto de experiencia en el hospedero alternativo, conduce a la inclusión de trigo al espectro de hospederos de R. maidis al aumentar el desempeño de los clones en el hospedero alternativo y mantenerse inalterado en el hospedero de origen. 1.



OBJETIVOS GENERALES

Evaluar el efecto de la experiencia en el uso de hospederos en 23 clones distintos de R. maidis. 1.

Comprobar si la experiencia sobre un hospedero alternativo puede producir un cambio irreversible en el uso del hospedero de origen. 2.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar la variabilidad genética en el uso de hospederos de R. maidis 1.

Determinar la existencia de costos (“trade-off’s”) asociados al uso del hospedero de origen (maicillo) y el hospedero alternativo (trigo). 2.

Evaluar el uso de ambos hospederos luego de 20 generaciones de experiencia en el hospedero alternativo. 3.

Evaluar la reversibilidad de los posibles cambios en el uso del hospedero de origen causado por la experiencia en el hospedero alternativo. 4.

MATERIALES Y MÉTODOS

Rhopalosiphum maidis (Fitch)

R. maidis es un áfido de los cereales y se caracteriza por tener, en Chile, un espectro de hospederos más restringido que otras especies de áfidos frecuentes en cereales. El hospedero principal, y al que debe su nombre, es el maíz (*Zea mays* L.), pero en Chile se ha reportado como hospederos otras especies de gramíneas de cultivo, tales como cebada (*Hordeum vulgare* L.), sorgo (*Sorghum vulgare* K), como hospederos frecuentes, y trigo de invierno (*Triticum durum* L.) y trigo de verano (*Triticum aestivum* L.), como hospederos poco frecuentes. También se ha reportado como hospederas algunas gramíneas silvestres, tales como chépica (*Paspalum dasypleurum* K.) y maicillo (*Sorghum halepense* L.), siendo esta última, el hospedero de invierno más importante (Zuñiga 1969, Apablaza y Tiska 1973, Stary et al. 1994). Otra característica relevante de esta especie es que los machos son extremadamente escasos y nunca se ha encontrado hembras ovíparas ni huevos. Sólo se ha reportado formas sexuales en Arizona en 1932 cuando se obtuvo 40 machos en laboratorio y en 1957 cuando se encontró machos en un invernadero abandonado (Etchegaray 1975, Blackman y Eastop 1984). Por lo tanto, se considera a *R. maidis* como enteramente anholocíclico, es decir, que desarrollan solamente el ciclo de vida asexual. Cabe destacar entonces, que la diversidad genética en esta especie se expresa sólo en la diversidad clonal, ya que durante todo el año se reproduce sólo partenogénicamente.

Sorghum halepense L.

Esta especie, además del maíz, es el hospedero de origen más común para *R. maidis*. Es una gramínea silvestre, conocida comúnmente como maicillo o “johnsongrass”. Fue introducida al país en 1919 para reemplazar al maíz como forrajera (Matthei, 1995). Se caracteriza por ser perenne, con extensos rizomas subcarnosos, por lo que es descrita como una planta invasora de difícil eliminación (Matthei, 1995). En Chile, su hábitat principal es orillas de cultivos y campos que recientemente han sido cultivados, además es frecuente bajo parronales y huertos frutales. (Matthei, 1995).

Triticum durum L.

El trigo se ha reportado como hospedero alternativo, aunque poco frecuente, de *R. maidis*. Se utilizó la variedad Chagual, que es la variedad de trigo de invierno que se cultiva más frecuentemente. El trigo es una de las plantas cultivadas de mayor importancia con respecto a la alimentación del hombre, por lo que es una especie que en la historia ha sido extensamente modificada.

Obtención y mantención de áfidos y plantas.

Ejemplares del áfido *R. maidis* fueron colectados de poblaciones naturales de maicillo en la zona central de Chile (Tabla 1). A partir de la multiplicación partenogenética de un ejemplar de cada población de *R. maidis*, se originaron 23 colonias monoclonales, las que fueron mantenidas por separado en el hospedero de origen (maicillo) (Tabla 1). Las plantas de maicillo se obtuvieron a partir de semillas colectadas en el Campus La Platina, INIA, Santiago. Los áfidos, así como las plantas, fueron mantenidos en condiciones de laboratorio entre 23 ± 2 °C de temperatura y 16: 8 (día: noche) de fotoperíodo.

¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae)?

CLON	LOCALIDAD	FECHA
LA2	Los Angeles	Marzo 1997
CH1	Chillán	Marzo 1997
CH3	Chillán	Marzo 1997
CH4	Chillán	Marzo 1997
CH5	Chillán	Marzo 1997
LF2	La Florida (Stgo.)	Febrero 1997
LF3	La Florida (Stgo.)	Febrero 1997
LF 11	La Florida (Stgo.)	Agosto 1997
CM10	Malloco	Mayo 1997
CM11	Malloco	Mayo 1997
CM12	Malloco	Mayo 1997
CM13	Malloco	Mayo 1997
I5	La Platina (INIA)	Febrero 1997
I12	La Platina (INIA)	Mayo 1997
I30	La Platina (INIA)	Agosto 1997
I31	La Platina (INIA)	Agosto 1997
I32	La Platina (INIA)	Agosto 1997
JGM4	Campus J. Gómez M. (STGO.)	Marzo 1997
ILLA1	Illapel	Marzo 1997
ILLA4	Illapel	Marzo 1997
LS1	La Serena	Marzo 1997
LS2	Le Serena	Marzo 1997
LS4	La Serena	Marzo 1997

Identificación clonal.

La identificación clonal se realizó mediante RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA – Polymerasa Chain Reaction) (Welsh & McClelland 1990, Williams et al. 1990). Esta técnica actualmente es muy usada, entre otras cosas, para la identificación de clones en áfidos. Se basa en amplificar regiones del DNA utilizando partidores (“primers”) de secuencia conocida, pero cuya unión al DNA es desconocida. Los partidores se unen a regiones complementarias aleatorias del DNA y mediante PCR se amplifica las secuencias de la hebra que se encuentran entre las regiones donde se unieron los partidores. Los productos del PCR se analizan en un gel de agarosa y se generan patrones de bandas propios para cada genotipo.

El DNA fue obtenido a partir de 5 áfidos de cada clon putativo. El DNA se extrajo mediante el método “Salting out” (Sunnucks y Hales, 1996). Los áfidos fueron homogeneizados en tubos Eppendorf con un pistilo plástico (Kontes) en 300 µl de buffer TNES (50mM Tris-HCl pH 7.5, 400 mM NaCl, 20 mM EDTA, 0.5% SDS). El homogeneizado se incubó a 37 °C durante 3-18 horas, en presencia de 100 µg/ml de Proteinasa K. Las proteínas se precipitaron con 85 µl de NaCl 5M. El DNA fue precipitado con etanol 100%, secado al vacío y resuspendido en 40µl de agua ultrapura libre de

RNasa.

Para la realización del RAPD-PCR se utilizó un total de 3 partidores “primers” (Tabla 2) de 10 nucleótidos (Keystone Labs, Biosource International) (Figuroa et al. 1999). La amplificación se realizó en 40 μ l compuestos de 4 μ l de buffer de reacción 10X, 2.5 mM $MgCl_2$, 200 mM dNTP's, 0.5 mM de cada partidor, 0.6 U de *Taq* DNA polimerasa (Gibco-BRL), 5 μ l de DNA diluido 1:10 y agua ultrapura estéril. La amplificación consistió de un paso de denaturación inicial de 94°C por 3 min., seguido de 40 ciclos de 1 min. a 92 °C, 1 min a 41 °C y 1 min a 72 °C. Un paso de extensión final de 6 min a 72°C completó la reacción (Welsh & McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990). Los productos de PCR se separaron por electroforesis en geles de agarosa de 1.5%.

Tabla 2. Partidores y secuencia de nucleótidos correspondiente, utilizados en la identificación de los clones.

PARTIDOR	SECUENCIA
CFp1	5' – CCG – TCG – ACG – G – 3'
CFp4	5' – TGG – ACA – CTG – A – 3'
HN8	5' – AGT – CAG – CCA – C – 3'

Diseño experimental

Los clones fueron caracterizados respecto de su desempeño tanto sobre su hospedero de origen (maicillo) como sobre un hospedero alternativo (trigo), en tres etapas de experimentación (Fig. 1).

Inmediatamente después de colectados los clones de terreno (evaluación de costos). 1. De esta manera se evaluó si existe un costo (“trade-off”) asociado al uso de los dos hospederos.

Una vez transcurridas 20 generaciones en trigo (después de experiencia en trigo). Se 2. evaluó así el efecto que tiene la experiencia sobre un hospedero alternativo, en el uso de la planta hospedera de origen y en la planta hospedera alternativa.

Después de transcurridas tres generaciones en el hospedero de origen (reversibilidad 3. de la experiencia en trigo). Se evaluó de esta manera, si el efecto que la experiencia produjo en el hospedero de origen es reversible en el corto plazo.

¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae)?

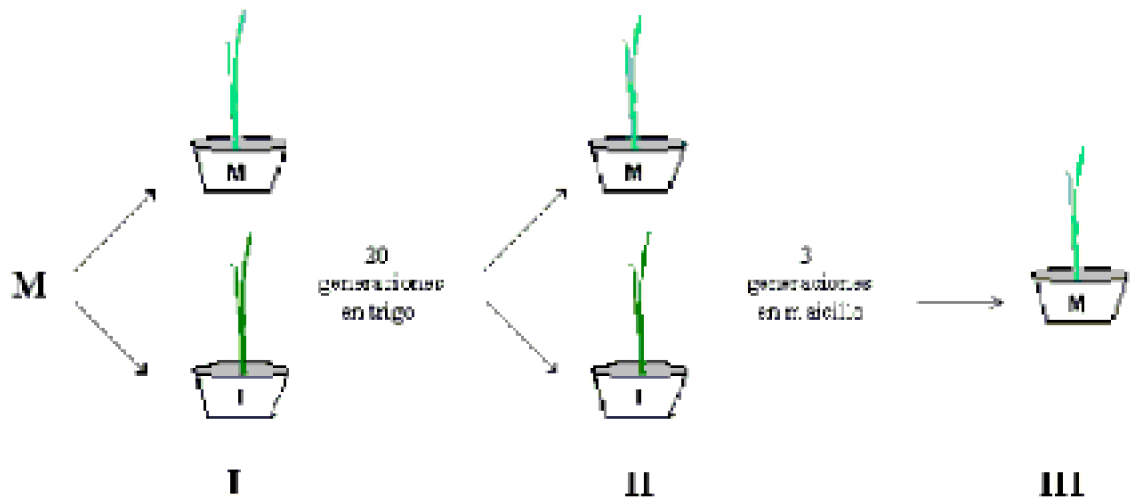


Figura 1. Experimento de transferencia de hospederos (maicillo = M, trigo = T) a modo de experiencia y caracterizaciones. Las caracterizaciones se realizaron en tres momentos: I. En ambos hospederos (M/T) inmediatamente colectados de terreno (evaluación de costos), II. En ambos hospederos (M/T), una vez transcurridas 20 generaciones en trigo (T) (“después de experiencia en trigo”) y III. En maicillo (M), después de transcurridas tres generaciones en el hospedero de origen (reversibilidad de la experiencia en trigo).

Evaluación del desempeño

Se determinó la tasa de incremento poblacional (r_m) de cada clon según la ecuación desarrollada para áfidos por Wyatt y White (1977): $r_m = (0,738 \ln M_d) / T$, donde M_d es el número de ninfas producidas en el tiempo equivalente al tiempo pre-reproductivo (T_d), esto es, el tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la primera reproducción. Las ninfas utilizadas para los experimentos fueron sincronizadas por 18 horas en una plántula del hospedero en que se evaluó el r_m . Cada prueba se realizó introduciendo una ninfa de cinco días de edad dentro de una caja-clip sobre la hoja de plántulas individuales (Fig. 2). Se determinó tiempo a la primera reproducción (T), y posteriormente se contabilizó y removió diariamente las ninfas producidas durante T días. Se realizó un total de 10 réplicas por clon. También se evaluó la sobrevivencia de áfidos en los ensayos sobre plántulas, tanto de maicillo como de trigo. Además, se analizó por separado las variables de desempeño componentes del r_m : tiempo a la primera reproducción (TPR) y número de ninfas producidas por clon en el tiempo pre-reproductivo (NNP).

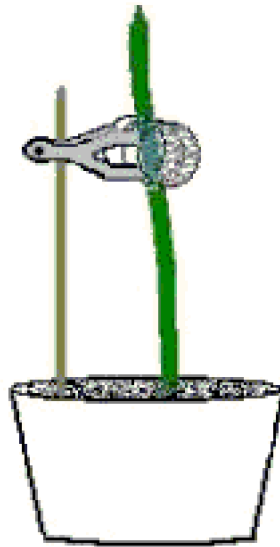


Figura 2. Caja clip utilizada en la determinación de la tasa intrínseca de incremento poblacional (r_m)

Metodología estadística

Se utilizó ANOVA de dos (clon, hospedero) y tres vías (clon, hospedero y experiencia) para comparar los desempeños. Cuando los supuestos de normalidad y homocedasticidad no se cumplieron, los datos fueron transformados según la fórmula $\ln(x+1)$.

Se realizó análisis de correlación de Pearson para establecer la existencia de costos (“trade-offs”) asociados al desempeño sobre las dos plantas hospederas.

Las comparaciones de sobrevivencia se realizaron mediante una prueba z de proporciones.

Para analizar las bandas polimórficas obtenidas en los RAPD-PCR efectuados a los 23 clones, se realizó un análisis de conglomerados con porcentaje de divergencia y distancia mínima.

**¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE
Rhopalosiphum maidis (Homoptera: Aphididae)?**

RESULTADOS

Identificación clonal

Los tres partidores utilizados dieron un total de 20 bandas polimórficas (Fig. 3). Del análisis de “clusters” (Fig. 4) se deduce que los 23 clones utilizados son diferentes.

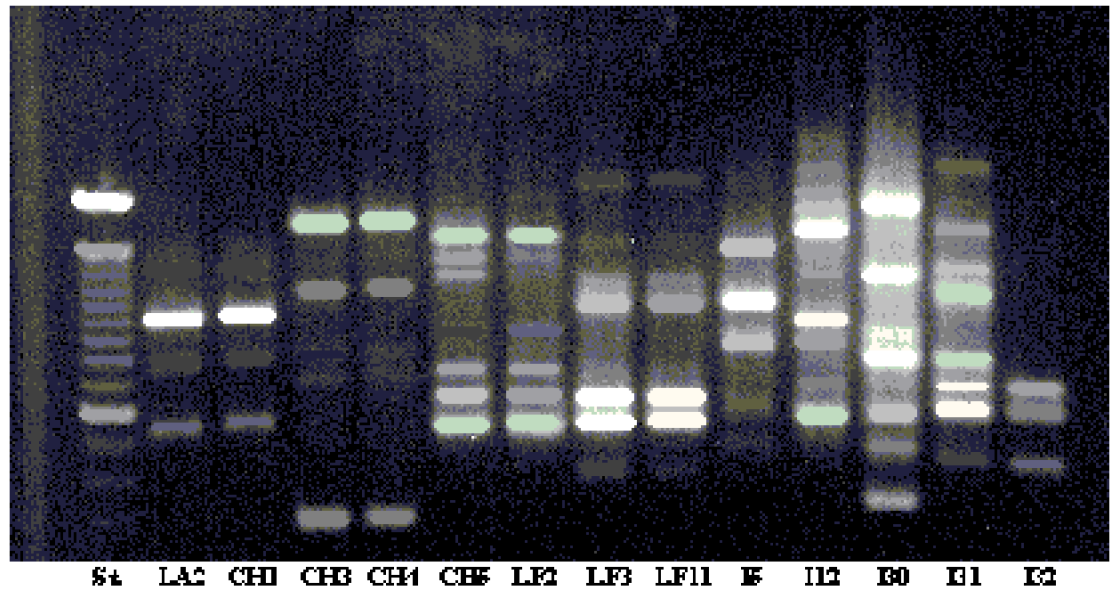


Figura 3. fotografía que muestra las bandas de PCR de 13 clones de *R. maidis* obtenidas con el partidor CFp 1. St. = estándar 100 pb.

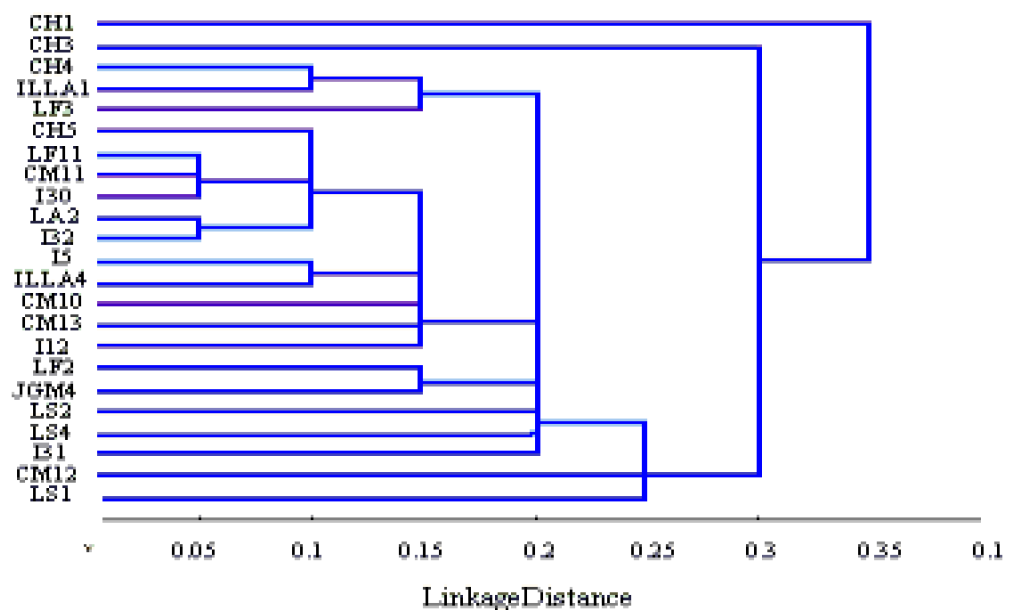


Figura 4. árbol resultante del análisis de “clusters” realizado a partir del patrón de bandas generado por RAPD-PCR.

Desempeño de los áfidos inmediatamente después de colectados de terreno (evaluación de “trade-off”).

Estos experimentos evalúan las variables de desempeño de 23 clones de *R. maidis*

colectados (y presumiblemente especializados) en maicillo, sobre el hospedero de origen (maicillo) y el hospedero alternativo (trigo), para verificar si existe un compromiso entre el desempeño en cada hospedero.

El análisis de regresión muestra que no hay correlación entre el r_m en maicillo y en trigo (Fig. 5a) lo que se corresponde con la no-significancia de la interacción clon-hospedero (genotipo-ambiente) sobre r_m en el ANOVA (Tabla 3). Es importante notar que una interacción (genotipo-ambiente) significativa indicaría que el desempeño de los clones varía con relación al hospedero al que esté asociado.

Dado que el r_m se compone de otras dos variables de desempeño, el tiempo a la primera reproducción (TPR) y número de ninfas producidas por los individuos en el mismo periodo (NNP), es probable que el calculo del r_m enmascare el efecto de estas variables. Por lo tanto, se analizaron estas dos variables por separado. No se observó correlación significativa entre TPR en maicillo y en trigo (Fig. 5b). Esto, al igual que para el r_m , concuerda con el resultado del ANOVA donde se observa que la interacción clon-hospedero no es significativa (Tabla 3). Hubo correlación negativa significativa entre el NNP en maicillo y en trigo (Fig. 5c), lo que se corresponde con la interacción significativa clon-hospedero que presenta esta variable en el ANOVA (Tabla 3).

Tabla 3. ANOVAS de dos factores para las tres variables de desempeño de *R.maidis*.

Fuente	gl	F	p
r_m			
hospedero	1	0,82	0,37
clon	19	0,84	0,66
hosp-clon	19	1,10	0,36
TPR			
hospedero	1	0,0004	0,98
clon	23	1,73	0,02
hosp-clon	23	1,23	0,21
NNP			
hospedero	1	3,49	0,06
clon	19	0,59	0,91
hosp-clon	19	2,09	0,01

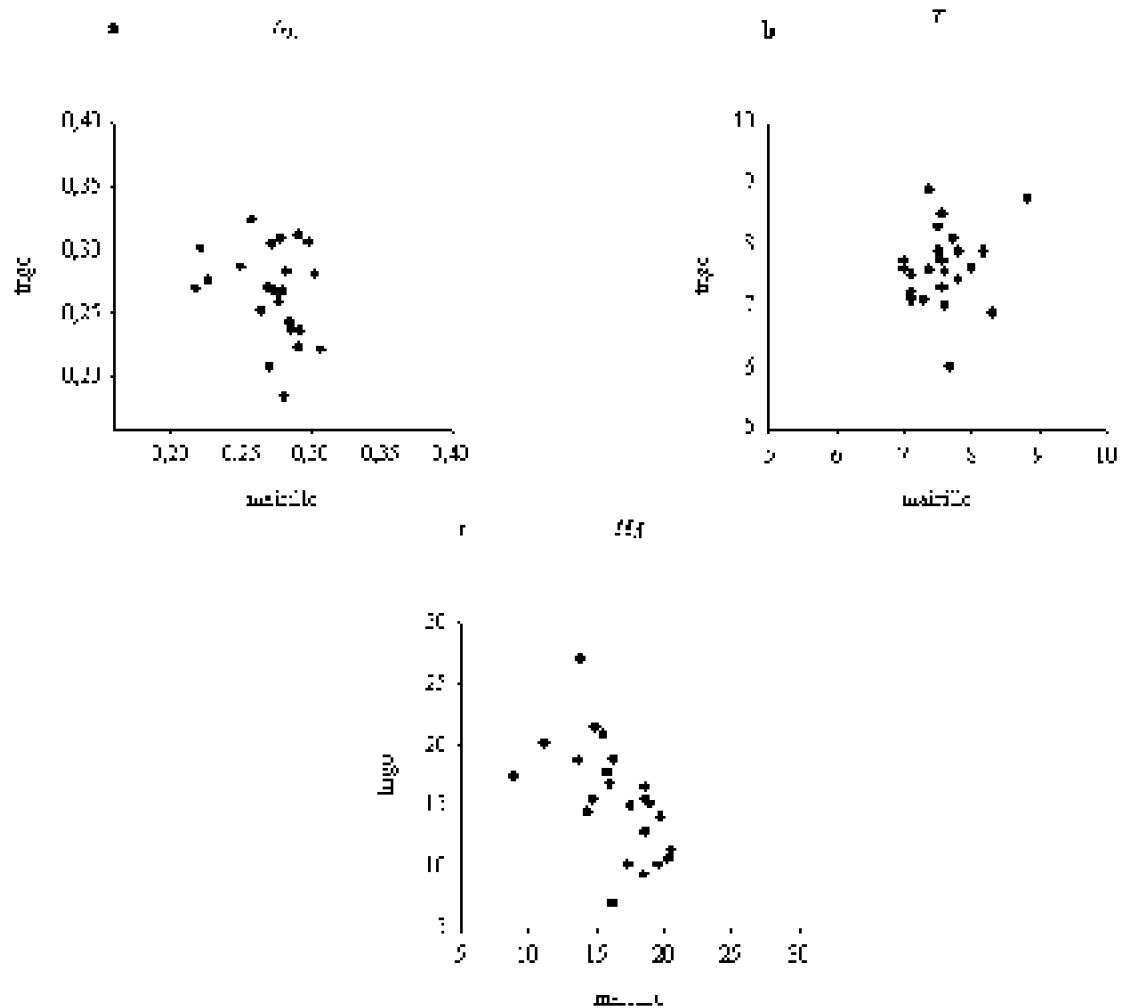


Figura 5. Correlaciones de los desempeños de *R. maidis* en los dos hospederos: **a.** tasa intrínseca de incremento poblacional, **b.** tiempo a la primera reproducción y **c.** número de ninfas puestas por clon.

La sobrevivencia se evaluó cuantificando el número de individuos que llegan a reproducirse y fue significativamente mayor para individuos que se desarrollaron en maicillo respecto de los que se desarrollaron en trigo (63,3% y 30,9%, respectivamente; prueba de t [$p < 0,001$]), independientemente del clon (fig. 6). Sin embargo, sólo 6 de los 23 clones mostraron diferencias significativas en la sobrevivencia entre uno y otro clon, es decir, un 26% de los clones mostraron menor sobrevivencia en trigo que en maicillo (Tabla 4).

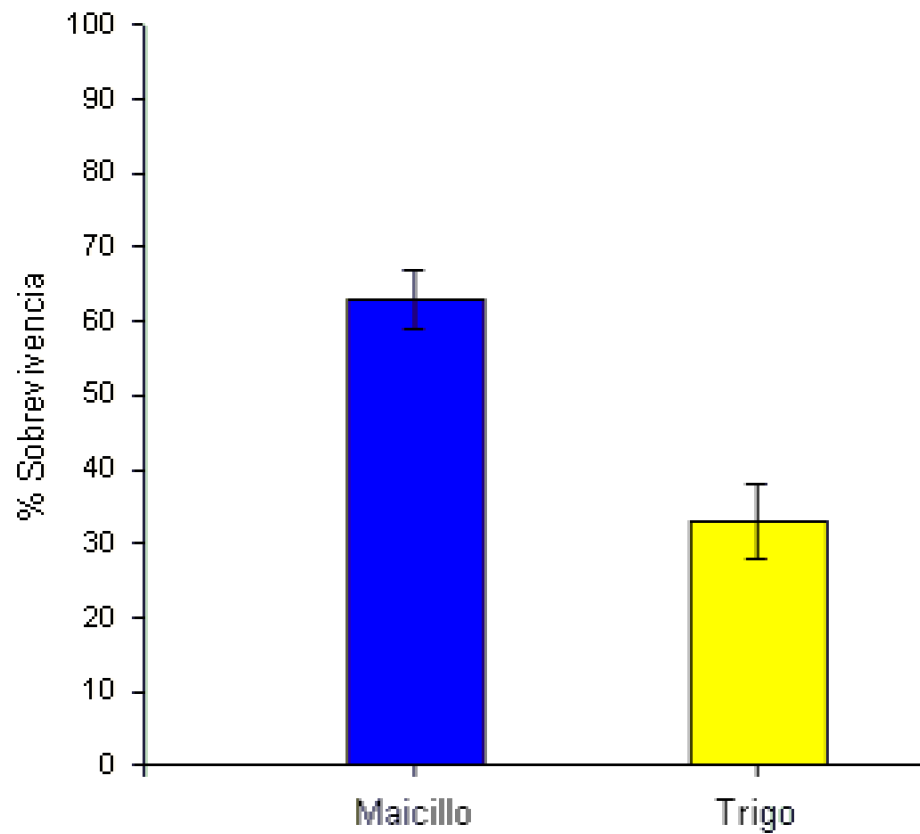


Figura 6. Comparación de la sobrevivencia de *R. maidis* sobre los dos hospederos antes del período de experiencia en trigo

Tabla 4. Sobrevivencia de cada clon de *R. maidis* en los dos hospederos. z y p corresponden a un test de proporciones.

¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae)?

clones	sobrevivencia maicillo trigo		z	p		
LA2	0,54	0,5	-0,3	0,78		V
CH1	0,6	0,58	-0,4	0,71		
CH3	0,7	0,06	2,47	0,01	*	
CH4	0,9	0,17	2,84	0,01	*	V
CH5	0,5	0,75	0,69	0,49		V
LF2	0,7	0	2,81	0,01	*	
LF3	0,5	0,38	0,11	0,11		
LF11	0,8	0,27	1,94	0,05		
CM10	0,14	0,17	-0,5	0,64		
CM11	0,5	0,27	0,61	0,54		
CM12	0,7	0,06	2,47	0,01	*	
CM13	0,54	0,29	0,69	0,49		
I5	0,8	0,21	2,17	0,03	*	V
I12	0,73	0,6	0,13	0,9		
I30	0,58	0,67	-0,1	0,9		
I31	0,43	0	1,79	0,07		
I32	0,38	0,17	0,54	0,59		V
JGM4	0,82	0,5	1,03	0,3		V
ILLA1	0,56	0,18	1,27	0,2		
ILLA2	0,83	0,55	0,91	0,91		
LS1	1	0,2	3,2	0	*	V
LS2	0,82	0,78	-0,3	0,74		V
LS4	0,5	0,2	0,94	0,35		
x	0,63	0,33				

Desempeño una vez transcurridas 20 generaciones (después de experiencia en trigo).

Estos experimentos compararon las variables de desempeño y la sobrevivencia antes y después de experiencia en el hospedero alternativo. Es importante destacar que luego de las 20 generaciones en trigo, sobrevivieron sólo 8 de los 23 clones iniciales (Tabla 4). Por lo tanto, todas las comparaciones que se reportan en esta parte del trabajo se refieren a estos 8 clones.

Se realizó un ANOVA de tres factores para el r_m . Los factores fueron clon (8 clones sobrevivientes después del período de experiencia), hospedero (trigo y maicillo) y experiencia (antes y después del período de experiencia). Se observó que el factor hospedero fue significativo para r_m , en tanto que los factores clon y experiencia no fueron significativos (Tabla 5). Sin embargo, hubo interacción significativa hospedero-experiencia, lo que implica que la diferencia producida en r_m debido a la experiencia en trigo no fué consistente entre los dos hospederos. Después de 20

generaciones en trigo, tres clones (CH5, I5 y JGM4) aumentaron significativamente su r_m en maicillo, y dos clones (LS1 Y LS2) mostraron sólo una tendencia al aumento de su desempeño en maicillo, en tanto que en trigo no hubo cambios en el r_m , excepto el clon I32, cuyo r_m disminuyó significativamente (Fig. 7).

Tabla. 5 ANOVA de tres vías que compara las tres variables de desempeño de *R. maidis* antes y después del período de experiencia en trigo.

Fuente	gl.	F	p
r_m			
hosp	1	28,481	< 0,001
clon	7	1,941	0,066
exper	1	0,955	0,330
hosp-clon	7	1,857	0,079
hosp-exp	1	13,818	0,000
clon-exp	7	1,510	0,167
hosp-clon-exp	7	0,938	0,479
TPR			
hosp	1	0,584	0,445
clon	7	0,556	0,792
exper	1	8,560	0,004
hosp-clon	7	3,117	0,004
hosp-exp	1	6,802	0,010
clon-exp	7	1,623	0,129
hosp-clon-exp	7	3,023	0,005
NNP			
hosp	1	33,415	0,000
clon	7	2,116	0,044
exper	1	2,958	0,087
hosp-clon	7	2,891	0,007
hosp-exp	1	11,806	0,001
clon-exp	7	1,523	0,162
hosp-clon-exp	7	1,126	0,349

¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae)?

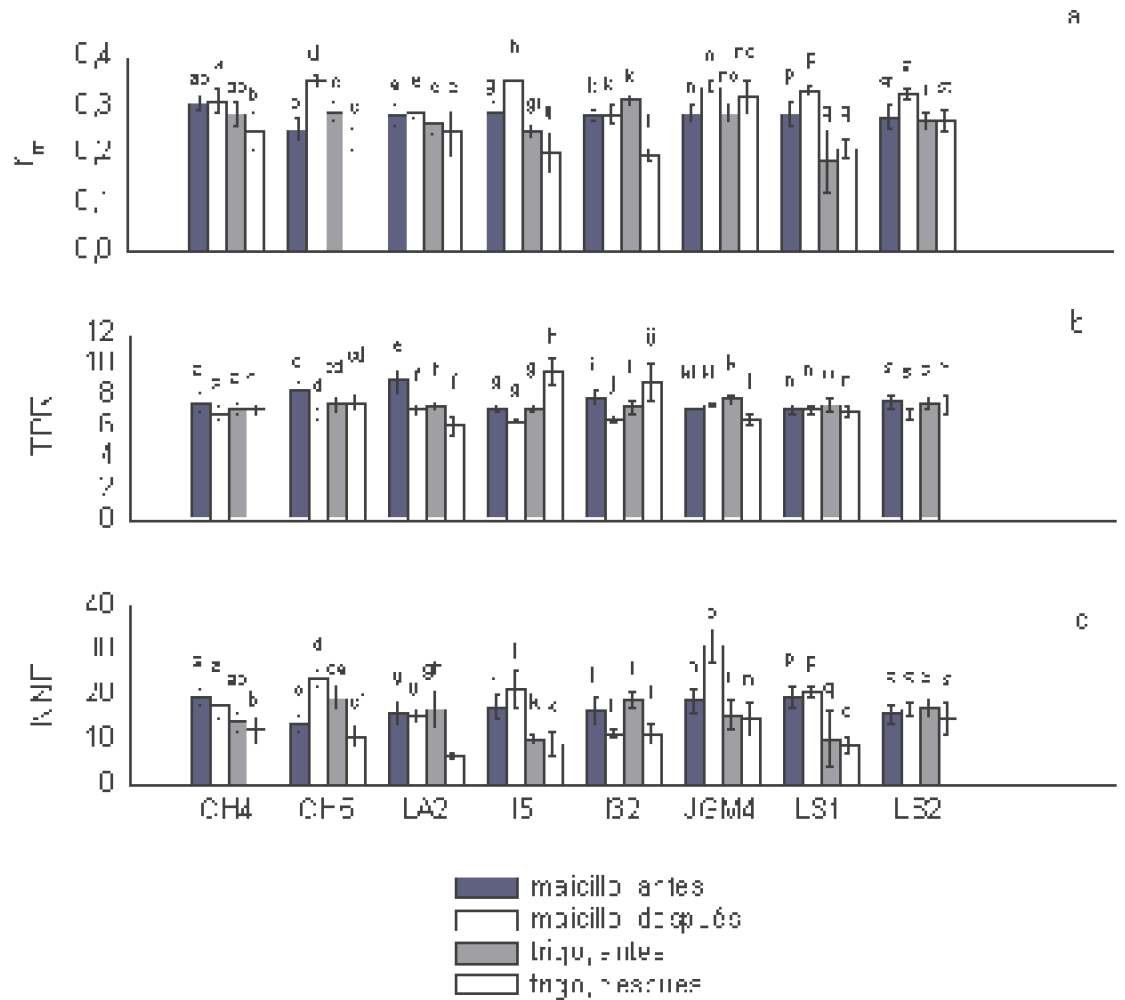


Figura 7. Comparación de las tres variables de desempeño sobre los dos hospederos antes y después del período de experiencia en trigo. ¹ **a.** Tasa intrínseca de incremento poblacional **b.** Tiempo a la primera reproducción **c.** Número de ninfas producidas por clon

El NNP mostró algunas variaciones, aunque no significativas, que probablemente explican las diferencias observadas en el r_m . En relación con la variable TPR, sólo cuatro de los 8 clones presentaron alguna variación significativa en uno de los hospederos antes y después de experiencia (fig. 7c).

Adicionalmente, se comparó gráficamente el desempeño en los dos hospederos antes y después del período de experiencia en el hospedero alternativo (trigo) (fig. 8). Se observó en la gráfica un desplazamiento de los puntos que representan el desempeño de los clones en cada hospedero. Los cambios observados muestran una tendencia a aumentar en el hospedero de origen (maicillo) y a disminuir el desempeño en el hospedero alternativo (trigo). Los coeficientes de correlación de las tres variables de

desempeño sobre maicillo y sobre trigo no fueron significativos.

Tabla 6. Coeficientes de correlación de las tres variables de desempeño de *R. maidis* analizadas antes y después de experiencia en trigo.

variable	r (antes)	p	r (después)	p
r_m	-0,2	0,39	0,23	0,6
TPR	0,26	0,23	0,51	0,2
NNP	-0,57	0,008	0,34	0,41

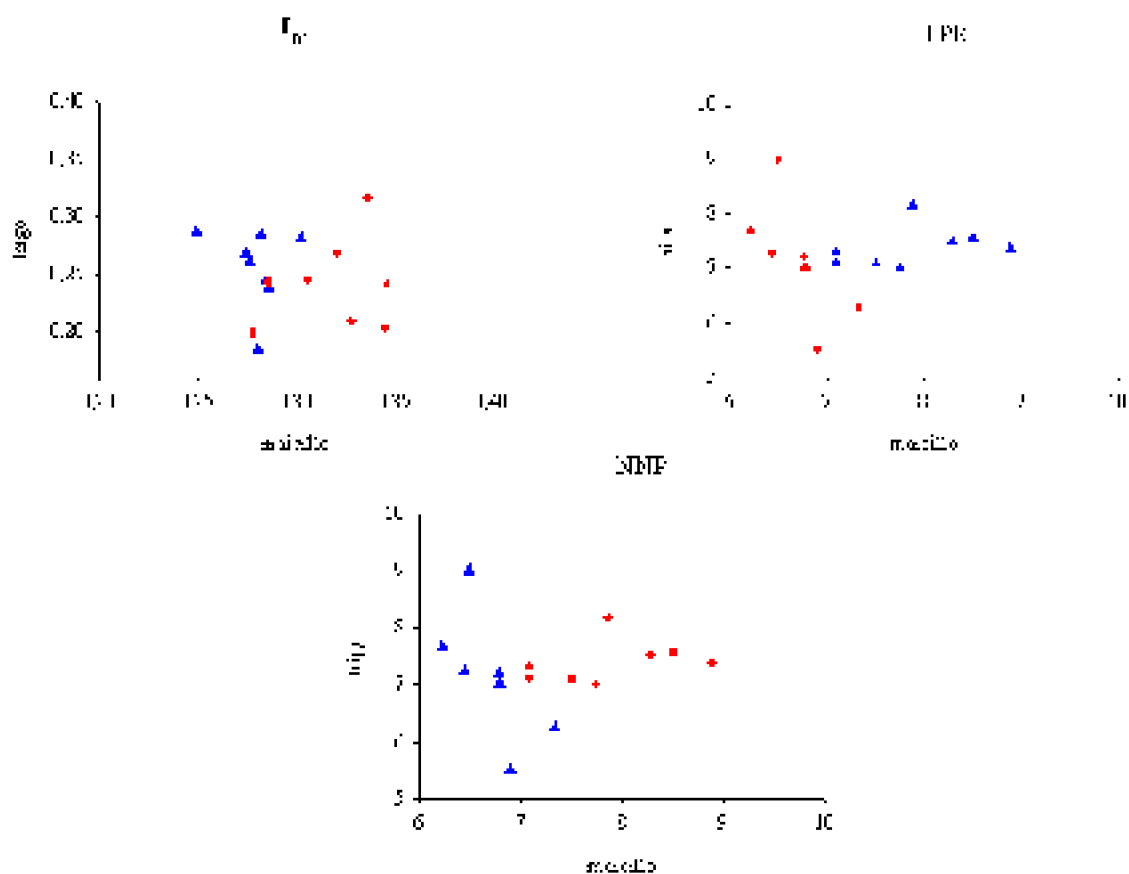


Figura 8. Comparación de las correlaciones de los desempeños de *R. maidis* en los dos hospederos. a. Tasa intrínseca de incremento poblacional (r_m) b. Tiempo a la primera reproducción c. Número de ninfas puestas por clon.5: antes del período de experiencia en

¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE Rhopalosiphum maidis (Homoptera: Aphididae)?

trigo. =: después del período de experiencia en trigo

El análisis de supervivencia indicó que luego del período de experiencia en trigo, no hay diferencias significativas (prueba de t, $p = 0,64$) en la supervivencia sobre maicillo y sobre trigo (43% y 36%, respectivamente) (Fig. 9). Sin embargo, hubo dos clones (I5 y JGM4) que mostraron diferencia entre la supervivencia sobre maicillo y trigo, siendo menor en este último (Tabla 7), es decir un 25% de los clones sobreviven mejor en maicillo que en trigo, lo que no difiere significativamente de los resultados obtenidos antes del período de experiencia en trigo (prueba z; $p = 0,68$).

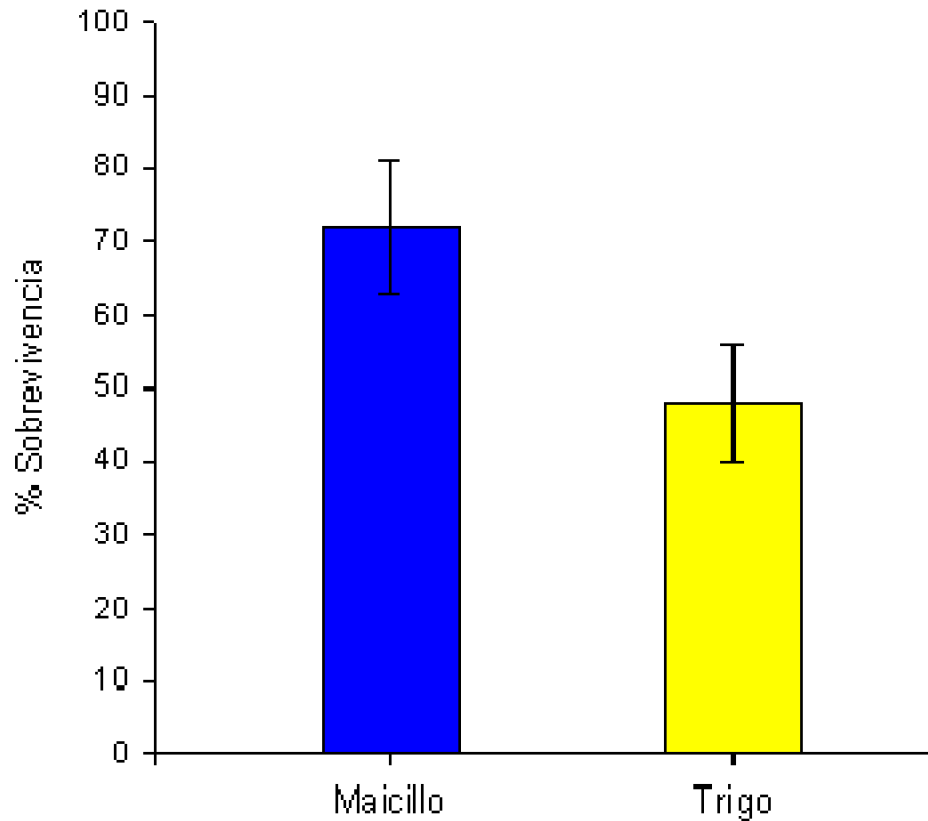


Figura 9. Comparación de supervivencia de *R. maidis* sobre los dos hospederos después del período de experiencia en trigo.

Tabla 7. Análisis de supervivencia de *R. maidis* de los ocho clones que sobrevivieron después del período de experiencia en trigo.

	sobrev maicillo	sobrev. trigo	z	p	
CH4	0,82	0,70	0,12	0,90	
CH5	0,82	0,67	0,26	0,80	
LA2	0,64	0,30	1,10	0,27	
I5	1,00	0,36	2,50	0,01	*
I32	0,31	0,70	1,45	0,15	
JGM4	1,00	0,27	3,22	0,001	*
LS1	0,60	0,70	0,00	1,00	
LS2	0,67	0,33	0,94	0,35	
x	0,76	0,46			

La comparación de la sobrevivencia antes y después del período de experiencia a nivel clonal muestra que para tres clones la sobrevivencia sobre trigo aumenta, y que no varía significativamente la sobrevivencia en maicillo (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis de sobrevivencia de *R. maidis* antes y después de experiencia en trigo.

	sobrevivencia maicillo				sobrevivencia trigo			
	Antes	Después	z	p	Antes	Después	z	p
CH4	0,9	0,82	-0,09	0,93	0,17	0,70	2,39	0,02 *
CH5	0,5	0,82	1,08	0,28	0,75	0,67	-0,2	0,88
LA2	0,54	0,64	0,07	0,95	0,50	0,30	0,46	0,65
I5	0,80	1,00	0,67	0,5	0,21	0,36	0,4	0,69
I32	0,38	0,31	-0,16	0,87	0,17	0,70	2,08	0,04 *
JGM	0,82	1,00	0,8	0,42	0,50	0,27	0,53	0,59
LS1	1,00	0,60	1,68	0,09	0,20	0,70	2,08	0,04 *
LS2	0,82	0,67	0,26	0,79	0,78	0,33	1,43	0,15
x	0,72	0,76			0,41	0,46		

Desempeño después de tres generaciones en el hospedero de origen (reversibilidad del efecto de la experiencia)

Estos experimentos consistieron en el traspaso y mantención durante tres generaciones en maicillo y la posterior evaluación del desempeño sobre el mismo hospedero. Es importante notar que nuevamente se trabajó sólo con los 8 clones sobrevivientes al período de experiencia en trigo.

La comparación a nivel clonal del desempeño, muestra que en general el r_m disminuye, alcanzando valores que no difieren significativamente del desempeño en maicillo antes del período de experiencia en trigo (Fig. 10). Lo mismo sucede con las variables TPR y NNP, excepto en los clones I32 y LS2, que después del regreso a maicillo, el NNP disminuye significativamente.

**¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE
Rhopalosiphum maidis (Homoptera: Aphididae)?**

DISCUSIÓN

Antes del período de experiencia no hubo correlación significativa entre la tasa intrínseca de incremento poblacional (r_m) de *R. maidis* en maicillo y trigo (Fig. 5a), lo que indica que esta variable tiene independencia genética (todos los clones responden igual) y ambiental (los clones responden igual en ambos hospederos). En otras palabras, el r_m varía independientemente de la componente genética de los clones e independientemente del hospedero al que estos están asociados. Lo anterior concuerda con el análisis de la varianza, que indicó que los factores clon y hospedero son no significativos, en otras palabras, que el r_m de los clones sobre los dos hospederos no difirió significativamente.

Este resultado aparentemente no se corresponde con los resultados de Mackenzie (1996), quien encontró un compromiso entre el desempeño sobre el hospedero de origen (en el que fueron colectados) y un hospedero alternativo. Sin embargo, dado que Mackenzie (1996) evaluó la fecundidad de los clones, en rigor sus resultados son comparables con los resultados de producción de ninfas bajo el parámetro NNP obtenidos en esta tesis más que con el r_m . Estos muestran que existió correlación negativa significativa entre el NNP sobre maicillo y sobre trigo (Fig. 5c), lo que en conjunto con la interacción genética-ambiental (clon-hospedero) obtenida en el ANOVA (Tabla 3) que indica que el desempeño de los clones no varió por sí solo, sino que dependiendo del hospedero al que los clones estaban asociados. Lo anterior sugiere que 1) existe un compromiso entre el NNP sobre maicillo y trigo y 2) el NNP es una variable que responde a variaciones ambientales.

Diferente fue el caso del tiempo a la primera reproducción (TPR), que mostró

independencia ambiental al no haber correlación significativa entre el TPR en maicillo y en trigo (Fig. 5b). El análisis de la varianza (Tabla 3) mostró que el factor hospedero no fue significativo y que el factor clon fue significativo, lo que confirma la independencia ambiental de esta variable y su dependencia genética. Esto no quiere decir que esta variable responda sólo a diferencias genéticas, sino que la componente genética tiene mayor peso relativo.

Una vez transcurridas 20 generaciones en trigo, un análisis de correlación (Tabla 6) mostró que las correlaciones de las tres variables (r_m , TPR y NNP) no fueron significativas. Se podría deducir, entonces, que el periodo de experiencia en el hospedero alternativo no produce cambios en la interacción clon-hospedero (genotipo-ambiente), lo que concuerda con los resultados obtenidos por Via (1991), donde no se encontró efecto de la experiencia sobre el desempeño de tres clones de *A. pisum*. Sin embargo, los resultados de esta tesis muestran que el coeficiente de correlación entre el NNP sobre maicillo y sobre trigo cambia de negativo significativo antes del período de experiencia a no significativo después del período de experiencia (Tabla 6). Este resultado indica que la experiencia en el hospedero alternativo induce un cambio en el número de ninfas producidas por clon, lo que concuerda con los resultados antes del período de experiencia, que indican que NNP responde a variaciones ambientales. Por lo tanto, la variación genética de esta variable sería menos importante que la variación producida por la experiencia.

Por otro lado, en la Figura 8a-c, vemos que efectivamente se observó un desplazamiento (diferente para cada clon) en los puntos que caracterizan el desempeño de los 8 clones en cada hospedero. Este análisis visual muestra un desplazamiento con tendencias a mejorar las tres variables de desempeño en maicillo y a mantenerse constantes en trigo. Adicionalmente, la comparación mediante ANOVA del desempeño de cada clon antes y después del período de experiencia durante 20 generaciones en trigo mostró que, excepto para el clon I32 que disminuyó significativamente, el r_m tuvo una clara tendencia a aumentar en maicillo y a mantenerse constante en trigo, aun cuando sólo en tres clones el aumento en maicillo fue significativo (Fig. 7a). Sin embargo, con excepción de algunos clones, en general no hubo variación significativa de las variables componentes del r_m (TPR y NNP) antes y después de experiencia (Fig. 7b y c). No obstante, se observan algunas tendencias al aumento del desempeño en maicillo (clones CH4, CH5, LA2, I5, I32, LS2 en TPR y CH5, I5, JGM4, LS1 LS2 en NNP) y a una disminución en trigo (clones I5, I32 en TPR y todos los clones en NNP).

Los resultados analizados hasta ahora muestran que la experiencia en un hospedero alternativo (trigo) es capaz de inducir cambios fenotípicos que alteran el patrón de especialización en el uso del hospedero de origen (maicillo). Sin embargo, los cambios observados no sustentan las hipótesis propuestas en la tesis, que planteaba que después de 20 generaciones en el hospedero alternativo mejoraría el desempeño en el mismo y disminuiría o se mantendría el desempeño en el hospedero de origen.

Esta aparente discordancia con las hipótesis planteadas y con resultados encontrados en trabajos anteriores, que muestran aumento o tendencias al aumento del desempeño en un hospedero alternativo después de un período de experiencia en él (Douglas 1997) probablemente se deba a que el trigo, o la variedad de trigo utilizada,

sería un hospedero muy adverso para esta especie de áfido. Esto se denota dada la alta mortalidad de clones durante el período de experiencia en trigo. Esta idea se discute con mayor detalle más adelante, pero dado que un hospedero alternativo es capaz de inducir cambios fenotípicos en algunos clones de esta especie, quedaría abierta la pregunta si un hospedero con “niveles de exigencia” similares al hospedero de origen sería capaz de inducir cambios tales que lleven a un aumento del desempeño luego de experiencia en él.

Respecto de la sobrevivencia, los resultados de esta tesis mostraron la desaparición de aproximadamente el 65% de los clones durante el período de experiencia en trigo. Esta desaparición gradual de la mayoría de los clones puede indicar que el período de experiencia sobre un hospedero desfavorable actuaría como un factor de selección. Sin embargo, este factor de selección no estaría seleccionando necesariamente aquellos clones que sobreviven más en maicillo o en trigo. Si observamos la Tabla 4 veremos que en la primera evaluación de sobrevivencia 1) sólo tres de los clones sobrevivientes (CH4, I5 y LS1) presentaron sobrevivencia significativamente menor en trigo que en maicillo y los cinco restantes que sobrevivieron no difirieron significativamente en la sobrevivencia sobre ambos hospederos y 2) los clones seleccionados no presentaron valores de sobrevivencia sobre trigo comparativamente mayores que los clones que desaparecieron (Tabla 4). Por lo tanto, los clones que lograron sobrevivir serían aquellos que habrían sido capaces de resistir a través de la experiencia un probable efecto negativo acumulativo ejercido por el trigo sobre los individuos de esta especie y no los que presentaron mayor sobrevivencia en trigo antes de someterse al período de experiencia. Se ha reportado que el trigo produce antibiosis y un efecto antialimentario en áfidos de cereales (Argandoña et al. 1983, Leszczynski et al. 1989, Thackray et al. 1990, Givovich & Niemeyer 1995). Sin embargo, los 8 clones sobrevivientes habrían tenido la capacidad de sobrellevar los mencionados efectos producidos por el trigo. Probablemente esta capacidad tendría base genética, pero ésta habría sido expresada mediante experiencia en el hospedero alternativo.

Por otro lado, Douglas (1997), como fue mencionado antes, encontró un compromiso en la sobrevivencia de *A. fabae* sobre dos hospederos y que a lo largo de sucesivas generaciones de experiencia, el desempeño de un clon sobre el hospedero alternativo mostró un aumento significativo. La autora sugirió que la intensidad del compromiso encontrado disminuye a medida que aumenta el tiempo sobre el nuevo hospedero. Similarmente, aunque con relación a la sobrevivencia, los resultados de esta tesis muestran que ésta, en general fue mayor en maicillo que en trigo, antes del período de experiencia (Fig. 5). Pero, el período de experiencia en trigo produjo dos claras alteraciones en la sobrevivencia de los 8 clones que lograron sobrevivir. Por un lado, la sobrevivencia general sobre trigo aumentó hasta alcanzar un valor que no difiere de la sobrevivencia en maicillo (Fig. 9) y por otro lado, al comparar directamente la sobrevivencia de cada clon en cada hospedero antes y después del período de experiencia (Tabla 8), se observó que tres clones (CH4, I32 y LS1) aumentaron significativamente su sobrevivencia en trigo y el clon I5 mostró una clara tendencia al aumento de la sobrevivencia en el mismo hospedero. Es decir, se produjo un aumento de la sobrevivencia en trigo, en 4 de 8 clones de *R. maidis* respecto de la sobrevivencia observada antes del período de experiencia, mientras que ningún clon modificó

significativamente su sobrevivencia en maicillo (Tabla 8). Estos resultados sugieren que si bien la experiencia sobre trigo selecciona aquellos clones (genotipos) con la capacidad de sobrellevar el mencionado efecto negativo acumulativo ejercido por el trigo, el mismo periodo de experiencia llevaría a un aumento de la sobrevivencia en el mismo hospedero.

El trigo, entonces sería un hospedero muy exigente para *R. maidis* y probablemente induzca cambios fenotípicos que se expresan en un aumento de la maquinaria reproductiva y/o fisiológica de los clones, de manera que éstos puedan sobrevivir al período de experiencia sobre el hospedero. Así, al momento de ser traspasados a un hospedero favorable que no ejerce las mismas presiones que el trigo, tales modificaciones se mantendrían, resultando en una suerte de inercia que sería la responsable del aumento del desempeño con respecto del desempeño en maicillo antes de la experiencia en trigo en la mayoría de los clones.

La hipótesis anterior se ve reforzada con los resultados obtenidos en la tercera parte de la tesis, esto es, después de tres generaciones de regreso en maicillo. En ésta, la evaluación mostró que en las tres variables analizadas hay una disminución significativa del desempeño con relación al mostrado después del período de experiencia en trigo, alcanzando valores que no difieren significativamente del desempeño mostrado en la primera evaluación (antes del periodo de experiencia en trigo) (Fig. 10). Es decir, después de volver a maicillo por tres generaciones, los clones vuelven a valores de desempeño que mostraron antes del período de experiencia en trigo. Este resultado indica que el cambio fenotípico inducido por la experiencia trigo sería un efecto reversible a corto plazo y que los 8 clones que sobreviven al período de experiencia conservan la capacidad de usar maicillo (el hospedero de origen), aun cuando son capaces de sobrevivir y usar trigo como hospedero.

Los resultados de esta tesis sugieren que el trigo actúa como un hospedero altamente selectivo para los clones de *R. maidis*. No obstante, es importante destacar que esta especie de áfido tiene la potencialidad genética de usar trigo como hospedero, puesto que un 26% de los clones estudiados tienen la capacidad de sobrevivir en trigo. Pese a que algunos clones fueron capaces de sobrevivir y usar trigo durante 20 generaciones, período que corresponde a seis meses, el desempeño nunca alcanzó valores similares al desempeño en maicillo. Sin embargo, la sobrevivencia en trigo aumentó luego del período de experiencia en él, por lo tanto es factible pensar que un período de experiencia más prolongado podría en algún momento inducir cambios más importantes de sobrevivencia y/o desempeño de *R. maidis*, y finalmente incorporar al trigo dentro de su rango de hospederos frecuentes.

Por otro lado, si *R. maidis* parece tener la capacidad de usar al trigo como hospedero, ¿ por qué es tan poco frecuente en trigo? Si bien, a través de experiencia por un período de seis meses, la sobrevivencia y no así el desempeño de algunos clones sobre trigo alcanza valores similares a la sobrevivencia sobre maicillo (hospedero muy frecuente de *R. maidis*) la baja frecuencia de uso de este hospedero en terreno por parte de este áfido es evidente y es probable que se deba más bien a factores extrínsecos al insecto. Entre estos, se podría considerar factores ecológicos (depredación, parasitismo o competencia interespecífica) o la constante desaparición de terreno de este hospedero, pues debido a la cosecha, el trigo no permanece en terreno por un período mayor a seis

meses. Respecto a esto último, sería poco probable que en terreno ocurra un período de experiencia mayor que el usado en esta tesis, de tal manera que, aun cuando en esta especie exista la potencialidad de usar el trigo como hospedero frecuente, la probabilidad de que ocurra mediante el mecanismo propuesto en esta tesis, es baja.

Si la experiencia no es capaz de modificar el patrón de especialización de *R. maidis*, y la componente genética juega un papel más importante en lo que se refiere a sobrevivencia en un nuevo hospedero, entonces el mecanismo de formación de razas o biotipos en esta especie sería principalmente por diferenciaciones genéticas. Así, si en algún momento emerge un clon que es apto para sobrevivir y desempeñarse en un hospedero alternativo, entonces cabe la posibilidad de la incorporación de un nuevo hospedero a su dieta, o bien un cambio de hospedero, primer paso de la formación de biotipos, razas o especies (Guldemon and Mackenzie 1994).

No se puede descartar de plano el efecto de la experiencia en el patrón de especialización de *R. maidis*, puesto que además de afectar la sobrevivencia de este áfido, ella podría afectar procesos importantes en la especificidad a una planta en particular, como es la elección de hospedero (Guldemon and Mackenzie 1994). De hecho, se ha evidenciado en muchos insectos fitófagos que la experiencia es capaz de modificar la elección del recurso hospedero (Futuyma 1983, Futuyma & Philippi 1987, Jaenike & Papaj 1992, Papaj & Prokopy 1990, Szentesi y Jremy 1990, Mackenzie & Guldemon 1994). Este proceso sería el primer paso para la aceptación de un nuevo hospedero, pero necesariamente debe ir acompañado de un alto desempeño para que se produzca un cambio definitivo de hospedero ("host shift"). En este sentido, por problemas de obtención de alados (el morfo responsable de la elección de hospederos, Dixon 1992) de *R. maidis* en laboratorio, en esta tesis no fue posible evaluar elección de hospederos de estos clones. Sin embargo, aun cuando la experiencia modificase el proceso de selección y algunos de estos clones eligiesen más las plantas de trigo luego de un período de experiencia, los resultados mostraron que el desempeño en trigo no varía mediante este mecanismo, por lo tanto, el patrón de especialización no se vería modificado.

La tasa intrínseca de incremento poblacional se compone de otras dos variables de desempeño que difirieron substancialmente en la modulación ambiental que soportan. Mientras el tiempo a la primera reproducción resultó ser una variable determinada genéticamente, que no varió significativamente de un hospedero a otro ni con la experiencia, el número de ninfas producido por clon mostró ser una variable que en ciertos clones varió de un hospedero a otro. Esto implica que mientras algunos genotipos no tienen la capacidad de modificar alguna variable de desempeño según el ambiente al que se ven enfrentados, otros sí la tienen. De esta manera, es posible pensar en una mayor importancia relativa de la componente genética es fundamental en el patrón de especialización de este áfido, pero sin escapar por completo de cierta modulación ambiental capaz de modificar de alguna manera parámetros de desempeño que son importantes en el patrón de especialización de un insecto fitófago.

**¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE
Rhopalosiphum maidis (Homoptera: Aphididae)?**

CONCLUSIONES

Ocho de los 23 clones (genotipos) de *R. maidis* utilizados en esta tesis tienen la potencialidad de usar al trigo como hospedero, por lo que se sugiere que tal potencialidad tiene una importante base genética. En principio, la experiencia sobre trigo estaría actuando fundamentalmente como un agente selectivo y estaría seleccionando sólo aquellos genotipos más plásticos, capaces de modificar su fenotipo presumiblemente alterando la maquinaria fisiológica-reproductiva. Sin embargo y, aunque la experiencia no fue capaz de inducir un aumento del uso de este hospedero alternativo, sí fue capaz de inducir en estos 8 clones un aumento de la sobrevivencia en trigo, pero manteniendo sin modificación la sobrevivencia en maicillo. Esto sugiere que la experiencia en este hospedero alternativo es capaz de modificar transitoriamente el patrón de especialización de *R. maidis*, pero de manera tal que no disminuye el desempeño ni la sobrevivencia en el hospedero de origen, sino que aumenta la sobrevivencia y la probabilidad de usar el hospedero alternativo.

Por otro lado, aun cuando los resultados mostraron que el desempeño no aumentó en el hospedero alternativo después de experiencia en él, sí se observó evidencia de un cambio fenotípico aparente, que se tradujo en un aumento en la maquinaria fisiológica-reproductiva de *R. maidis* y aumento de la sobrevivencia sobre el hospedero alternativo. Vemos así que al igual que otros insectos fitófagos en los que se ha evidenciado efecto de la experiencia en algún parámetro de desempeño o en elección de hospedero, la experiencia sí produjo un efecto en este áfido. Es probable entonces que la experiencia sobre un hospedero menos hostil que el trigo y con un nivel de exigencia menor o similar al hospedero de origen, produzca un efecto más importante y pueda

¿ ES CAPAZ LA EXPERIENCIA DE MODIFICAR EL PATRÓN DE ESPECIALIZACIÓN DE *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae)?

traducirse en un efectivo aumento del desempeño en él.

Estaríamos, entonces, frente a una probabilidad de aumento del espectro de hospederos inducido por experiencia sobre un hospedero alternativo. Sería interesante, por tanto, un estudio similar que involucre un hospedero alternativo menos exigente, como podrían ser variedades de trigo “menos exigentes” o bien otra gramínea silvestre.

REFERENCIAS

- Apablaza, J.U. y A.G. Robinson. 1967. Effects on three species of grain aphids (Homoptera: Aphididae) reared on wheat, oats or barley and transferred as adults to wheat, oats or barley. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 10 : 358-362.
- Apablaza, J. U. Y V. Tiska V. 1973. Poblaciones de áfidos (Homoptera: Aphididae) en trigo de la zona central chilena. *Revista Chilena de Entomología* 7: 174-180.
- Argandoña, V.H., L.J. Corcuera, H.M. Niemeyer, y B.C. Campbell. 1983. Toxicity and feeding deterrence of hydroxamic acids from Gramineae in synthetic diets against the greenbug, *Schizaphis graminum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 34: 134-138.
- Bernays, E.A. 1996. Selective attention and host-plant specialization. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 80: 125-131.
- Bernays, E.A. & R. F. Chapman 1994. *Host-plant Selection by Phytophagous Insects*. Chapman & Hall, inc. USA. Pp. 259-285.
- Blackman, R.L. & V. F. Eastop. 1984. *Aphids on the world's crops. An identification guide*. John Willey and sons, Chichester.
- Bush, G. L. 1969. Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus *Rhagoletis* (Diptera, Tephritidae). *Evolution* 23: 237-251.
- De Barro, P.J. T.N. Sherratt, O. David y N. Maclean 1995. An investigation of the differential performance of clones of the aphid *S. avenae* on two host species.

- Oecologia 104 : 379-385.
- Dixon A.F.G. 1992. Aphid Ecology. An optimization approach. 2^o Edition. Chapman and Hall. New York, USA. pp. 1-58.
- Douglas, A.E. 1997. Provenance, experience and plant utilization by the polyphagous aphid, *Aphis fabae*. Entomologia experimentalis et Applicata 83 : 161-170.
- Etchegaray, J. 1975. Biología del pulgón del maíz, *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae). Ciencia e Investigación Agraria 2: 195-205.
- Eastop, V.F. 1973. Deductions from present day host plants of aphid and related insects. In: *Insect/plant Relationships*. H.F van Emden. Oxford : Blackwell. pp 157-178.
- Figueroa, C.C., J.C. Simon, J. Le Gallic, H.M. Niemeyer. Molecular markers to differentiate two morphologically-close species of the genus *Sitobion*. Entomologia Experimentalis et Applicata. (*in press*).
- Fox, L.R. & P.A. Morrow. 1981. Specialization: species property or local phenomenon?. Science Vol. 211: 887-893.
- Futuyma D.J., Philippi T.E. (1987) Genetic variation and covariation in responses to host plants by *Alsophila pometaria* (Lepidoptera: Geometridae). Evolution 41: 269-279
- Futuyma D. J. & G. Moreno. 1988 The evolution of ecological specialization. Annual Review of Ecology and Systematics. 19: 207-234.
- Futyma D.J. 1983. Selective factors in the evolution of host choice by phytophagous insects. En: *Herbivorous insects*. Ahmad, New York . Academic press. pp 227-244
- Givovich, A., y H.M. Niemeyer. 1995. Comparison of the effect of hydroxamic acids from wheat on five species of cereal aphids. Entomologia Experimentalis et Applicata 74: 115-119.
- Guldemon, J.A. & A. Mackenzie 1994. Sympatric speciation in aphids. I. Host race formation by escape from gene flow. En *Individuals, Populations and Patterns in Ecology* Mc Cure 1975 Leather, S.R., A.D. Watt, N.J. Mills y K.F. Walters (eds). Intercept. Andover, Hampshire. pp. 367-378.
- Jaenike, J. 1990. Host specialization in Phytophagous insects. Annual Review of Ecological Systematics 21 : 243-273.
- Jaenike, J.& D. Grimaldi. 1983. Genetic variation for host preference within and among populations of *Drosophila tripunctata*. Evolution 37: 1023-1033.
- Jaenike, J. & Papaj, D.R. 1992. Behavioral plasticity and patterns of use by insects. En: *Insect Chemical Ecology. An Evolutionary Approach*. Rotberg, B. D. & Isman, M. B. (eds.) Routledge, Chapman & Hall, inc. USA. Pp. 20-88
- Levins & MacArthur 1969. An hypothesis to explain the incidence of monophagy. Ecology 50: 910-911
- Leszczynski, B., L.C. Wrigth, y T. Barowsky. 1989. Effect of secondary plant substances on winter wheat resistance to grain aphid. Entomologia Experimentalis et Applicata 52: 135-139.
- Mackenzie, A. & J.A. Guldemon 1994. Sympatric speciation in aphids. II. Host race formation in the face of gene flow. In: *Individuals, Populations and Patterns in*

-
- Ecology*. Mc Cure 1975 Leather, S.R., A.D. Watt, N.J. Mills y K.F. Walters (eds). Intercept. Andover, Hampshire. Pp. 379-395.
- Mackenzie, A. 1996. A trade-off for host plant utilization in the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Evolution* 50: 155-162.
- Mattey, O. J. 1995. Manual de las Malezas que Crecen en Chile. Alfabeta impresores. Chile.
- Papaj, D.R. & Prokopy, R.J. 1989. Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 34: 315-50.
- Rausher M. D. 1992. Natural selection and the evolution of plant-insect interactions. En: *Insect Chemical Ecology. An Evolutionary Approach*. Rotberg, B. D. & Isman, M. B. (eds.) Routledge, Chapman & Hall, inc. USA. pp. 20-88
- Sary, P., F. Rodríguez y J. Remaudiere. 1994. Asociación planta-áfidos-parasitoide (Hom., Aphidoidea; Hym., Aphididae), en la zona central de Chile. *Agricultura Técnica* 54: 46-53.
- Sunnucks, P. & D.F. Hales, 1996. Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I-II in aphids of the genus *Sitobion* (Hemiptera: Aphididae). *Molecular Biology and Evolution* 13: 510-524.
- Szentesi, A. & T. Jremy. 1990. The role of experience in host plant choice by phytophagous insects. In *Insect-plant Interactions Vol. II*. Bernays, E. A. CRC Press. USA. Pp. 39-74.
- Thackray, D.J., S.D. Wratten, P.J. Edwards, y H.M. Niemeyer. 1990. Resistance to the aphids *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi* in Gramineae in relation to hydroxamic acid levels. *Annals of Applied Biology* 116: 573-582.
- Via, S. 1990. Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems. *Annual Review of Entomology* 35 : 421-446.
- Via, S. 1991. Specialised host plant performance of pea aphid is not altered by experience. *Ecology* 72 : 1420-1427.
- Via, S. 1994. The evolution of phenotypic plasticity: What do we really know? En: *Ecological Genetics*. L. A. Real (eds.). Princeton University Press. Princeton. pp. 35-57.
- Weber, G. 1985. On the ecological genetics of *Sitobion avenae* (F). (Hemiptera, Aphididae). *Journal of Applied Entomology* 100 : 100-108.
- Welsh, J. & M. McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18: 7213-7218.
- Williams, J.G.J., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. & S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- Wyatt, I.J. y P.F. White. 1977. Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. *Journal of Applied Ecology* 14 : 757-766.
- Zúñiga, E. S. 1969. Lista preliminar de áfidos que atacan cultivos en Chile, sus huéspedes y enemigos naturales. *Agricultura Técnica* 27: 165-177.