

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Influencia de la planta hospedera sobre la morfología y algunos aspectos fisiológicos  
del áfido ceniciento de la col *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae)

Disertación previa a la obtención del título de

Licenciada en Ciencias Biológicas

PAULA GABRIELA TERÁN OSPINA

QUITO, 2011

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata Paula Gabriela Terán Ospina ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

M.Sc Álvaro Barragán

Director de Disertación

Quito, Marzo 2011

*“A los bichos, que están ahí para recordarme  
siempre de la belleza y la importancia  
de las cosas pequeñas”*

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mi mamá, Marta, por brindarme siempre la apertura para descubrir mis pasiones y vocaciones, y por el apoyo y amor incondicionales que me han impulsado a ir tras de ellas y alcanzarlas. También a Alex Muller, por enseñarme a coger cangrejos en la playa cuando tenía 7 años y por el apoyo de padre que me ha brindado desde entonces.

Agradezco a Álvaro Barragán, mi director de tesis, por ser mucho más que eso. Ha sido también mi profesor, mentor, compañero de campo y amigo. La confianza que me ha brindado y las responsabilidades que me ha delegado a lo largo del tiempo me impulsaron a entrar a fondo a mi tema de interés y a sobrellevar las dificultades de incursionarme en una temática de la que muy poco se sabía hasta el momento en nuestro país.

A los lectores encargados de revisar este trabajo, Dr. Olivier Dangles y Dra. María Eugenia Ordoñez, por las valiosas observaciones y comentarios que ayudaron a mejorar la calidad de este documento. Además, agradezco a ambos por el apoyo brindado y las buenas ideas que compartieron conmigo a lo largo del desarrollo y/o culminación de esta investigación.

Quiero agradecer a todos los profesores que a lo largo de la carrera contribuyeron a alimentar mi pasión por la biología y el estudio de la vida, especialmente a Clifford Keil, Jaime Jaramillo, Tjitte deVries, Luis Coloma, Santiago Ron y Oscar Pérez, quienes, de diversas maneras me han motivado y me han impulsado a llevar adelante mi trabajo y confiar en mis esfuerzos.

Agradezco al ingeniero Julio Sánchez Otero y a Pablo Menendez por sus valiosos comentarios y sugerencias en cuanto a los análisis estadísticos de este trabajo.

Quiero agradecer a la Dra. Lorena Ruiz-Montoya (ECOSUR), y al Dr. Gary Millar (USDA) por interesarse en mi trabajo a la distancia y compartir conmigo ideas y consejos que ayudaron a mejorar tanto el estudio en cuestión como el manuscrito.

A Luis Felipe Camacho, Mauricio Vega y Giovanni Ramón por su colaboración en el campo y en el invernadero; además por el invaluable apoyo, tanto a nivel académico como moral que me brindaron a lo largo de la realización de este trabajo.

A todos mis compañeros del museo QCAZ, que por el simple hecho de brindarme su amistad y de interesarse por mi trabajo, me dieron ánimos para seguir adelante y confiar en que “algo bueno” iba a salir, aunque me de cuenta de ello recién estando a punto de acabar la tesis.

## TABLA DE CONTENIDOS

	<b>Pág.</b>
AGRADECIMIENTOS .....	v
TABLA DE CONTENIDOS .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE TABLAS .....	xi
LISTA DE ANEXOS .....	xii
1. RESUMEN .....	1
2. ABSTRACT .....	2
3. INTRODUCCIÓN .....	3
3.1 LOS ÁFIDOS .....	3
3.2 PLASTICIDAD FENOTÍPICA .....	4
3.3 ESTUDIOS DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN ÁFIDOS .....	7
3.4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	9
3.5 OBJETIVOS .....	10
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	11
4.1 SUJETOS DE ESTUDIO .....	11
4.1.1 EL ÁFIDO .....	11
4.1.2 PLANTAS HOSPEDERAS .....	11
4.2 ÁREA DE EXPERIMENTACIÓN .....	12
4.3 CRÍA DE PLANTAS HOSPEDERAS .....	12
4.4 ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA CLONAL DE ÁFIDOS .....	13
4.5 EXPERIMENTO DE CRUCES RECÍPROCOS .....	14
4.5.1 ENSAYO DE MORFOMETRÍA .....	14

4.5.1.1 MONTAJE Y MEDICIÓN DE ÁFIDOS .....	14
4.5.2 FECUNDIDAD, TIEMPO DE DESARROLLO Y TASA INTRÍNSECA DE CRECIMIENTO .....	16
4.5.2.1 ENSAYO UNO .....	16
4.5.2.2 ENSAYO DOS .....	17
4.6 ANÁLISIS BIOQUÍMICOS DE PLANTAS HOSPEDERAS .....	17
4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	18
4.7.1 MORFOMETRÍA .....	18
4.7.2 ASPECTOS FISIOLÓGICOS .....	18
4.7.3 ANÁLISIS DE NITRÓGENO DE PLANTAS HOSPEDERAS .....	18
5. RESULTADOS .....	19
5.1 MORFOMETRÍA .....	19
5.1.1 ANÁLISIS DISCRMINANTES (DFA) PARA TODOS LOS TRATAMIENTOS .....	19
5.1.2 DFA PARA PLANTAS ORIGEN .....	20
5.1.2.1 ORIGENES ANALIZADOS INDIVIDUALMENTE .....	20
5.1.3 DFA PARA PLANTAS RECIPIENTE .....	22
5.1.3.1 RECIPIENTES ANALIZADOS INDIVIDUALMENTE .....	23
5.2 FECUNDIDAD, TIEMPO DE DESARROLLO Y TASA INTRÍNSECA DE CRECIMIENTO .....	25
5.2.1 ENSAYO 1 .....	25
5.2.2 ENSAYO 2 .....	26
5.3 ANALISIS DE NITRÓGENO DE LAS PLANTAS HOSPEDERAS .....	28
6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES .....	29
6.1 ASPECTOS MORFOLÓGICOS .....	29

6.2 ASPECTOS FISIOLÓGICOS .....	32
6.3 ASPECTOS METODOLÓGICOS .....	37
6.4 ALCANCE Y PROYECCIÓN DEL ESTUDIO .....	40
7. LITERATURA CITADA .....	41
8. FIGURAS .....	46
9. TABLAS .....	58
10. ANEXOS .....	73

**LISTADO DE FIGURAS**

Figura 1. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos de 5ª generación en todos los tratamientos.....	47
Figura 2. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos de 5ª generación en los tratamientos agrupados por planta de origen.....	48
Figura 3. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas recipientes cuyo origen fue la col.....	49
Figura 4. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas recipientes cuyo origen fue la mostaza .....	50
Figura 5. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas recipientes cuyo origen fue el rábano .....	51
Figura 6. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos de 5ª generación en los tratamientos agrupados por planta recipiente .....	52
Figura 7. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas origen cuyo recipiente fue la col.....	53
Figura 8. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas origen cuyo recipiente fue la mostaza.....	54
Figura 9. Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas origen cuyo recipiente fue el rábano.....	55
Figura 10. Gráficos de barras de error para el ensayo 1 (fisiología).....	56
Figura 11. Gráficos de barras de error para el ensayo 2 (fisiología).....	57

**LISTADO DE TABLAS**

Tabla 1. Porcentajes de clasificación correcta para todos los tratamientos a partir de los análisis discriminantes.....	59
Tabla 2. Aporte de cada función discriminante a la variación morfológica total.....	61
Tabla 3. Correlaciones entre las variables morfométricas y las funciones discriminantes obtenidas a partir del análisis discriminante.....	62
Tabla 4. Resultados de los MANOVA realizados en base a los puntajes discriminantes de cada análisis.....	66
Tabla 5. Prueba de Tamhane de comparaciones múltiples entre puntajes discriminantes.....	66
Tabla 6. ANOVAS factoriales para fecundidad (F), tiempo de desarrollo (TD) y tasa intrínseca de crecimiento (RM).....	68
Tabla 7. Pruebas post-hoc para el ensayo (fisiología).....	69
Tabla 8. Pruebas post-hoc para el ensayo 2 (fisiología).....	70
Tabla 9. ANOVA para % de nitrógeno de las tres plantas hospederas.....	71
Tabla 10. Prueba post hoc de Duncan para % de N de las tres plantas hospederas.....	72

**LISTADO DE ANEXOS**

Anexo 1. Plantas hospederas utilizadas en el estudio.....	74
Anexo 2. Proceso de siembra sucesiva de las plantas hospederas.....	75
Anexo 3. Métodos utilizados para cría y manipulación de plantas y áfidos .....	76
Anexo 4. Descripción gráfica del diseño experimental empleado para llevar a cabo el ensayo de cruces recíprocos.....	77
Anexo 5. Medidas tomadas de los áfidos.....	78
Anexo 6. Superficie de las hojas de las tres plantas hospederas.....	79
Anexo 7. Promedios de las variables que más aportaron a las dos funciones discriminantes.....	80

## 1. RESUMEN

Plasticidad fenotípica es la capacidad de un organismo para responder fenotípicamente hacia las variaciones ambientales sin que intervenga el factor genético. Se llevó a cabo un experimento de cruces recíprocos involucrando al áfido *Brevycoryne brassicae* y tres plantas hospederas: col, rábano y mostaza, con el objetivo de evaluar su plasticidad fenotípica. El experimento tuvo un componente morfométrico y un componente fisiológico.

Se comprobó la existencia de plasticidad fenotípica morfológica y fisiológica por parte de los áfidos hacia a las distintas plantas hospederas. Se descartó la presencia de efectos maternos, ya que los áfidos no tuvieron mayor aptitud al ser criados en sus mismas plantas origen, sino que siempre mostraron un mejor desempeño en la mostaza. Esta planta tuvo el mayor porcentaje de nitrógeno, sugiriendo que la calidad de la planta hospedera dicta los cambios fenotípicos de los áfidos, y no un acostumbamiento a las plantas en las que fueron criadas sus madres. La longitud corporal de los áfidos varió de acuerdo con las variables de aptitud fisiológica. La variación en los apéndices fue mínima pero podría considerarse un estado incipiente de diferenciación en base a las características superficiales de las plantas hospederas.

Este estudio marca un precedente para futuras investigaciones con áfidos ecuatorianos referentes a las interacciones áfido-planta-enemigos naturales, y para un posible planteamiento de mecanismos de control integrado de plagas.

**Palabras clave:** Áfidos, *Brevicoryne brassicae*, Brassicaceae, plasticidad fenotípica, planta hospedera, efectos maternos

## 2. ABSTRACT

Phenotypic plasticity can be described as the ability of an organism to respond phenotypically to environmental variation without the intervention of the genetic factor. A reciprocal transfer experiment was performed on the aphid *Brevicoryne brassicae* regarding three different host plants: cabbage, mustard and raddish. The aim of the study was to evaluate phenotypic plasticity in the aphid. The experiment had a morphometric and a physiological component.

The existence of phenotypic plasticity was confirmed, regarding both morphological and physiological responses of the aphid towards each of the host plants. Maternal effects were ruled out, due to the aphids not showing a higher aptitude on their source plants, but always having a better performance on mustard, regardless of the plant they came from. Mustard showed the highest nitrogen content of the three plants, suggesting that plant nutritional quality dictated the aphids' plastic responses, and not acclimatation of the aphids to the plants where their mothers where reared. Body length had a variation pattern similar to that of the physiological variables, which reflects a known relationship between insect body size and reproductive rate. Appendage length showed minimal variation, but it can be considered an incipient state of differentiation related to morphological characteristics of the plants.

The present study sets a guideline for future research of ecuadorian aphids regarding plant-herbivore-natural enemy interactions, and for the possibility of structuring integrated pest management plans.

**Key words:** Aphids, *Brevicoryne brassicae*, Brassicaceae, phenotypic plasticity, host plant, maternal effects

### 3. INTRODUCCIÓN

#### 3.1 LOS ÁFIDOS

Los áfidos son insectos fitófagos de cuerpo suave, cuyas poblaciones se estructuran en colonias clonales (Verheggen *et al.*, 2008). Son plagas agrícolas importantes (Kunert & Weisser, 2005; Will *et al.*, 2007; Verheggen, 2008), ya que tienen una capacidad reproductiva inigualable y en el proceso de alimentarse de los fluidos de las plantas pueden manipular su fisiología y transmitir una gran cantidad de virus fitopatógenos (Dixon, 1998; Kunert & Weisser, 2005; Powell *et al.*, 2006; Goggin, 2007; Trionnaire *et al.*, 2008; Broekgaarden *et al.*, 2008). Su impacto económico radica en que pueden utilizar una gran variedad de plantas cultivadas, ornamentales y forestales, y pueden ser encontrados sobre tallos, hojas, inflorescencias e incluso en las raíces (Devi & Singh, 2007). Las infestaciones de áfidos pueden causar clorosis, necrosis, deformación de los tejidos en desarrollo y eventual marchitamiento de las plantas (Martin & Ronald, 2007; Goggin, 2007; Broekgaarden, 2008).

El rápido crecimiento poblacional de los áfidos se debe a su modo reproductivo. Estos insectos se reproducen por partenogénesis apomíctica, es decir que sus óvulos pueden formar embriones sin atravesar los procesos de división meiótica ni fecundación, por lo que todos los descendientes de una hembra son sus clones (Dixon, 1998; Simon *et al.*, 2002; Powell *et al.*, 2006; Braendel *et al.*, 2006; Goggin, 2007; Trionnaire *et al.*, 2008). Además, un embrión dentro de su madre carga con sus propios embriones en vía de desarrollo. Esto se conoce como crecimiento telescópico de generaciones (Dixon, 1998; Simon *et al.*, 2002; Miura *et al.*, 2003; Braendel *et al.*, 2006; Powel *et al.*, 2006). La partenogénesis y el crecimiento telescópico de generaciones confieren a las poblaciones de áfidos un alto potencial

demográfico (Dixon, 1998; Simon *et al.*, 2002). Los áfidos pueden ser holocíclicos, alternando entre varias generaciones partenogénicas y una sexual en el invierno (Dixon, 1998; Simon *et al.*, 2002; Douglas, 2003; Ishikawa & Miura, 2009), o partenogénicos obligados (anholocíclicos), dependiendo de la estacionalidad del ambiente. Pocos áfidos son anholocíclicos (Simon *et al.*, 2002). La alternancia de generaciones les permite combinar los beneficios de la recombinación en la reproducción sexual con el alto potencial demográfico de la reproducción asexual (Simon *et al.*, 2002; Agarwala, 2007).

El áfido ceniciento de la col, *Brevicoryne brassicae* es considerado una de las plagas de insectos más persistentes y dañinas para las Brassicaceas (Cruciferae) a nivel mundial (Hughes, 1963; Satar *et al.*, 2005; Pontoppidan *et al.*, 2003). *B. brassicae* puede utilizar hasta 97 especies de Crucíferas (Gabrys & Pawluk, 1999), entre variedades silvestres y cultivos importantes. Además de causar daños mecánicos importantes en las plantas, *B. brassicae* es transmisor de 20- 23 virus que afectan a las Brassicáceas (Chan *et al.*, 1991 en Satar *et al.*, 2005; Martin & Ronald, 2007). Además, puede causar daños indirectos por excreción de melado sobre las hojas (Satar *et al.*, 2005).

### **3.2 PLASTICIDAD FENOTÍPICA**

La variación fenotípica total de los organismos puede verse como la suma de un componente genético y un componente ambiental (Borja & Lomonaco, 2003; DeWitt & Scheiner, 2004; Agarwala, 2007). Sin embargo, es posible que un mismo genotipo produzca distintos fenotipos dependiendo de las condiciones ambientales. A esto se denomina plasticidad fenotípica (Nylín & Gotthard, 1998; Agrawal, 2001; Relyea, 2002; DeWitt & Scheiner, 2004; Pigliucci, 2005; Leal-Aguilar *et al.*, 2008).

La plasticidad fenotípica se considera una solución adaptativa para organismos que viven en ambientes heterogéneos (Relyea, 2002; Borja & Lomonaco, 2003), ya que les permite mantener una aptitud alta a pesar de las condiciones ambientales cambiantes (Agrawal, 2001; Moczek, 2010). Según Borja & Lomonaco (2003), la ventaja de la plasticidad fenotípica radica en la producción de fenotipos superiores sin la necesidad de recurrir a cambios genéticos mayores. Sin embargo, el estudio de las bases genéticas de la plasticidad fenotípica ha crecido en los últimos años, y ahora se considera a esta como un carácter en sí mismo, determinado genéticamente (DeWitt & Scheiner, 2004). Bajo esta suposición, poseer plasticidad fenotípica puede ser beneficioso, pero también puede acarrear costos por la manutención de maquinarias genéticas y celulares (Borja & Lomonaco, 2003) que permiten el funcionamiento de sistemas sensoriales y mecanismos de respuesta al ambiente necesarios para gatillar los cambios fenotípicos (Relyea, 2002). Esta temática se encuentra en sus inicios: hasta recientemente se había dedicado un mayor esfuerzo a estudiar los beneficios y costos de los fenotipos particulares producidos por plasticidad, y no de la plasticidad como tal (Relyea, 2002; Pigliucci, 2005).

Para los insectos fitófagos, las plantas hospederas pueden representar ambientes selectivos diferentes (Ruiz-Montoya & Nunez-Farfan, 2009). Tanto la calidad nutricional como la arquitectura y estado defensivo del hospedero pueden actuar como ambientes particulares, con el potencial de inducir cambios generalmente relacionados con la eficiencia de alimentación (Ruiz-Montoya *et al.*, 2005; Leal-Aguilar *et al.*, 2008). En esos casos, es posible que se gatille una diferenciación genética entre poblaciones (Ruiz-Montoya *et al.*, 2003). Sin embargo, la diferenciación fenotípica podría ser producto únicamente del factor ambiental si los genotipos son suficientemente plásticos y los organismos son sensibles a los cambios

ambientales (Via, 1987; Ruiz- Montoya *et al.*, 2005). En este caso se habla de polifenismo (Nylín & Gotthard, 1998). Los insectos fitófagos polifénicos son capaces de producir variantes morfológicas, fisiológicas y comportamentales que se adaptan a las características anatómicas, nutricionales y toxicológicas de sus hospederos (Borja & Lomonaco, 2003; Leal- Aguilar *et al.*, 2008; Ruiz- Montoya *et al.*, 2005).

Los efectos maternos también han formado parte de la temática relacionada a la variación y plasticidad fenotípica de varios organismos, incluidos los insectos fitófagos. Los efectos maternos “no mendelianos” describen la transferencia de información del ambiente materno al fenotipo de la descendencia (Zehnder *et al.*, 2007; Hunter, 2002; McAdam *et al.*, 2001), y estos pueden evolucionar como mecanismos para la plasticidad fenotípica transgeneracional, donde, en respuesta a determinadas pistas ambientales, la madre puede cambiar el tipo de huevo que produce o programar un cambio en el desarrollo de sus crías, produciendo descendencia que se encuentra preparada para las condiciones ambientales predichas por las pistas (Hunter, 2002). En otras palabras, es probable que la experiencia nutricional de la madre lleve a un desempeño mejorado de las crías en el mismo recurso alimenticio, un proceso denominado aclimatación (McLean *et al.*, 2009; Ruiz- Montoya & Núñez-Farfán, 2009). Existen evidencias extensas en insectos fitófagos de que la alimentación de los padres puede tener efectos sustanciales en el desempeño de la descendencia (McLean *et al.*, 2009),

### 3.3 ESTUDIOS DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN ÁFIDOS

Los áfidos se caracterizan por poseer una alta plasticidad fenotípica y excepcional capacidad para adaptarse a ambientes heterogéneos (Agarwala, 2007). Por esto se considera un excelente sistema para el estudio de las consecuencias del uso de distintas plantas hospederas sobre los patrones morfológicos y sobre la evolución de la especialización simpátrica (Ruiz-Montoya *et al.*, 2005). Existen estudios que confirman el potencial plástico de los áfidos para adaptarse a diversos ambientes, proporcionados por el estado nutricional de la planta hospedera, i.e. concentración de nitrógeno o de ciertos compuestos secundarios (Ruiz-Montoya & Núñez-Farfán, 2005; Leal-Aguilar *et al.*, 2008; Agarwala, 2007; Ruiz-Montoya & Núñez-Farfán, 2009), o por aspectos relacionados con su arquitectura, como la presencia de tricomas (Ruiz-Montoya *et al.*, 2005), capas cerosas, o incluso la profundidad del tejido vascular (Agarwala, 2007).

Agarwala (2007) menciona algunos ejemplos de plasticidad fenotípica en áfidos. El áfido *Aphis gossipy* puede expresar dos fenotipos: uno amarillo enano que se alimenta de las venas pequeñas de las láminas foliares, y uno verde y grande que se alimenta de los haces vasculares principales de la planta. Otro ejemplo es el áfido *Lipaphis erysimi*, que muestra diferencias en su morfometría, crecimiento relativo y tasa de aumento cuando proviene de plantas del campo y es criado en las mismas especies de hospederas bajo condiciones de invernadero.

Leal-Aguilar y colaboradores (2008) encontraron respuestas plásticas en la fisiología de *Brevicoryne brassicae* hacia 1) distintos niveles de fertilización con nitrógeno en plantas de una misma especie, y 2) hacia dos especies distintas de hospedera. Los áfidos alcanzaban siempre una mayor aptitud (mayor número de crías o reproducción más rápida) en plantas con mayor contenido de nitrógeno.

Ruiz-Montoya *et al.* (2005) demostraron que *B. brassicae* posee variantes morfológicas dentro de una misma localidad, por el uso de las dos plantas hospederas que ocurren simpátricamente: *Brassica oleracea* (col) y *Brassica campestris* (nabo). Los individuos encontrados en *B. campestris* mostraron apéndices más largos, debido a que esta planta posee una mayor densidad de tricomas que *B. oleracea*. Borja & Lomonaco (2003) obtuvieron resultados similares en líneas clonales de *Myzus persicae* criadas en *B. oleracea* var. *acephala* (nabo chino) y *Raphanus sativus* (rábano). Los áfidos mostraron mayor tamaño corporal en rábano que en nabo chino, lo que se atribuye a la densidad y estructura de los tricomas del rábano. Esto demuestra que áfidos de mayor tamaño, cuyas extremidades y aparatos bucales son más largos, podrían moverse y alimentarse con mayor facilidad en plantas pubescentes (Borja & Lomonaco, 2003; Ruiz-Montoya *et al.*, 2005). También se ha propuesto a la profundidad del floema como un factor determinante del tamaño corporal en áfidos (Borja & Lomonaco, 2003; Agarwala, 2007).

Una investigación relevante para este estudio es la de Ruiz-Montoya & Núñez-Farfán (2009), en la que se analiza, por medio de experimentos de transferencia recíproca de plantas hospederas, el grado de selección natural y los efectos maternos que pueden existir sobre algunos caracteres de la historia natural de *B. brassicae* al establecerse sobre dos plantas hospederas. Utilizaron *B. oleracea* y *B. campestris*, y comprobaron que, aunque el éxito de establecimiento de los áfidos siempre era mayor en la planta de la cual provenía la madre, la fecundidad y la tasa intrínseca de crecimiento siempre eran mayores en *B. campestris*, la planta más nutritiva. Esto indica que la variación en los caracteres de los áfidos se debe más a la calidad de la planta hospedera recipiente que a los efectos maternos (planta de origen).

Con respecto a los efectos maternos, a pesar de que estos han sido encontrados en algunos grupos de insectos, ciertos estudios realizados en áfidos han demostrado que los efectos maternos no cumplen un rol importante para las respuestas fenotípicas de estos insectos, sea hacia distintas plantas hospederas o hacia el parasitismo (Ruiz-Montoya & Núñez-Farfán, 2009; McLean *et al.*, 2009; Vorburger *et al.*, 2008; ).

### **3.4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

La importancia de conocer acerca de la plasticidad fenotípica de poblaciones de insectos fitófagos radica en su potencial para favorecer o limitar la formación de razas e incluso la especiación simpátrica (Leal- Aguilar *et al.*, 2008). El estudio de la variabilidad generada por plasticidad fenotípica es crucial para predecir patrones evolutivos en sistemas planta-insecto (Borja & Lomonaco, 2003; Gorur *et al.*, 2005). Todo lo mencionado adquiere especial importancia en el estudio de plagas agrícolas, ya que la comprensión de las interacciones del insecto con su planta hospedera son un primer paso hacia el desarrollo de métodos naturales de manejo de plagas, en los que se utilizan enemigos naturales como controladores biológicos.

En el Ecuador el estudio de los áfidos se ha limitado a su control químico (ver Llugcha (2001)). Sin embargo, aún se carece de información concreta acerca del daño que están causando los áfidos a los cultivos ecuatorianos de importancia económica. Tampoco existen trabajos sobre la diversidad, ecología de estos insectos en el país. Es indispensable impulsar el estudio de la biología de las plagas agrícolas ecuatorianas para desarrollar un sistema de manejo integrado de plagas en el futuro.

El áfido *B. brassicae* es una plaga cosmopolita y ha sido ampliamente estudiada en algunos lugares del mundo. La razón por la cual se escogió este sujeto de estudio fue la necesidad de impulsar el estudio de la ecología de los áfidos en el Ecuador. Es importante tener un modelo conocido como punto de referencia para estos primeros estudios, y para poder perfeccionar las técnicas de experimentación y manejo de estos insectos; además de que esta especie se encuentra ampliamente distribuida en la sierra ecuatoriana y es fácil acceder a sus poblaciones, lo cual facilita su estudio. Una vez que se tengan mejor estandarizados los procesos de investigación y crezca el conocimiento acerca de la diversidad de áfidos ecuatorianos, se plantea comenzar a trabajar con especies nativas o incluso endémicas, lo cual brindará resultados interesantes y aportará con algo nuevo al conocimiento de los áfidos en el Ecuador.

### **3.5 OBJETIVOS**

Por medio de este estudio se planteó evaluar el grado de plasticidad fenotípica al que pueden inducir distintas plantas hospederas sobre una línea clonal de *Brevicoryne brassicae*, a través de un experimento de transferencia recíproca. Se propusieron los siguientes objetivos específicos: medir la diferenciación morfológica y fisiológica que pueden alcanzar los áfidos al ser criados en col (*Brassica oleracea*), mostaza (*B. nigra*) y rábano (*Raphanus sativus*); determinar si son más importantes los efectos maternos o los efectos de la calidad de planta hospedera; y comprobar si los cambios fenotípicos observados en los áfidos se relacionan con las características nutricionales y morfológicas de las plantas utilizadas.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 SUJETOS DE ESTUDIO

#### 4.1.1 ÁFIDOS

*B. brassicae* suele encontrarse en los capullos, pedicelos florales y hojas de un sinnúmero de Brassicáceas. Son áfidos de mediano tamaño ( ) y cuerpo verde pálido con la cabeza y las marcas torácicas y abdominales oscuras. Sin embargo, los individuos se recubren con cera proveniente de la superficie de sus plantas hospederas y adquieren una apariencia blanquecina (Blackman & Eastop, 2006; Poorani, 2008), lo que facilita su reconocimiento en el campo. En zonas templadas estos áfidos son holocíclicos (presentan fase sexual y asexual), mientras que en zonas cálidas son anholocíclicos (se reproducen partenogenéticamente a lo largo de todo el año) (Blackman & Eastop, 2000); por esta razón se asume que las poblaciones ecuatorianas de este áfido son partenogenéticas estrictas. Los áfidos que intervinieron en este estudio provinieron de plantas de nabo (*Brassica napus*) obtenidas en la localidad de Machachi, Pichincha.

#### 4.1.2 PLANTAS HOSPEDERAS

*Brassica oleracea* (col) y *Raphanus sativus* (rábano), *Brassica nigra* (mostaza) y *Brassica napus* (nabo) son crucíferas que crecen en varias localidades de la serranía ecuatoriana, y por lo general ocurren simpátricamente (Anexo 1). La col y el rábano suelen formar parte de una gran cantidad de huertos familiares. Se suele utilizar al nabo para mejorar el suelo entre épocas de cultivo y también para alimentar al ganado. La mostaza crece de manera silvestre al borde de los terrenos cultivados, o en parches que no están siendo utilizados (obs. pers.). Se escogió al nabo (*Brassica*

*napus*) como planta originaria para los áfidos que fueron traídos del campo por tratarse de una especie diferente a las tres que intervinieron en el experimento de cruces recíprocos: col (*B. oleracea*), mostaza (*B. nigra*) y rábano (*Raphanus sativus*). De esta manera se evitó que existan sesgos causados por un posible acostumbramiento a la planta hospedera originaria. Se escogió a la col, la mostaza y el rábano para el experimento de cruces recíprocos debido a sus diferencias morfológicas: la col es glabra y tiene un recubrimiento ceroso a lo largo de toda su superficie, mientras que el rábano y la mostaza carecen de cera pero son pubescentes; el rábano en un mayor grado que la mostaza. (Anexo 6).

#### **4.2 ÁREA DE EXPERIMENTACIÓN**

Se llevó a cabo este estudio en un invernadero dentro de la PUCE. El área contó con las siguientes adecuaciones: techos de eternit transparente para permitir el paso de la luz, una capa de sarán (tela negra de sombra) de 25% de bloqueo de luz sobre el techo; además, hoyos de 25 x 25cm (protegidos con malla) en las paredes para ventilación. Se trabajó bajo condiciones semi-naturales, con temperaturas registradas mínimas de 12°C durante la noche y máximas de 30°C durante el día.

#### **4.3 CRÍA DE PLANTAS HOSPEDERAS**

Se sembraron semillas de cada planta hospedera (col, mostaza y rábano) en semilleros de 6 x 10 hoyos y dimensiones 3cm de ancho x 3cm de largo x 5cm de profundidad. Un primer grupo de plantas se utilizó para establecer la línea clonal de áfidos traídos del campo. A continuación se llevó a cabo una siembra sincronizada de plantas para permitir que cada generación de áfidos pueda ser transferida a plantas de la misma edad que la generación anterior. Se sembraron grupos de semillas de cada

una de las tres plantas hospederas a intervalos de 10 días (Anexo 2). Se obtuvo un total de 12 grupos sucesivos de plantas (Anexo 3a). Cuando las plántulas alcanzaron las 2 semanas de edad, fueron transplantadas a vasos plásticos de 16 oz. (Anexo 3b). Las primeras 5 generaciones de plantas se destinaron al mantenimiento de la línea clonal de áfidos en las plantas “origen” durante 5 generaciones. Las siguientes 7 generaciones de plantas se utilizaron durante el ensayo de cruces recíprocos, que se explica más adelante.

#### **4.4 ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA CLONAL DE ÁFIDOS**

Para eliminar los efectos genotípicos y poder evaluar únicamente la variación debida a plasticidad fenotípica, el ensayo se realizó en base a una sola línea clonal.

Se transplantó plantas adultas de nabo provenientes de la localidad de Machachi (Pichincha) en macetas, las cuales fueron transportadas a Quito al invernadero.

Las plantas se encontraban infestadas con el áfido. Se escogió una sola colonia de áfidos y de esta se extrajeron tres hembras adultas. Se colocó una hembra en col, una en rábano y una en mostaza y se aisló cada planta con su respectivo áfido en una caja de acrílico de 40 x 40 cm con dos caras de tela para que exista ventilación dentro del sistema (Anexo 3c). Se mantuvo bajo observación a las hembras durante dos días para asegurar que ninguna se encuentre parasitada.

Se permitió a cada población aclimatarse a su respectiva planta hospedera durante un mes y medio, tiempo que corresponde aproximadamente a cinco generaciones del insecto. A medida que las poblaciones crecían, se reemplazó las plantas viejas por plantas nuevas cada 5 días.

## **4.5 EXPERIMENTO DE CRUCES RECÍPROCOS**

Como se mencionó antes, la línea clonal provino del nabo. Se transfirió a estos áfidos a cada una de las tres plantas hospederas (col, rábano y mostaza), llamadas plantas “origen”, donde permanecieron durante 5 generaciones. Luego se transfirió 6 áfidos de cada planta origen a cada una de las tres plantas hospederas, llamadas “recipientes”. Así se obtuvieron los 9 tratamientos que corresponden a todas las combinaciones entre las plantas origen y recipiente (Anexo 4).

### **4.5.1 ENSAYO DE MORFOMETRÍA**

Una vez que se escogió seis hembras adultas de cada población de las plantas de origen y se las colocó sobre cada una de las plantas recipientes, se permitió a las hembras poner crías durante dos días y luego se las retiró, dejando únicamente a las crías sobre las plantas. Se esperó aproximadamente diez días para que las crías alcancen el estadio adulto. Se transfirió nueve hembras adultas de cada planta a las plantas nuevas correspondientes a la segunda generación (sembradas 10 días después que las primeras). Se repitió el mismo procedimiento hasta alcanzar la quinta generación de áfidos. La transferencia de áfidos se realizó con un pincel de punta fina y pelo de marta para evitar causarles daño durante la manipulación (Anexo 3e). Una vez obtenidos los áfidos adultos de la quinta generación, se procedió a montarlos en placas microscópicas y a medirlos.

#### **4.5.1.1 MONTAJE Y MEDICIÓN DE ÁFIDOS**

Con una aguja tamaño 0 se provocó una incisión en el costado del abdomen de cada individuo. En seguida se colocó a los áfidos en una solución de KOH 10% a 60° C durante 6 minutos. Después se transfirió a los individuos a una caja petri con etanol

40% y con una espátula se presionó el abdomen de cada áfido para extraer los contenidos corporales. Luego se transfirió a los áfidos a una caja petri con etanol 70%, donde permanecieron hasta que las patas y antenas recobraron completamente su vigor. Para montar las placas se colocaron dos gotas de medio de montaje CMC-10 (Masters Company) sobre un portaobjetos, y sobre este un áfido. Con un alfiler se acomodó la postura del áfido de manera que la cabeza y el rostrum queden rectos, y las patas y antenas estiradas, y se cubrió al áfido con un cubreobjetos (Anexo 3d). Se dejó secar las placas durante 24 horas antes de ser utilizadas. Se midió a las hembras adultas provenientes de cada uno de los 9 tratamientos de la quinta generación criada en las plantas recipiente. Se escogieron 11 variables morfológicas según estudios de morfometría realizados en *Myzus persicae* (Blackman & Spence, 1994; Margaritopoulos, 2000; Devi & Singh, 2007), *Brevicoryne brassicae* (Ruiz-Montoya *et al.*, 2005), *Lipaphis erysimi* (Agarwala & Das; 1998) y *Cinara* (Favret & Voegtlin, 2004); de las especies mencionadas las tres primeras se alimentan de Brassicáceas. Se midieron las siguientes variables morfológicas: longitud del cuerpo (BL), longitud del tercer segmento antenal (ANTIII), base y proceso terminal del 6to segmento antenal (BVI y PTVI respectivamente), último segmento rostral (URS), longitud de la tibia posterior (HT), fémur posterior (HF), longitud del 2do segmento del tarso posterior (TARII), longitud del fémur anterior (FF), longitud de las cornículas (COR) y longitud de la cauda (CAU) (Anexo 6). Se tomó fotos y se midió cada uno de los individuos utilizando el programa Pax-it (MIS Inc.).

#### **4.5.2 FECUNDIDAD, TIEMPO DE DESARROLLO Y TASA INTRÍNSECA DE CRECIMIENTO**

Una vez concluida la aclimatación de los áfidos a sus plantas origen durante cinco generaciones, los áfidos fueron transferidos a sus respectivas plantas recipiente, donde se llevaron a cabo dos ensayos. El ensayo uno consistió en obtener medidas de fecundidad, tiempo de desarrollo y tasa intrínseca de crecimiento de los áfidos cinco generaciones después de haber permanecido en las plantas recipiente, y el ensayo dos consistió en tomar las mismas medidas una generación después de la transferencia a las plantas recipiente. Se explican los detalles a continuación:

##### **4.5.2.1 ENSAYO 1:**

Este ensayo se llevó a cabo para analizar el efecto de la planta hospedera sobre el tiempo de desarrollo, fecundidad y tasa de crecimiento de los áfidos después de haberse acostumbrado durante cinco generaciones a sus plantas recipientes.

Una vez que las hembras de cuarta generación en las plantas recipiente alcanzaron la madurez, además de escoger las seis hembras que darían lugar a las crías de quinta generación para ser recolectadas en alcohol y medidas, se escogió diez hembras de cada tratamiento y se las colocó individualmente sobre plántulas de 25 días de edad durante 24 horas para que pongan ahí sus crías. Después se retiraron las hembras adultas y se dejaron sobre las plántulas un máximo de cuatro crías. Cuando las ninfas alcanzaron el 4to estadio se retiró todas menos una cría de cada planta. Se midió el tiempo de desarrollo (TD) contando el número de días que se demoró cada áfido desde su nacimiento hasta poner su primera cría. Luego se midió la fecundidad (F) contando diariamente durante 15 días el número de crías paridas por cada hembra adulta, de acuerdo con Ruiz- Montoya & Nuñez- Farfán (2005). Durante el conteo se

retiraban con un pincel las crías paridas cada día (Anexo 3e) para evitar el solapamiento de generaciones y posibles repeticiones al contar.

También se calculó la tasa de crecimiento intrínseco (RM) de los áfidos en base a la siguiente fórmula:

$$RM = 0.738 [(ln F)/ TD] \text{ (Gorur et al., 2007; Leal-Aguilar et al., 2008)}$$

#### **4.5.2.2 ENSAYO 2:**

Se tomaron las últimas crías paridas por las hembras del ensayo uno, provenientes de los tratamientos MM, CC y RR (los áfidos que se mantuvieron en la misma especie que su planta origen) y se las transfirió a las plantas recipiente de la misma manera que en el ensayo uno. La primera letra de los tratamientos indica la planta recipiente, y la segunda letra la planta recipiente (M= mostaza, C= col y R= rábano). Para este ensayo se utilizaron cinco plantas de cada tratamiento y se colocó de dos a cuatro crías en cada planta. Se hizo esto como medida de precaución, ya que en el ensayo uno no todas las hembras sobrevivieron los 15 días de conteo, y en este ensayo se contaba con un menor número de plantas. Los valores de TD, F, y RM se obtuvieron de los promedios de las hembras presentes en cada planta.

#### **4.6 ANALISIS BIOQUÍMICOS DE LAS PLANTAS**

Se enviaron seis especímenes de cada una de las tres plantas a los laboratorios Agrobiolab Cia. Ltda. (Quito-Ecuador) para llevarse a cabo un análisis de porcentaje de nitrógeno de las tres plantas hospedadas.

## **4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

### **4.7.1 MORFOMETRÍA**

Se llevaron a cabo análisis discriminantes para todas las medidas morfométricas. Se utilizaron datos Log10 transformados de las medidas originales y se obtuvieron los residuos de las regresiones entre cada variable vs. la longitud del cuerpo para eliminar los efectos del tamaño. Se llevaron a cabo análisis discriminantes para todos los tratamientos, para los tratamientos agrupados de acuerdo a la planta de origen y de acuerdo a la planta recipiente. Además se analizaron las plantas origen y recipiente de manera individual. Se llevaron a cabo MANOVAs con los puntajes discriminantes de cada análisis y pruebas post hoc de Tamhane para determinar los rangos de diferenciación de los grupos. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo en el programa SPSS 17.0 (IBM).

### **4.7.2 ASPECTOS FISIOLÓGICOS**

Las diferencias de fecundidad, tiempo de desarrollo y tasa intrínseca de crecimiento de los áfidos sometidos a los distintos tratamientos (combinaciones entre planta origen y planta recipiente) fueron establecidas mediante ANOVA factoriales, tanto para el ensayo uno como para el ensayo dos. Los dos factores fueron la planta origen y la planta recipiente.

### **4.7.3 PORCENTAJE DE NITRÓGENO DE PLANTAS HOSPEDERAS**

Para conocer si existían diferencias significativas en cuanto al contenido de nitrógeno de las tres plantas hospederas (col, rábano y mostaza), se analizaron los valores obtenidos de los análisis bioquímicos por medio de ANOVA de un factor con los datos transformados a arcoseno, por tratarse de porcentajes.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 MORFOMETRÍA

#### 5.1.1 ANÁLISIS DISCRIMINANTES (DFA) PARA TODOS LOS TRATAMIENTOS

Los áfidos alcanzaron cierta divergencia morfológica al estar expuestos a las distintas combinaciones de planta origen y planta recipiente (Figura 1). El porcentaje de clasificación correcta total de los tratamientos fue de 57.1% (Tabla 1a). Los tratamientos mejor clasificados fueron: RM (87.5%), MM (79.3%) y MC (71.4%) (la primera letra corresponde a la planta recipiente y la segunda letra a la planta origen).

La función discriminante 1 aporta con el 72.2 % de la variación morfológica total (Tabla 2) y se encuentra mejor representada por la longitud corporal (BL) (Tabla 3a), mientras que la función 2 aporta con el 13.6% de la variación total y está mejor representada por la longitud de la tibia y femur posteriores. A lo largo de la función 1 los áfidos de mayor tamaño fueron aquellos provenientes de los tratamientos MC (media= 2.90 mm) y MR (media= 2.83 mm) (Figura 1 y Anexo 7). Los tratamientos con los áfidos más pequeños corresponden a los tres tratamientos que tienen por origen la mostaza: MM (media= 2.68 mm), CM (media= 2.64 mm) y RM (media= 2.49 mm). En cuanto a la función 2, los áfidos con las extremidades más largas en relación a la longitud que se esperaría para su tamaño corporal tuvieron por recipiente al rábano y lo contrario ocurrió para los del tratamiento MC. El MANOVA (Tabla 4) reveló diferencias significativas entre los tratamientos para ambas funciones discriminantes, sin embargo, de acuerdo a la prueba de Tamhane (Tabla 5a) los tratamientos se difrencian mejor a lo largo de la función 1 (tamaño corporal) que a lo largo de la función 2 (longitud de femur y tibia posteriores).

### **5.1.2 DFA PARA PLANTAS ORIGEN**

Se clasificó a los nueve tratamientos de acuerdo a la planta de origen obteniendo así 3 grupos. Los áfidos se diferenciaron morfológicamente de acuerdo a su planta de origen (Figura 2) y tuvieron una clasificación correcta total de 68.3% (Tabla 1b). La mostaza fue el grupo mejor discriminado (89.5%), seguida por el rábano (60.7%) y la col (55.9%). La función discriminante 1 aportó con el 95% de la variación morfológica total (Tabla 2) y estuvo mejor representada por la longitud corporal (Tabla 3a). La función 2 aportó con el 5% a la variación total y estuvo representada por la longitud del femur posterior. El MANOVA (Tabla 4) reveló diferencias significativas entre los tratamientos para ambas funciones discriminantes. De acuerdo a la prueba de Tamhane (Tabla 5b) para la función 1, la col y el rábano no se diferenciaron entre sí (media col= 2.76 mm, media rábano= 2.77 mm) pero ambos fueron distintos de la mostaza, siendo esta la planta en la que mostraron la mayor longitud corporal (media= 2.61mm) (Figura 2 y Anexo 7). A lo largo de la función 2 la mostaza y el rábano se diferenciaron de la col. Los áfidos de la col mostraron las patas más pequeñas en relación a lo que se esperaría para su tamaño corporal.

#### **5.1.2.1 ORIGENES ANALIZADOS INDIVIDUALMENTE**

Los grupos formados por los áfidos de cada planta recipiente cuyo origen fue la col tuvieron una clasificación correcta total de 76.3%. El recipiente mostaza fue el grupo mejor discriminado (96,4%), seguido por el rábano (74.2%) y la col (61.8%) (tabla 1c). La función discriminante 1 aporta con el 91.3% a la variación morfológica total (Tabla 2) está representada por la longitud del cuerpo (Tabla 3b). La función 2 aporta con el 8.7 % a la variación total y está representada por la longitud del femur posterior. El MANOVA (Tabla 4) reveló diferencias significativas entre los tres

recipientes cuyo origen fue la col para ambas funciones discriminantes. Según la prueba de Tamhane (Tabla 4c) para la función 1, no hubo diferencias significativas entre col y rábano (media col = 2.71 mm, media rábano= 2.68 mm), pero la mostaza se diferenció de ambas (media= 2.90 mm) (Figura 3 y Anexo 7). En cuanto a la función 2, se diferencian únicamente el rábano y la col. En el rábano la longitud del fémur de los áfidos fue relativamente mayor que en la col.

Cuando la planta origen fue la mostaza, los tres recipientes tuvieron una clasificación correcta total de 80.2% (Tabla 1c). El recipiente mejor agrupado fue el rábano (91.3%), seguido por la mostaza (89.7%) y la col (64.7%). La función discriminante 1 aportó con el 78% a la variación morfológica total (Tabla 2) y estuvo mejor representada por la longitud corporal (Tabla 3b). La función 2 aportó con el 22% a la variación total y estuvo mejor representada por tres variables: longitud de los fémur anterior y posterior y longitud de la tibia posterior. El MANOVA (Tabla 4) reveló diferencias significativas para ambas funciones. Para la función 1, la prueba de Tamhane (Tabla 5c) reveló diferencias significativas entre los tres tratamientos: los áfidos que fueron a mostaza tuvieron la mayor longitud corporal (media= 2.68mm), en la col tuvieron un tamaño intermedio (media= 2.64 mm) y en el rábano se encontraron los áfidos más pequeños (media= 2.49mm) (Figura 4 y Anexo 7). A lo largo de la función 2, el rábano y la mostaza no difieren entre sí, pero ambos se diferencian significativamente de la col, siendo esta la planta en la que los áfidos tuvieron patas relativamente más cortas.

Las plantas recipientes correspondientes al origen rábano mostraron un porcentaje de clasificación correcta total de 74.2% (Tabla 1c). El grupo mejor discriminado fue el rábano (83.3%), seguido por la col (70.0%) y la mostaza (69.9%).

La función 1 aportó con un 73.2% a la variación morfológica total y la función 2 aportó con 26.8% (Tabla 2), pero en este caso se han invertido las variables morfológicas que representan a cada función (Tabla 3b), ya que la función 1 estuvo representada por la longitud del fémur posterior y de la tibia posterior, y la función 2 por la longitud corporal. El MANOVA (Tabla 4) reveló diferencias significativas en ambas funciones discriminantes. En cuanto a la función discriminante 1, la prueba de Tamhane (Tabla 5c) no diferenció a la col de la mostaza, pero ambos se diferenciaron significativamente del rábano siendo esta planta en la que los áfidos tuvieron las patas más largas en relación a lo que se esperaría para su tamaño corporal (Figura 5 y Anexo 7). A lo largo de la función 2, no se diferenciaron los áfidos de rábano ( $x=2.74$  mm). y col (media= 2.76 mm), pero ambos mostraron diferencias significativas con respecto a la mostaza, donde tuvieron la mayor longitud corporal (media= 2.83 mm).

### **5.1.3 DFA PARA PLANTAS RECIPIENTE**

Al clasificar a todos los tratamientos de acuerdo a la planta recipiente, los grupos resultantes tuvieron una clasificación correcta total de 60.4% (Tabla 1b). En este caso el rábano fue el grupo mejor discriminado (73.8%), seguido por la mostaza (72.1%) y la col (38.8%), que no se definió muy bien como grupo. La función discriminante 1 aportó con 83.2% a la variación morfológica total (Tabla 2) y estuvo mejor representada por la longitud del cuerpo (Tabla 3a), mientras que la función discriminante 2 aportó con 16.8 % a la variación total y estuvo mejor representada por la longitud del fémur anterior y posterior, y por la tibia posterior. El MANOVA (Tabla 4) reveló diferencias significativas entre las tres plantas recipientes. La prueba de Tamhane (Tabla 5b) mostró diferencias significativas para los tres recipientes a lo

largo de la función 1: los áfidos cuyo recipiente fue la mostaza fueron los más grandes (media= 2.80 mm), seguidos por los de la col (media= 2.70 mm) y por los del rábano (media= 2.65 mm) (Figura 6 y Anexo 7). A lo largo de la función 2 el rábano no se distingue de la mostaza, pero ambos se diferencian de la col, donde se indica que los áfidos podrían tener las extremidades más pequeñas con relación a los valores que se esperarían para su tamaño corporal.

### **5.1.3.1 RECIPIENTES ANALIZADOS INDIVIDUALMENTE**

Los grupos formados por las tres plantas origen que tuvieron como planta recipiente a la col tuvieron una clasificación total correcta de 77.6% (Tabla 1c). El origen mostaza tuvo una clasificación correcta de 85.3%, el rábano 80.0% y la col 67.6%. La función discriminante 1 aportó con el 85.6% a la variación morfológica total (Tabla 2) y estuvo mejor representada por la longitud corporal (Tabla 3c), mientras que función 2 aportó con el 14.4% a la variación total y estuvo representada por la longitud de la tibia posterior. Se encontraron diferencias significativas entre orígenes para ambas funciones discriminantes (Tabla 4). La prueba de Tamhane (Tabla 5c) revela que a lo largo de la función 1 el rábano (media= 2.76 mm) y la col (media= 2.71 mm) no se distinguen pero ambos se diferencian significativamente del origen mostaza (media= 2.64 mm) que tuvo los áfidos más pequeños (Figura 7 y Anexo 7). A lo largo de la función 2 no se diferencian el rábano y la mostaza, pero ambos se diferencian del origen col, donde los áfidos mostraron las patas más largas en relación a lo que se esperaba para su tamaño corporal.

Cuando la planta recipiente fue la mostaza, los grupos formados por las plantas origen tuvieron una clasificación correcta total de 80.2% (Tabla 1c). El grupo mejor clasificado fue la mostaza (93.1%) seguida por la col (78.6%) y el rábano

(69.0%). La función discriminante 1 aportó en un 96.4% a la variación morfológica total (Tabla 2) y estuvo mejor representada por la longitud del cuerpo (correlación positiva con la función), la longitud del femur anterior y del tibia posterior (correlaciones negativas) (Tabla 3c). La función 2 aportó con el 3.6% a la variación total y estuvo representada por la longitud de la cauda y del femur posterior. Hubo diferencias significativas entre los orígenes para ambas funciones discriminantes (Tabla 4). De acuerdo a Tamhane (Tabla 5c), a lo largo de la función 1 se diferencian significativamente los tres orígenes: los áfidos provenientes de la mostaza tuvieron la menor longitud corporal (media= 2.68 mm) y el femur y tibia posteriores más largos de lo que se esperaría para su longitud corporal. Los áfidos cuyo origen fue el rábano son intermedios (media= 2.83 mm), y los que provinieron de la col tienen la mayor longitud corporal (media= 2.90 mm) y la menor longitud relativa de segmentos de las patas (Figura 8 y Anexo 7). A lo largo de la función 2, tan solo se diferencian los orígenes col y rábano. Los áfidos que provinieron de la col mostraron en general la cauda y femur más cortos en relación al tamaño esperado para su longitud corporal.

Las plantas origen que tuvieron como recipiente al rábano tuvieron un porcentaje de clasificación correcta total de 81% (Tabla 1c). El grupo mejor clasificado fue la mostaza (100%), seguida por la col (74.2%) y el rábano (73.3%). La función discriminante 1 aportó en un 96% a la variación morfológica total (Tabla 2) y estuvo mejor representada por la longitud corporal (Tabla 3c), mientras que la función 2 aportó en un 4% a la variación total y estuvo representada por la longitud de la base del 6° segmento antenal. Existen diferencias significativas para los orígenes en ambas funciones (Tabla 4). La prueba de Tamhane (Tabla 5c) reveló, a lo largo de la función discriminante 1, diferencias entre los tres orígenes: los áfidos que provinieron de la mostaza mostraron la menor longitud corporal (media= 2.49 mm), los que provinieron

los de la col una longitud intermedia (media= 2.68 mm) y los del rábano la mayor longitud (media= 2.74 mm) (Figura 9 y Anexo 7). A lo largo de la función 2 no se diferencian el rábano y la mostaza, pero ambos se diferencian de la col, siendo ésta planta de origen la que dio lugar a áfidos con la mayor longitud de la base del 6° segmento antenal en relación a la longitud esperada para su tamaño corporal.

## **5.2 FECUNDIDAD, TIEMPO DE DESARROLLO Y TASA INTRÍNSECA DE CRECIMIENTO**

### **5.2.1 ENSAYO 1**

El ANOVA factorial para fecundidad (F) mostró diferencias altamente significativas en cuanto al efecto de las plantas recipientes ( $p < 0.01$ ), mas no en cuanto a las plantas de origen o a la interacción origen x recipiente (Tabla 6a). La prueba post hoc Tukey's B (Tabla 7a) reveló que los áfidos cuya planta recipiente fue la mostaza tuvieron una mayor F total (media= 68.58 crías) , y se diferencian de aquellos criados en col (media = 54.44 crías) y rábano (media = 51.24 crías). Aunque no exista significación para el origen, de todas formas las medias muestran una tendencia: cuando los áfidos provinieron de mostaza tuvieron una F más baja (media = 55.92 crías) que cuando vinieron de la col (media = 59.26 crías), y cuando provinieron del rábano mostraron en general la F más alta (media = 60.8 crías). La representación gráfica de los resultados para F, TD y RM se puede ver en la figura 4 (a, b y c respectivamente).

En cuanto a tiempo de desarrollo (TD) se observó un patrón similar de resultados, existiendo diferencias altamente significativas para planta recipiente ( $p < 0.01$ ), mas no para planta origen ( $p = 0.222$ ) o la interacción origen x recipiente ( $p = 0.155$ ) (Tabla 6a). En este caso la prueba de Tukey B (Tabla 7b) ubicó a las plantas

recipiente en tres rangos distintos. La mostaza es el recipiente en el que menor TD tuvieron los áfidos (media= 11.57 días), la col mostró un valor intermedio (media= 12.1 días), y en rábano se demoraron el mayor tiempo en desarrollarse (media= 13 días). Aunque la planta de origen tampoco tuvo un efecto significativo, también ocurrió que cuando los áfidos provinieron de mostaza (media= 12.40 días) su TD fue mayor en los nuevos recipientes que cuando vinieron de col (media= 12.20 días) o rábano (media= 12.07 crías).

Con respecto a la tasa intrínseca de crecimiento (RM), se observaron diferencias significativas para planta de origen ( $p= 0.035$ ) y altamente significativas para planta recipiente ( $p < 0.01$ ). No hubo diferencias significativas para la interacción origen x recipiente ( $p= 0.281$ ) (Tabla 6a). Se realizaron pruebas post-hoc de Tukey B y Waller Duncan (Tabla 7c). En en la prueba de Waller Duncan para las plantas de origen se definen dos rangos: uno para la mostaza (media = 0.239) y otro para el rábano (media =0.252). La col no se definió apropiadamente y se encuentra en ambos rangos con un valor intermedio (media = 0.248). Con respecto a la planta recipiente, cada planta formó su propio rango, siendo la mostaza donde los áfidos mostraron la mayor RM (media= 0.271), en la col intermedia (media=0.245) y en el rábano la menor RM (media=0.223).

### 5.2.2 ENSAYO 2

El ANOVA factorial para fecundidad (F) mostró diferencias altamente significativas tanto para planta de origen como para planta recipiente ( $p < 0.01$ ), pero no para la interacción origen x recipiente ( $p = 0.745$ ) (Tabla 5b). La prueba Tukey's B (Tabla 8a) muestra que cuando la mostaza fue la planta de origen, los áfidos mostraron la menor F total (media=50.127 crías), los áfidos provenientes del rábano

una F intermedia (media=55.440 crías) y los áfidos provenientes de la col tuvieron la mayor F (media = 62.214 crías). Se puede ver la representación gráfica para los resultados de F, TD y TD en la figura 5. Por otro lado, cuando la planta recipiente fue la mostaza, los áfidos mostraron la mayor F (media = 63.167 crías), seguidos por el rábano (media = 57.307 crías) y la col (x=46.980).

En cuanto a tiempo de desarrollo (TD), se encontraron diferencias significativas sólo para la planta recipiente ( $p= 0.026$ ) (Tabla 6b). La prueba Tukey's B (Tabla 8b) definió dos rangos en los que se diferencian la mostaza, con el menor tiempo de desarrollo (media= 13.867 días), y a la col con el mayor (media= 14.727 días). El rábano no se definió claramente y mostró un valor intermedio (media= 14.293 días).

Con respecto a la tasa intrínseca de crecimiento (RM), se obtuvo diferencias altamente significativas tanto para planta de origen como para planta recipiente ( $p= 0.01$  y  $p< 0.01$  respectivamente), mas no para la interacción origen x recipiente ( $p= 0.559$ ) (Tabla 6b). Para el origen, la prueba Tukey's B (Tabla 8c) definió dos rangos, uno para la col y otro para el rábano y la mostaza. Cuando los áfidos provinieron de la col mostraron la RM más alta (media= 0.219), seguidos por los que vinieron de rábano (media =0.204) y de mostaza (media=0.201). El patrón se invierte para las plantas recipientes: cuando los áfidos fueron a mostaza su tasa de crecimiento resultó ser la más alta (media= 0.221), seguidos por los que fueron a rábano (media= 0.209) y a col (media= 0.193).

### 5.3 ANALISIS DE NITRÓGENO DE LAS PLANTAS HOSPEDERAS

Se encontraron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de nitrógeno presente en *B. oleracea*, *B. nigra* y *R. sativus* ( $p= 0.029$ ) (Tabla 9). La prueba post-hoc de Duncan (Tabla 10) definió dos rangos en los cuales se distingue por un lado a la mostaza con el mayor contenido de nitrógeno (media= 4.59 %), y por otro a la col (media= 4.28%) y al rábano (media= 4.19%).

## 6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### 6.1 ASPECTOS MORFOLÓGICOS

Los áfidos mostraron distintas respuestas morfológicas hacia las tres plantas hospederas (*Brassica oleracea*, *B. nigra* y *Raphanus sativus*) utilizadas en este trabajo. Algunos estudios de morfometría en áfidos han demostrado que la planta hospedera es un factor importante en la variación morfológica de estos insectos. Se ha podido notar que los áfidos analizados en tales estudios provienen directamente del campo (Favret & Voegtlin, 2004; Ruiz-Montoya *et al.*, 2005; Lozier *et al.*, 2008) o han sido criados en laboratorio a partir de fundatrices provenientes de distintas plantas hospederas en el campo (Agarwala & Das, 1998; Margaritopoulos *et al.*, 2000). El hecho de utilizar áfidos provenientes de distintas poblaciones en el campo implica que la variación morfológica observada puede estar constituida tanto por un factor ambiental como genético. Por su diseño experimental, Margaritopoulos y colaboradores (2000) atribuyen la variación morfológica de los áfidos de su estudio casi enteramente al factor genético, mientras que Ruiz-Montoya y colaboradores (2005) mencionan al final de su trabajo que no se puede saber si la variación observada en sus sujetos de estudio se debió exclusivamente a plasticidad fenotípica o a cierto grado de selección natural impuesta por la planta hospedera. Ellos recomendaron realizar ensayos de cruces recíprocos para poder analizar las respuestas plásticas de los áfidos hacia distintas plantas hospederas, y eso se hizo en el presente estudio. Utilizar una única línea clonal para todo el experimento de cruces recíprocos permitió asegurar que toda la variación morfológica observada se deba exclusivamente al componente ambiental, por lo tanto se puede concluir que los áfidos estudiados son morfológicamente plásticos.

El análisis discriminante que se hizo inicialmente para todos los tratamientos no mostró un patrón muy claro de diferenciación de los áfidos en cuanto a orígenes y recipientes, por lo que fue necesario llevar a cabo otros análisis discriminantes agrupando a los tratamientos por plantas origen y recipiente, y analizando cada origen y cada recipiente individualmente. Estos análisis adicionales permitieron encontrar un patrón general de variación morfológica de los áfidos.

La función discriminante 1 en la mayoría de los casos aportó con más del 80% de la variación morfológica total y en todos los casos (excepto uno) esta función estuvo representada por la longitud corporal. La función discriminante 2, representada por variables relacionadas a las patas, aportó en muy bajo porcentaje a la variación total, por lo cual se puede concluir que la variación morfológica de los áfidos se puede explicar en su gran mayoría por la longitud del cuerpo. Los áfidos cuyo origen fue la mostaza tuvieron la menor longitud corporal, en cambio, cuando la mostaza fue el recipiente, mostraron el mayor tamaño. Los áfidos cuyos orígenes fueron la col o el rábano adquirieron el mayor tamaño en sus plantas recipientes, y cuando estas dos plantas fueron los recipientes ocurrió lo contrario. El patrón de longitud corporal concuerda con aquel obtenido para las variables de aptitud fisiológica (F, TD y RM) y con la calidad nutricional de las plantas, de lo que se hablará más adelante. Ruiz-Montoya y colaboradores (2005) tuvieron resultados similares con *B. brassicae* y comprobaron que la planta más nutritiva dio lugar a los áfidos de mayor tamaño. Favret & Voegtlin (2004) observaron lo mismo en tres especies de áfidos del género *Cinara*: los áfidos más grandes siempre se encontraban en la planta hospedera más nutritiva, que en ese caso era el árbol *Pinus monophylla*. Nevo & Coll (2001) trabajaron con *Aphis gossypii* y demostraron que plantas fertilizadas con nitrógeno producían áfidos más grandes. Todos estos resultados concuerdan con Honek (1993),

que realizó un estudio con varios grupos de insectos y comprobó que el tamaño corporal de los individuos es un factor limitante para la fecundidad, que a su vez varía en función de la calidad nutricional de la planta hospedera (Agarwala & Das, 1998; Leal-Aguilar *et al.*, 2008).

Antes de hablar de la longitud de los apéndices cabe recalcar que en el presente estudio se trabajó con los residuos de las regresiones entre la longitud del cuerpo y las demás variables morfológicas con el objetivo de eliminar el efecto del tamaño del cuerpo sobre estas (Atchley *et al.*, 1976). Al haber empleado esta técnica, los resultados del DFA no indican una variación en la longitud neta de tales variables, sino cuánto más largas o cortas fueron con respecto a los valores que se esperarían para la longitud corporal de los individuos.

La longitud de los apéndices, principalmente el fémur y tibia posteriores, no jugó un papel importante en la diferenciación de los áfidos de este estudio debido a que aportó en un porcentaje mínimo a la variación morfológica total, sin embargo, se pudo identificar un patrón de variación morfológica que concuerda con las características superficiales de las plantas hospederas. La col tiene una superficie glabra y cerosa, mientras que la mostaza y el rábano son pubescentes (Anexo 6). En general cuando los áfidos pasaron de col a rábano o mostaza, mostraron apéndices relativamente más largos, y cuando pasaron de rábano o mostaza hacia la col, sus apéndices se hicieron relativamente más cortos.

Existen evidencias para afirmar que la forma y tamaño de los apéndices varían de acuerdo a las características superficiales del hospedero para facilitar su utilización: la longitud de la tibia y tarso posteriores suele relacionarse con la movilidad de los áfidos, la habilidad de localizar a su planta hospedera y con el escape de enemigos naturales; la longitud de las antenas se relaciona con la

orientación, y la longitud del rostrum se encuentra fuertemente correlacionada con la selección de áreas de alimentación en la superficie de la planta (Ruiz-Montoya *et al.*, 2005). En el estudio de Ruiz-Montoya y colaboradores (2005) los áfidos mostraron apéndices más largos en *Brassica campestris*, siendo esta planta más pubescente que *Brassica oleracea*, y estos resultados concuerdan con los del presente trabajo. Agarwala & Das (1998) también obtuvieron áfidos con fémures más largos en el rábano (*Raphanus sativus*), la planta más pubescente entre las que utilizaron. Favret & Voegtlin (2004) mencionan además al rostrum como una estructura altamente correlacionada con la morfología de la planta hospedera, en especial la dureza, grosor y pubescencia de la superficie. En su estudio con *Cinara*, la longitud del rostrum se relacionaba con la leñosidad del tejido vegetal. En el presente estudio, en el que el rostrum no contribuyó (y las patas en un mínimo grado), a la variación morfológica total, se podría pensar que existe una diferenciación morfológica incipiente de los apéndices. Sería interesante dejar a los áfidos durante más generaciones en sus respectivas plantas recipientes para averiguar si la diferenciación de los apéndices se acentúa a lo largo del tiempo.

## 6.2 ASPECTOS FISIOLÓGICOS

En cuanto a la fecundidad (F), tiempo de desarrollo (TD) y tasa intrínseca de crecimiento (RM), el experimento de cruces recíprocos y el diseño experimental factorial permitieron comprobar que los áfidos respondieron fenotípicamente al ambiente provisto por las diferentes plantas hospederas. Además, los resultados concordaron con el patrón de contenido de nitrógeno de las plantas, siendo la mostaza la planta más nutritiva, y la col y el rábano las menos nutritivas.

En el ensayo 1, la fecundidad y el tiempo de desarrollo tuvieron significación únicamente para la planta hospedera recipiente. En la mostaza los áfidos tuvieron la mayor F y menor TD, y en el rábano la menor F y el mayor TD. La tasa intrínseca de crecimiento (RM), una medida de aptitud de los áfidos basada en la fecundidad y el tiempo de desarrollo (Pereira & Lomonaco, 2001; Leal-Aguilar *et al.*, 2008), fue mayor en la mostaza y menor en el rábano. RM es la única variable que además tuvo significación para la planta de origen, de manera que cuando los áfidos provenían de mostaza, tuvieron la aptitud más baja, y cuando provinieron de rábano tuvieron la más alta. La mostaza, al ser la mejor planta en términos de contenido de nitrógeno, representó el ambiente óptimo para los áfidos: cuando fueron colocados en esta planta (recipiente) mostraron el mejor desempeño, y cuando fueron retirados de la misma (origen) y colocados en cualquier otra, su rendimiento disminuyó considerablemente. Lo contrario ocurrió con el rábano, que mostró el menor contenido de nitrógeno: al ser colocados en rábano, el desempeño de los áfidos fue el más bajo, y al ser retirados del rábano y transferidos a otras plantas, este aumentó considerablemente, especialmente al ser transferidos a mostaza. Nevo & Coll (2001) trabajaron con *Aphis gossypii* y demostraron que plantas fertilizadas con nitrógeno producen áfidos más fecundos. Leal-Aguilar y colaboradores (2008) obtuvieron los mismos resultados con *Brevicoryne brassicae*.

En el ensayo 2 se obtuvieron resultados similares al ensayo 1. Se mantuvo la tendencia de los áfidos a desempeñarse siempre mejor en la mostaza (mayor fecundidad y tasa intrínseca de crecimiento, menor tiempo de desarrollo), pero esta vez se invirtió el desempeño entre col y rábano, con respecto al ensayo anterior. La planta en la que peor desempeño tuvieron los áfidos fue la col. A pesar de que no hubo diferencias significativas en cuanto al contenido de nitrógeno de la col y el

rábano, en promedio el rábano tuvo menor contenido de nitrógeno. Esto sugiere que probablemente la col tiene alguna otra característica que afectó el desempeño de los áfidos. Lamentablemente no se realizaron más análisis bioquímicos en las plantas, por lo que no se pudo determinar si es algún compuesto dentro de la planta lo que afectó a los áfidos. Sin embargo, algunas observaciones durante los ensayos sugieren que podría haber algún factor morfológico de la col responsable de la disminución en el desempeño de los áfidos. La col es la única planta, entre las tres, completamente glabra y cubierta de una capa visible de cera (Anexo 6). Al colocar a los áfidos en col, estos tenían dificultades para moverse: se resbalaban al caminar y tendían a caerse de las plantas momentos después de ser colocados en ellas. Es posible que la morfología de la planta haya representado un ambiente estresante para los áfidos, razón por la cual su desempeño fue bajo durante la primera generación de haber permanecido en esa planta. Legrand & Barbosa, (2000) no encontraron efectos significativos de la morfología de la planta *Pisum sativum* sobre la fecundidad y la tasa intrínseca de crecimiento del áfido *Acyrtosyphon pisum*, mas sí sobre la longevidad. Sería interesante resolver esta duda con respecto a si la morfología y características superficiales de la col pueden causar una disminución en la aptitud fisiológica de *B. brassicae*.

En el ensayo 1, donde los áfidos permanecieron en los recipientes durante 5 generaciones, su desempeño no fue el más bajo en la col (como en el ensayo 2), lo cual podría sugerir la existencia de cierto grado de acostumbramiento a la col a lo largo del tiempo. Estudios con el áfido *Aphis fabae* han demostrado que los áfidos pueden incrementar su desempeño en una planta en la que inicialmente este era bajo, a lo largo de las generaciones (Douglas, 1997; Gorur *et al.*, 2005). Este no fue un acostumbramiento lo suficientemente fuerte para causar un mejor desempeño que en

las demás plantas, pero tal vez sí para contrarrestar el estrés producido inicialmente por esa planta, y permitir al áfido alcanzar con el tiempo un desempeño más relacionado exclusivamente con la calidad nutricional de la misma. Un indicador de esto puede ser que los áfidos cuya planta origen fue la col y fueron colocados en col, tuvieron un mejor desempeño que aquellos provenientes de las otras dos plantas y colocados en col (Figura 11). Se recomienda llevar a cabo un estudio de áfidos colocados en la col a lo largo del tiempo para comprobar si su desempeño aumenta en esta planta a lo largo de las generaciones. Si este fuera el caso, se podría hablar de la existencia de cierto grado de efectos maternos, pero este estudio demuestra que, al comparar entre plantas hospederas distintas, la calidad de cada planta hospedera prima sobre cualquier forma de acostumbramiento que el áfido pueda mostrar hacia su planta de origen.

La falta de significación para la interacción origen x recipiente para las tres variables, tanto en el ensayo 1 como en el ensayo 2, permitió descartar la presencia de efectos maternos, de manera que los áfidos no tienen un mejor desempeño cuando la planta recipiente es la misma que la planta origen. El efecto significativo de la planta de origen en algunos casos podría deberse a la diferencia de calidad de hospedero a la que los áfidos se enfrentan cuando cambian de planta hospedera. Estos resultados concuerdan con aquellos obtenidos por Ruiz-Montoya & Núñez-Farfán (2009) y McLean *et al.* (2009) para *Brevicoryne brassicae* y *Acyrtosiphon pisum* respectivamente, en los cuales se descartó la influencia de los efectos maternos, y se vio que la calidad de la planta hospedera recipiente tuvo la mayor importancia.

Leal Aguilar y colaboradores (2008), en un estudio concerniente al efecto de dos plantas hospederas y distintos niveles nutricionales dentro de estas sobre las mismas variables que las del presente estudio, obtuvieron significación únicamente

para la tasa intrínseca de crecimiento, mas no para fecundidad y tiempo de desarrollo, al comparar la col y el nabo. En este estudio la influencia de la planta hospedera fue más fuerte, ya que afectó significativamente a las tres variables.

Con respecto a la idoneidad de las distintas plantas para el desarrollo y crecimiento poblacional de los áfidos, hay estudios con Brassicáceas en los que se obtuvo un patrón similar al de este trabajo. Agarwala & Das (1998) encontraron para el áfido *Lypaphis erisysimi* (otra especie capaz de alimentarse de Brassicáceas) una mejor aptitud en una especie de mostaza (*Brassica juncea*) que en el rábano (*R. sativus*). Así mismo, Ruiz-Montoya y Núñez-Farfán (2009) y Leal-Aguilar y colaboradores (2008) obtuvieron una reproducción más rápida y una mayor tasa intrínseca de crecimiento para *B. brassicae* en una especie de nabo (*B. campestris*) que en la col (*B. oleracea*). Esto muestra que podría existir un patrón general de idoneidad de ciertos géneros o especies de Brassicáceas para los áfidos que se alimentan de estas. La mostaza parece ser la planta óptima y el rábano y la col las menos aptas para los áfidos entre las plantas estudiadas en distintas ocasiones.

Se propone continuar este trabajo con algunos experimentos adicionales, como los que se propuso anteriormente para comprobar si la col representa un ambiente estresante para los áfidos que van a esta planta por primera vez, y si su desempeño aumenta en la planta a lo largo de las generaciones. También es de interés conocer la variación morfológica y fisiológica de los áfidos que provienen de distintas plantas hospederas en el campo. En ese caso no se estaría trabajando con una sola línea clonal y el origen de los áfidos no estaría estandarizado, pero se podría comprobar o descartar la existencia de efectos maternos en áfidos que probablemente se han

adaptado a sus hospederos durante más tiempo, y que incluso podrían cargar con adaptaciones de carácter genético a determinadas plantas origen.

En caso de llevarse de nuevo este experimento, se podría incluir un conteo de áfidos alados producidos en cada generación en cada hospedero, ya que esta vez sólo se pudo observó que la cantidad de áfidos alados producidos en el rábano era mucho mayor a la de las otras dos plantas, pero no se tomó datos. Esto podría brindar información útil acerca de la dinámica poblacional de los áfidos en cada hospedero.

Por último, se plantea estudiar la plasticidad fenotípica de *B. brassicae* a nivel comportamental. Se puede llevar a cabo un experimento de cruces recíprocos para comprobar si existe preferencia por parte de áfidos alados hacia determinadas plantas hospederas, y en caso de haberla, si existen efectos maternos para esta variable. Pereira & Lomonaco (2001), aunque no encontraron diferencias significativas en las variables fisiológicas de *B. brassicae* hacia dos variedades de *Brassica oeracea*, las encontraron para el factor comportamental, y notaron que los áfidos escogían las plantas a las que estaban acostumbrados, algo conocido como preferencia inducida. Lushai y colaboradores (1997) obtuvieron resultados similares con el áfido *Sitobion avenae*. Sería interesante descubrir si existen plasticidad fenotípica y efectos maternos en cuanto a la elección de planta hospedera en *B. brassicae*.

### 6.3 ASPECTOS METODOLÓGICOS

Una de las preocupaciones que surgió durante la fase de experimentación fue la estandarización de variables ambientales. Fue imposible estandarizar la temperatura en el invernadero debido a que el lugar no fue construido con este propósito y se lo tuvo que adecuar para que cumpla en la medida de lo posible con esa función. Se sabe que la temperatura puede influir sobre el fenotipo de los áfidos (Blackman & Spence,

1994). Fathipour y colaboradores comprobaron que a temperaturas mayores de 25° la aptitud de los áfidos disminuye y la mortalidad aumenta considerablemente. Es interesante notar que los áfidos de este estudio sobrevivieron y se reprodujeron a temperaturas que bordeaban los 30°C alrededor del medio día. Aunque todos los tratamientos fueron afectados por las mismas variaciones diarias en la temperatura, no se puede descartar la posibilidad de que distintas plantas hospederas interactúen con la temperatura y resulten en diferentes respuestas fenotípicas por parte de los áfidos. Sería interesante comprobar esta hipótesis.

También se debe tener en consideración la importancia del sustrato sobre el cual se cría a los áfidos. Existe la posibilidad de criarlos con dietas artificiales, lo cual puede estandarizar las variables nutricionales, sin embargo, esta metodología tiende a producir áfidos con alta mortalidad y baja fecundidad y esto limita el alcance de los estudios experimentales (Blackman & Spence ,1994; Castañeda *et al.*, 2010). Otra opción es criar a los áfidos en discos de hojas ((Blackman & Spence ,1994; Margaritopoulos *et al.*, 2000), lo cual sirve para estandarizar la superficie de alimentación, pero en este caso se debe cambiar los discos diariamente y manipular constantemente a los áfidos, lo cual podría ser un factor generador de estrés para los insectos. La opción de criar a los áfidos sobre plántulas vivas, como se hizo en el presente estudio, permitió estudiar su desenvolvimiento bajo condiciones más naturales y menos estresantes para los áfidos. Esta metodología ha sido utilizada por Debaraj & Singh (2000), Via & Shaw (1996). Sin embargo, los diferentes sitios de alimentación pueden afectar a los áfidos dentro de una misma planta (Blackman & Spence, 1994). Se procuró estudiar y recolectar a los individuos que crecían en áreas específicas de las plantas para evitar esta fuente de variación, pero tampoco se la puede descartar. Otra desventaja que presentó la cría de áfidos en plantas enteras fue

que, debido a la disponibilidad de cajas y de espacio en el invernadero no se pudo obtener el número deseado de repeticiones de plantas por tratamiento, por tanto este estudio se basó en pseudo-replicaciones (todos los individuos medidos para cada tratamiento provenían de una misma planta). Por esta razón se analizó la variación entre las poblaciones sometidas a cada tratamiento, mas no se puede inferir acerca del impacto general de los tratamientos. Para lograr llevar a cabo este mismo estudio con suficientes réplicas por tratamiento se podría utilizar la cría en discos de hojas, ya que este método de cría también tiene la ventaja de ahorrar una gran cantidad de espacio.

En cuanto al estudio morfométrico de los áfidos, se trabajó los residuos de las regresiones entre la longitud del cuerpo y las demás variables con el propósito de eliminar en ellas el efecto del tamaño. Sin embargo, al notar que la longitud corporal varió de acuerdo a la fecundidad de los individuos, surgió la duda de si la variación en el tamaño de los áfidos ocurrió a nivel de todo el cuerpo o solo del abdomen. Sería recomendable medir por separado tórax-cabeza y abdomen en varios individuos para conocer si la longitud del abdomen varía en función del tamaño total del cuerpo, y definir si es conveniente utilizar la longitud total del cuerpo o la longitud de la cabeza y el tórax como variable independiente para las regresiones, y así eliminar el efecto del tamaño con mayor precisión.

Con respecto a los aspectos fisiológicos, cabe mencionar que el ensayo 1 y el ensayo 2 no fueron llevados a cabo exactamente bajo las mismas condiciones: el ensayo 2 fue realizado después de haber concluido el ensayo 1. Para este ensayo se contaba con un número menor de plantas, de modo que fue necesario prevenir la pérdida de datos por muerte prematura de los individuos tomando las medidas como un promedio de 2-3 áfidos planta. Estas diferencias impidieron de cierta manera llevar a cabo una comparación estricta y completa entre los dos ensayos, aunque fue válido

mencionar las similitudes y diferencias encontradas entre los resultados de ambos. Trabajar con áfidos criados en discos de hojas dentro de cajas petri también podría ayudar a estandarizar los ensayos 1 y 2, y esto permitiría compararlos estadísticamente.

#### **6.4 ALCANCE Y PROYECCIÓN DEL ESTUDIO**

Este trabajo es un primer aporte al conocimiento de la plasticidad fenotípica del áfido *Brevicoryne brassicae* (y de los áfidos en general), en el Ecuador. Hasta el momento no se había estudiado formalmente la ecología de las interacciones áfido-planta en el país. La investigación de la plasticidad fenotípica de estos insectos puede estar ligada a estudios genéticos y evolutivos (Via, 1993) y eso puede ayudar a dilucidar la estructuración de las diferentes poblaciones de estas plagas, que pueden existir tanto en plantas silvestres como en cultivos de importancia económica. Además, las reacciones plásticas de los áfidos hacia sus plantas hospederas son componentes importantes de su dinámica poblacional. Es importante conocer acerca de la dinámica poblacional y las interacciones de los insectos fitófagos con sus plantas hospederas, ya que estos factores pueden afectar directamente al desempeño y/o comportamiento de los niveles tróficos subsiguientes, como pueden ser los parasitoides o depredadores (Fox *et al.*, 1990; Francis *et al.*, 2000; Eigenbroder & Jetter, 2002; Lin & Ives, 2003). La importancia de conocer las interacciones tróficas entre las plantas, los insectos fitófagos y sus enemigos naturales radica en la posibilidad de establecer métodos de control integrado de plagas, que son menos dañinos para el ambiente y para las personas que se benefician de los cultivos.

## 7. LITERATURA CITADA

- Agarwala, B. K. & Das, A. 1998. Population diversity in aphids: the influence of host plant on morphology, biology and ecological performance of the mustard aphid *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach). *Journal of Aphidology*. 12: 21-31.
- Agrawal, A. A. 2001. Phenotypic plasticity in the interaction and evolution of species. *Science*. 294: 321-326.
- Asociation Ecosystem. 2011. КАПУСТА КОЧАВНАЯ—BRASSICA OLERACEA CAPITATA (sic.). En línea <<http://www.ecosystema.ru/07referats/cultrast/093.htm>>. [Consulta: enero, 2011].
- Atchley, W. R., Gaskins, C. T., Anderson, D. 1976. Statistical properties of ratios. I. Empirical results. *Systematic Zoology*. 25 (2): 137-148.
- Blackman, R. L. & Eastop, V. F. 2006. Aphids of the world's herbaceous plants and shrubs. John Wiley & Sons Ltd. England.
- Blackman, R. L. & Spence, J. M. 1994. The effects of temperature on aphid morphology, using a multivariate approach. *European Journal of Entomology*. 91: 7- 22.
- Broekgaarden, C. B., Poelman, E. H., Steenhuis, G., Voorrips, R. E., Dicke, M., Vosman, B. 2008. Responses of *Brassica oleracea* cultivars to infestation by the aphid *Brevicoryne brassicae*: an ecological and molecular approach. *Plant, Cell & Environment*. 31: 1592-1605.
- Castañeda, L. E., Figueroa, C. C., Nespolo, R. F. 2010. Do insect pest perform better on highly defended plants? Costs and benefits of induced detoxification defences in the aphid *Sitobion avenae*. *Journal of Evolutionary Biology*. 23: 2474-2483.
- Debaraj, Y. & Singh, T. K. 2000. Morphometric study of different stages of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera: Aphididae). *Russian Entomological Journal*. 9 (4): 315-319.
- Devi, P. B. & Singh, T. K., 2007. Studies on the morphometry of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Entomological Research*. 37: 81- 85.
- Dixon, A. F. G. 1998. *Aphid Ecology: an optimization approach*. Second edition. Chapman and Hall. Great Britain.
- Eigenbrode, S. D. & Jetter, R. 2002. Attachment to plant surface waxes by an insect predator. *Integrative and Comparative Biology*. 42 (6): 1091-1099.

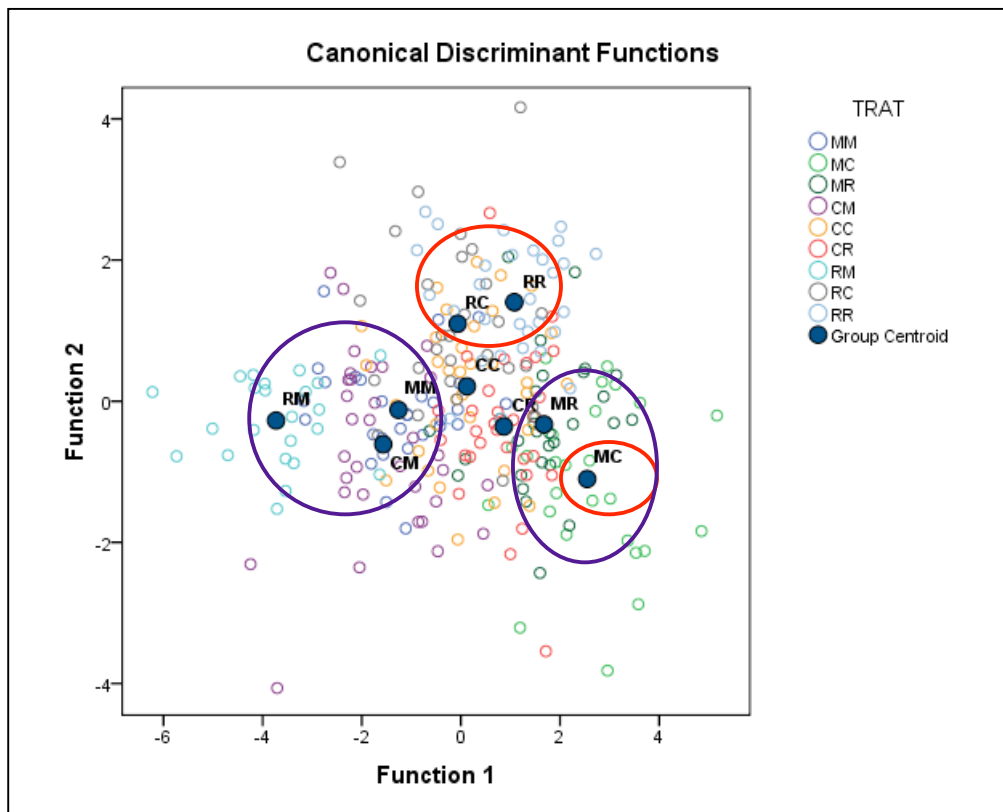
- Fathipour, Y., Hosseini, A., Talebi, A. A., Moharramipour, S., Asgari, S. 2005. Effects of Different Temperatures on Biological Parameters of Cabbage Aphid, *Brevicoryne brassicae* (Hom., Aphididae). Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 9 (2): 194-203.
- Favret, C. & Voegtlin, D. J. 2004. Host-based morphometric differentiation in three *Cinara* species (Insecta: Hemiptera: Aphididae) feeding on *Pinus edulis* and *P. monophylla*. Western North American Naturalist. 64: 364-375.
- Feketitsch, D. 2004. Denise Feketitsch. Illustrationen. En línea < [http://www.feketitsch.de/d\\_fruits\\_4.html](http://www.feketitsch.de/d_fruits_4.html) > [Consultado en enero, 2011].
- Fox, L. R., Letourneau, D. K., Eisenbach, J., Van Nouhuys, S. 1990. Parasitism rates and sex ratios of a parasitoid wasp: effects of herbivore and plant quality. Oecologia. 83: 414-419.
- Francis, F., Haubruge, E., Gaspar, C. 2000. Influence of host plants on specialist/generalist aphids and on the development of *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). European Journal of Entomology. 97: 481-485.
- Gabrys, B. & Pawluk, M. 1999. Acceptability of different species of Brassicaceae as hosts for the cabbage aphid. Entomologia Experimentalis et Applicata. 91: 105- 109.
- Goggin, F. L. 2007. Plant-aphid interactions: molecular and ecological perspectives. Current opinion in plant biology. 10: 399-408.
- Gorur, G., Lomonaco, C., Mackensie, A. 2005. Phenotypic plasticity on host-plant specialization in *Aphis fabae*. Ecological Entomology. 30: 657-664.
- Gorur, G., Lomonaco, C., Mackensie, A. 2007. Phenotypic plasticity in host choice behaviour in black bean aphid *Aphis fabae* (Homoptera: Aphididae). Arthropod-plant interactions 1 (3): 187-194.
- Hernández, I., Cely, N., Gonzales, F., Muñoz, E., Prieto, I. 2007. The discovery of new export products in Ecuador. Stratega. Reporte Final Consultoría.
- Honek, A. 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. Oikos. 66: 483-492.
- Hughes, R. D. 1963. Population dynamics of the Cabbage Aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.). The journal of animal ecology. 32 (3): 393- 424.
- Hunter, M. D. 2002. Maternal effects and the population dynamics of insects on plants. Agricultural and forest entomology. 4: 1-9.
- Iheagwam, E. U. 1981. Influence of Cabbage Brassica Oleracea Varieties and Temperature on Population Variables of the Cabbage Whitefly *Aleyrodes Brassicae*. Oikos. 36 (2): 233- 237.

- Kunert, G., Weisser, W.W. 2005. The importance of antennae for pea aphid wing induction in the presence of natural enemies. *Bulletin of Entomological Research*. 95 (02): 125-131.
- Leal- Aguilar, K. Ruiz- Montoya, L., Perales, H., Morales, H. 2008. Phenotypic plasticity of *Brevicoryne brassicae* in responses to nutritional quality of two related host plants. *Ecological Entomology*. 33: 735- 741.
- Legrand, A., Barbosa, P. 2000. Pea aphid (Homoptera: Aphididae) fecundity, rate of increase and within-plant distribution unaffected by plant morphology. *Environmental Entomology*. 29(5): 987-993.
- Lin, L. A., Ives, A. R. 2003. The effect of parasitoid host-size preference on host population growth rates: an example of *Aphidius colemani* and *Aphis glycines*. *Ecological Entomology*. 28: 542-550.
- Llugcha, A. J. 2001. Metodología del control del áfido *Brevicoryne brassicae* en la pella de broccoli *Brassica oleracea* a nivel postcosecha. Machachi, Pichincha. Tesis de Licenciatura, Universidad Central del Ecuador. Quito- Ecuador.
- Lozier, J. D., Foottit, R. G., Miller, G. L., Mills, N. J., Roderick, G. K. 2008. Molecular and morphological evaluation of the aphid genus *Hyalopterus* Koch (Insecta: Hemiptera: Aphididae), with a description of a new species. *Zootaxa*. 1688: 1-19.
- Lushai, G., Sherratt, T. N., David, O., De Barro, P. J., Mclean, N. 1997. Host selection by winged summer females of the aphid *Sitobion avenae* . *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 85: 199-209.
- Margaritopoulos, J.T., Tsitsipis, J.A., Zintzaras, E., Blackman R.L. 2000. Host-correlated morphological variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) populations in Greece. *Bulletin of Entomological Research*. 90: 233- 244
- Martin, J. L., Ronald, F. L. 2007. Department of Entomology, Honolulu, Hawaii. The cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. En línea <<http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/Type/brevicor.htm#DAMAGE>>. [Consultado en diciembre, 2008].
- McAdam, A. G., Boutin, S., Réale, D., Berteaux, D. 2001. Maternal effects and the potencial for evolution in a natural population of animals. *Evolution*. 56(4): 846-851.
- McLean, A. H. C., Ferrari, J., Godfray, H. C. J. 2009. Effects of the maternal and pre-adult host plant on adult performance and preferente in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Ecological Entomology*. 34: 330-338.
- Moczek, A. P. 2010. Phenotypic plasticity and diversity in insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 365: 593-603.

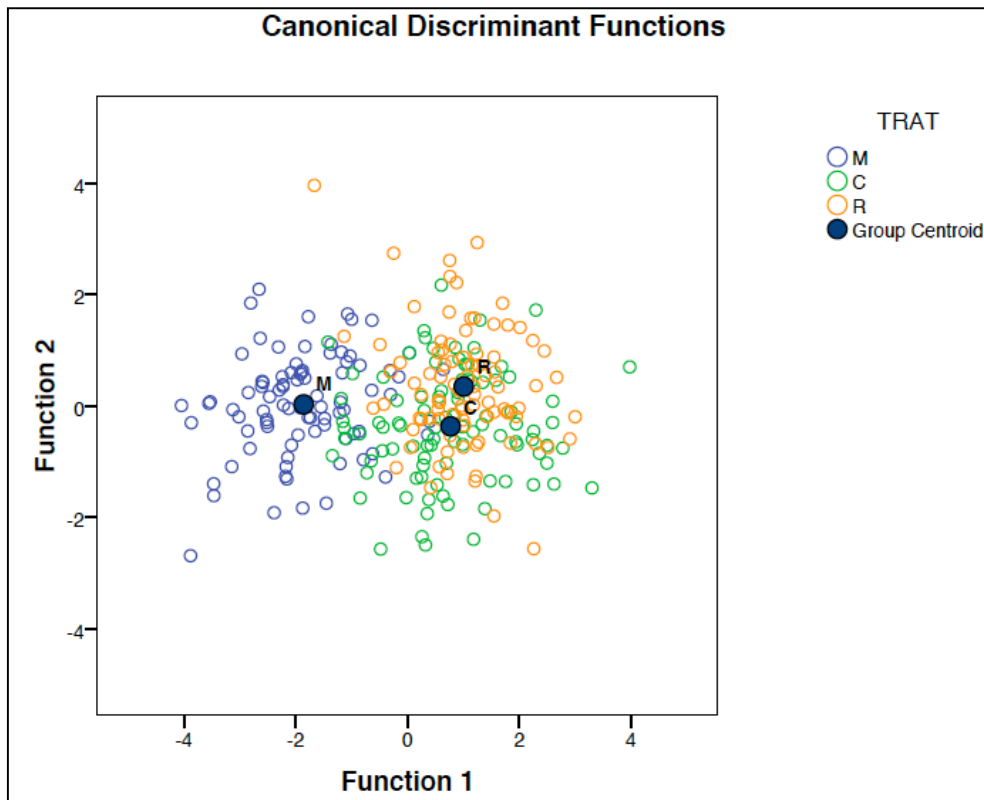
- McAdam, A. G., Boutin, S., Réale, D., Berteaux, D. 2001. Maternal effects and the potential for evolution in a natural population of animals. *Evolution*. 56(4): 846-851.
- Nevo, E. & Coll, M. 2001. Effect of nitrogen fertilization on *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae): variation in size, color and reproduction. *Journal of Economical Entomology*. 94 (1): 27-32.
- Nylin, S., Gotthard, K. 1998. Plasticity in life history traits. *Annual Review of Entomology*. 43: 63-83.
- Pereira, C. D., Lomonaco, C. 2001. Plasticidade fisiológica e comportamental de *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae) em duas variedades de *Brassica oleracea* (L.). *Neotropical Entomology*. 30(1): 29-35.
- Pickett, J. A., Wadhams, L. J., Woodcock, C. M., Hardie, J. 1992. The Chemical Ecology of Aphids. *Annual Review of Entomology*. 37: 67- 90.
- Poorani, J. 2008. Aphids of Karnataka. *Brevicoryne brassicae* (L.). En línea <[http://www.aphidweb.com/Aphids%20of%20Karnataka/Brevicoryne brassicae.htm](http://www.aphidweb.com/Aphids%20of%20Karnataka/Brevicoryne%20brassicae.htm)>. [Consultado en diciembre, 2008]
- Powell, G., Tosh, C. R., Hardie, J. 2006. Host plant selection by aphids. *Annual Review of Entomology*. 51: 309- 330.
- Ruiz- Montoya & L., Núñez- Farfán. 2009. Natural selection and maternal effects in life history traits of *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) on two sympatric closely related hosts. *Florida Entomologist*. 92(4): 635-644.
- Ruiz- Montoya, L., Núñez- Farfán, J., Vargas, J. 2003. Host- associated genetic structure of Mexican populations of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae). *Heredity*. 91: 415- 421.
- Ruiz- Montoya, L., Núñez- Farfán, J., Domínguez, C. A. 2005. Changes in morphological traits of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) associated with the use of different host plants. *Ecological Research*. 20: 591- 598.
- Satar, S., Kersting, U., Ulusoy, M. R. 2005. Temperature dependent life history traits of *Brevicoryne brassicae* (L.) on white cabbage. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 29: 341- 346.
- Schopke, T. 2004. Koehler's Medicinal-Plants - English species names. En línea <<http://pharm1.pharmazie.uni-greifswald.de/allgemei/koehler/koeh-eng.htm>>. [Consultado en enero, 2011].
- Simon, J., Rispe, C., Sunnucks, P. 2002. Ecology and evolution of sex in aphids. *Trends in Ecology and Evolution*. 17 (1): 34- 39.

- le Trionnaire, G., Hardie, J., Jaubert-Possamai, S, Simon, J., Tagu, D. 2008. Shifting from clonal to sexual reproduction in aphids: physiological and developmental aspects. *Biology of the cell*. 100: 441-451.
- Verheggen, F. 2008. Production of alarm pheromone in aphids and perception by ants and natural enemies. Essai présenté en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique. Academie universitaire wallonie-europe. Communauté française de Belgique.
- Via, S. 1993. Adaptive phenotypic plasticity: target of by-product of selection in a variable environment? *American Naturalist*. 142 (2): 352-365.
- Via, S. & Shaw, A. 1996. Short term evolution in the size and shape of pea aphids. *Evolution*. 50 (1): 163- 173.
- Vorburger, C., Gegenschatz, S. E., Ranieri, G., Rodríguez, P. Limited scope for maternal effects in aphid defense against parasitoids. *Ecological Entomology*. 33: 189-196.
- Will, T., Tjallingii, T. F., Thonnessen, A., van Bell, A.J.E. 2007. Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. *PNAS* 104 (25): 10536-10541.
- Zehnder, C. B., Parris, M. A., Hunter, M. D. 2007. Effects of maternal age and environment on offspring vital rates in the Oleander aphid (Hemiptera: Aphididae). *Environmental entomology*. 36(4): 910-917.

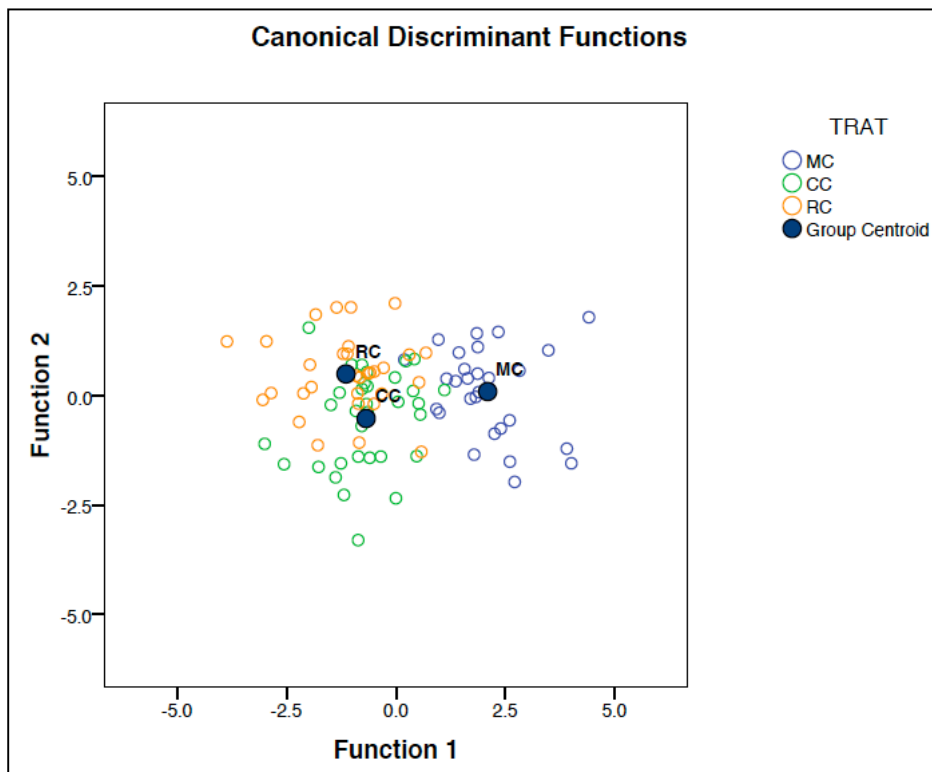
## 8. FIGURAS



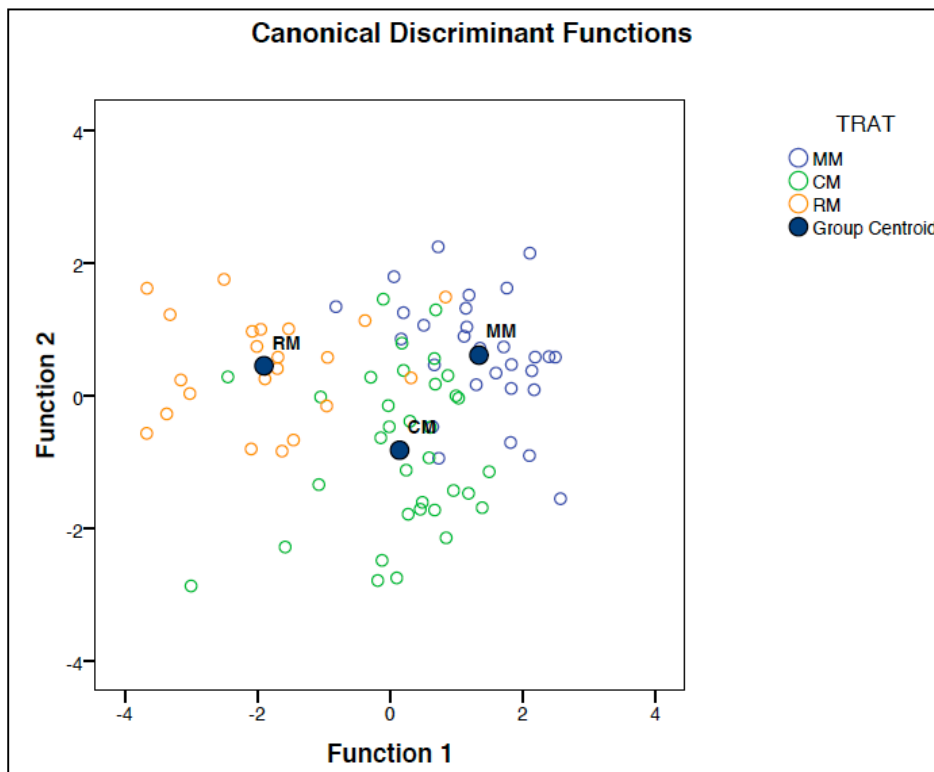
**Figura 1** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos de 5<sup>a</sup> generación en todos los tratamientos. M= mostaza, C= col, R= rábano. La primera letra indica la planta recipiente, la segunda letra indica la planta origen. Se encuentran dentro de los círculos lila los tratamientos que más se diferenciaron a lo largo de la función 1, y dentro de los círculos rojos los tratamientos que más se diferenciaron a lo largo de la función 2. La función 1 se encuentra representada por la longitud corporal, la función 2 por la longitud de la tibia y fémur posteriores.



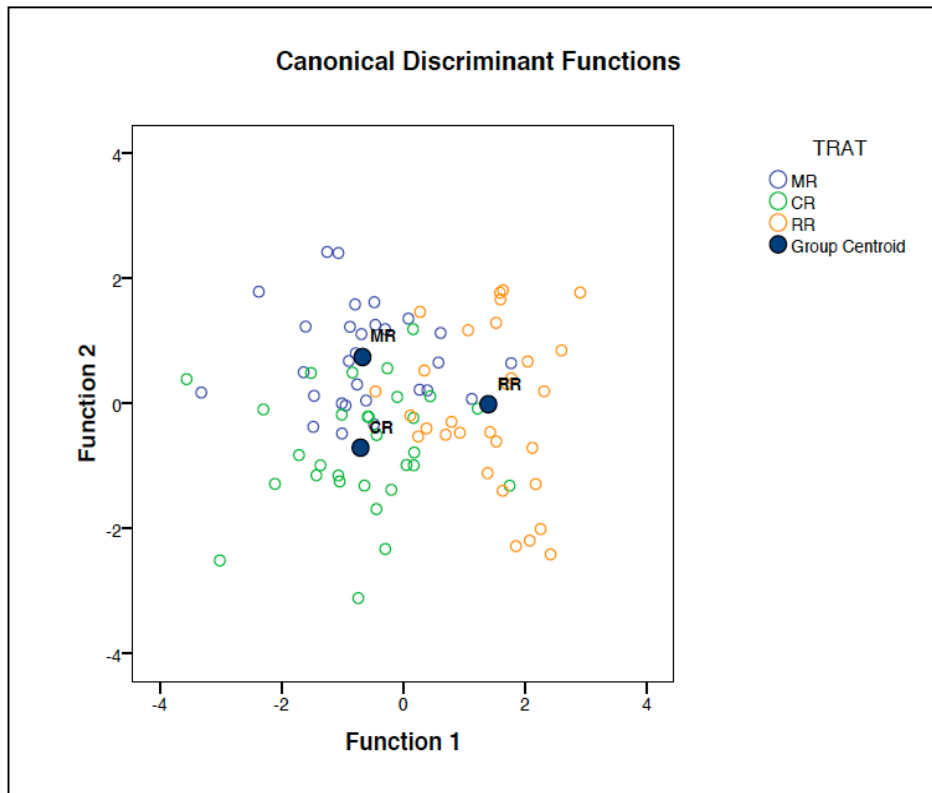
**Figura 2** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos de 5<sup>a</sup> generación en los tratamientos agrupados por planta de origen. M= mostaza, C= col, R= rábano. La función 1 se encuentra representada por la longitud corporal y la función 2 por la longitud del fémur posterior.



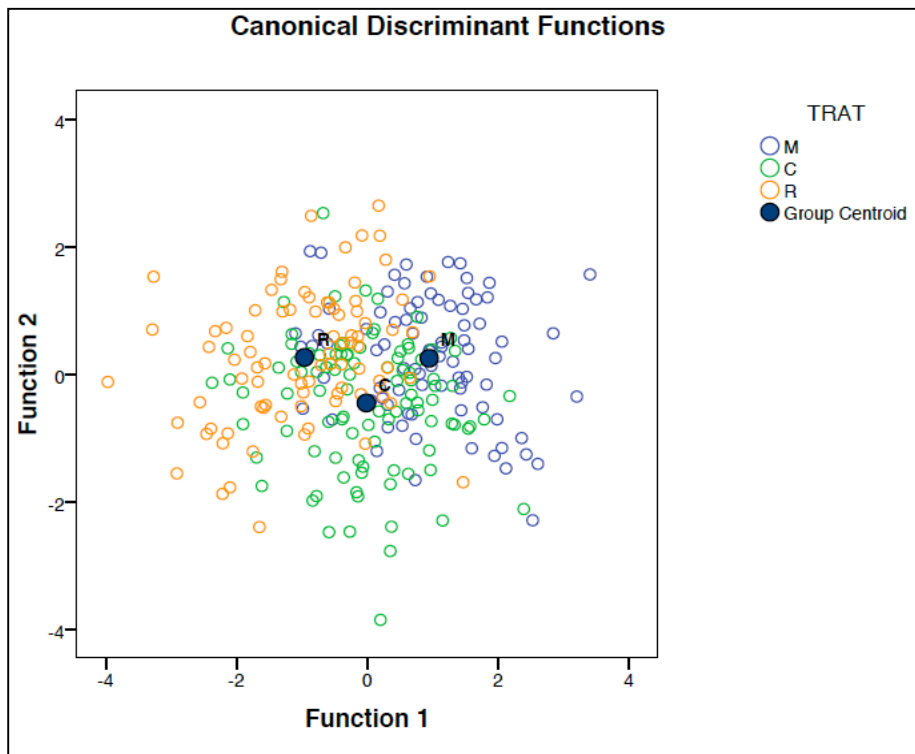
**Figura 3.** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas recipientes cuyo origen fue la col. M= mostaza, C= col, R= rábano. La primera letra indica la planta recipiente, la segunda letra indica la planta de origen. La función 1 se encuentra representada por la longitud corporal y la función 2 por la longitud del fémur posterior.



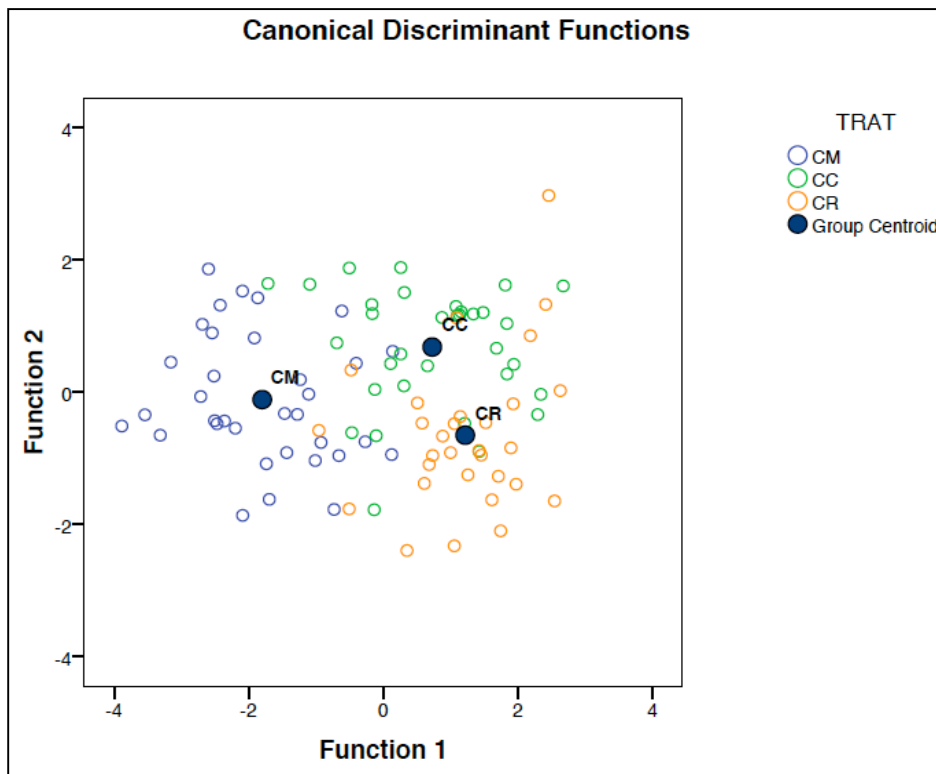
**Figura 4.** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas recipientes cuyo origen fue la mostaza. M= mostaza, C= col, R= rábano. La primera letra indica la planta recipiente, la segunda letra indica la planta de origen. La función 1 está representada por la longitud corporal y la función 2 por la longitud del fémur anterior y posterior y de la tibia posterior.



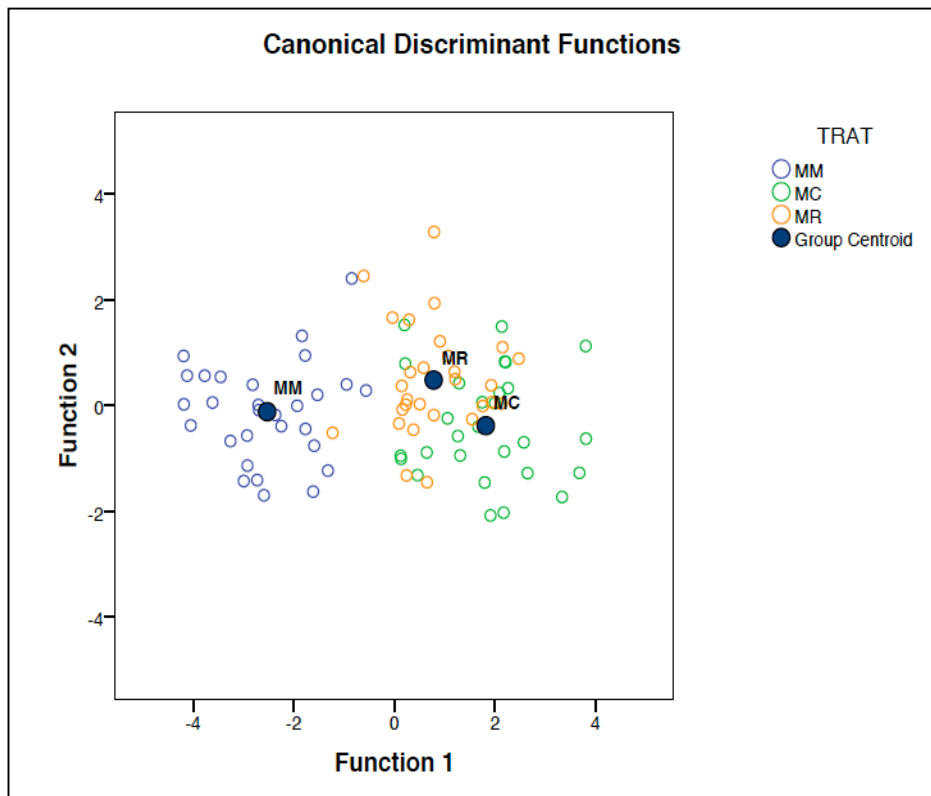
**Figura 5.** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas recipientes cuyo origen fue el rábano. M= mostaza, C= col, R= rábano. La primera letra indica la planta recipiente, la segunda letra indica la planta de origen. La función discriminante 1 se encuentra representada por la longitud del fémur y tibia posteriores, la función 2 por la longitud corporal.



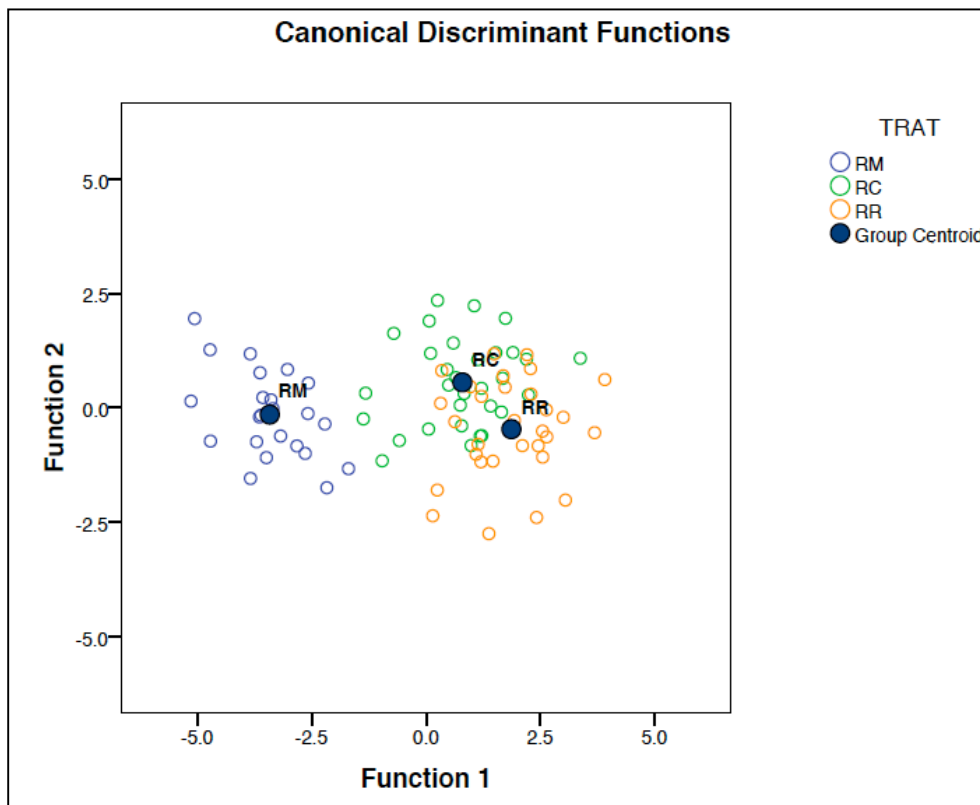
**Figura 6** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos de 5<sup>a</sup> generación en los tratamientos agrupados por planta recipiente. M= mostaza, C= col, R= rábano. La función 1 está representada por la longitud del cuerpo y la función 2 por la longitud del fémur posterior.



**Figura 7.** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas origen cuyo recipiente fue la col. M= mostaza, C= col, R= rábano. La primera letra indica la planta recipiente, la segunda letra indica la planta de origen. La función 1 está representada por la longitud corporal y la función 2 por la longitud de la tibia posterior.



**Figura 8.** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas origen cuyo recipiente fue la mostaza. M= mostaza, C= col, R= rábano. La primera letra indica la planta recipiente, la segunda letra indica la planta de origen. La función 1 está representada por la longitud corporal (correlación positiva) y por la longitud del fémur anterior (correlación negativa). La función 2 está representada por la cauda y la tibia posterior.



**Figura 9.** Análisis discriminantes para las medidas morfométricas de los áfidos pertenecientes a las plantas origen cuyo recipiente fue el rábano. M= mostaza, C= col, R= rábano. La primera letra indica la planta recipiente, la segunda letra indica la planta de origen. La función 1 está representada por la longitud corporal y la función dos por la longitud de la base del 6° segmento antenal.

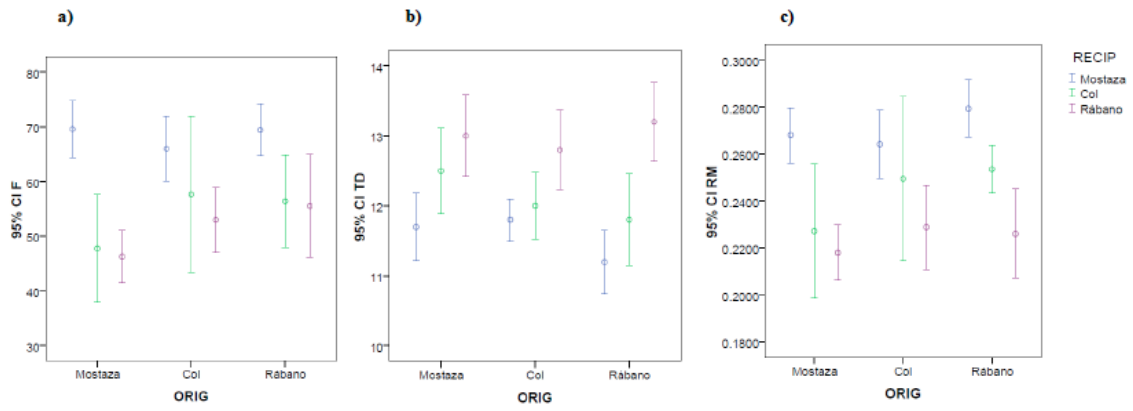
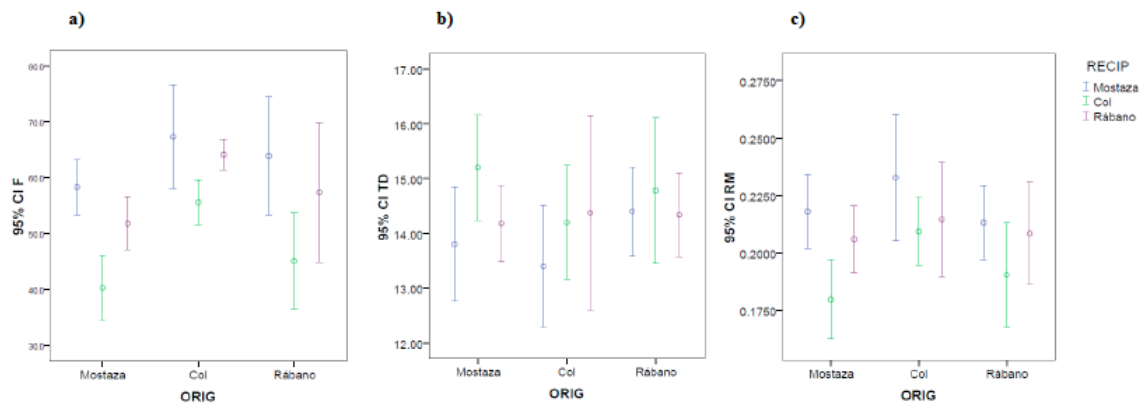


Figura 10. Gráficos de barras de error para el ensayo 1. a) fecundidad (F), b) Tiempo de desarrollo (TD) y c) tasa intrínseca de desarrollo (RM)



**Figura 11.** Gráficos de barras de error para el ensayo 2. **a)** fecundidad (F), **b)** Tiempo de desarrollo (TD) y **c)** tasa intrínseca de desarrollo (RM)

**9. TABLAS**

**Tabla 1.** Porcentajes de clasificación correcta a partir de los análisis discriminantes.  
M= mostaza, C= col, R= rábano.

- a) para todos los tratamientos (la primera letra indica la planta recipiente, la segunda letra indica la planta origen)

		Predicción de pertenencia al grupo									
TRAT	MM	MC	MR	CM	CC	CR	RM	RC	RR	N	
%	<b>MM</b>	75.9	0.0	0.0	3.4	6.9	0.0	3.4	6.9	3.4	29
	<b>MC</b>	0.0	71.4	21.4	0.0	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	28
	<b>MR</b>	6.9	20.7	44.8	0.0	3.4	17.2	0.0	0.0	6.9	29
	<b>CM</b>	20.6	0.0	0.0	52.9	5.9	5.9	8.8	5.9	0.0	34
	<b>CC</b>	8.8	0.0	17.6	5.9	35.3	8.8	0.0	17.6	5.9	34
	<b>CR</b>	3.3	6.7	10.0	3.3	10.0	53.3	0.0	6.7	6.7	30
	<b>RM</b>	8.7	0.0	0.0	4.3	0.0	0.0	87.0	0.0	0.0	23
	<b>RC</b>	6.5	0.0	6.5	6.5	16.1	0.0	0.0	45.2	19.4	31
	<b>RR</b>	0.0	0.0	6.7	0.0	3.3	3.3	0.0	26.7	60.0	30
<b>Porcentaje de casos totales clasificados correctamente: 57.1</b>											

- b) Para los datos agrupados por planta de origen y planta recipiente

		Predicción de pertenencia al grupo				
		PLANTA	M	C	R	N
%	<b>POR</b>	<b>M</b>	89.5	5.8	4.7	86
	<b>ORIG</b>	<b>C</b>	10.8	55.9	33.3	93
		<b>R</b>	3.4	36.0	60.7	89
<b>Porcentaje de casos totales clasificados correctamente: 60.4</b>						
	<b>POR</b>	<b>M</b>	72.1	15.1	12.8	86
	<b>RECIP</b>	<b>C</b>	29.6	38.8	31.6	98
		<b>R</b>	9.5	16.7	73.8	84
<b>Porcentaje de casos totales clasificados correctamente: 68.3</b>						

c) para los orígenes y recipientes analizados individualmente

<b>Predicción de pertenencia al grupo</b>							
		<b>RECIP</b>	<b>M</b>	<b>C</b>	<b>R</b>	<b>N</b>	
<b>%</b>	<b>ORIG</b>	<b>COL</b>	<b>M</b>	96.4	0.0	3.6	28
			<b>C</b>	2.9	61.8	35.3	34
			<b>R</b>	3.2	22.6	74.2	31
	76.3% del total de casos clasificados correctamente						
		<b>MOST</b>	<b>M</b>	89.7	6.9	3.4	29
			<b>C</b>	26.5	64.7	8.8	34
			<b>R</b>	8.7	0.0	91.3	39
	80.2 % del total de casos clasificados correctamente						
		<b>RAB</b>	<b>M</b>	69.9	17.2	13.8	29
			<b>C</b>	20.0	70.0	10.0	30
			<b>R</b>	10.0	6.7	83.3	30
	74.2 % del total de casos clasificados correctamente						
<b>RECIP</b>		<b>COL</b>	<b>M</b>	85.3	8.8	5.9	34
			<b>C</b>	11.8	67.6	20.6	34
			<b>R</b>	3.3	16.7	80.0	30
	77.6 % del total de casos clasificados correctamente						
		<b>MOST</b>	<b>M</b>	93.1	0.0	6.9	29
			<b>C</b>	0.0	78.6	21.4	28
			<b>R</b>	3.4	27.6	69.0	29
	80.2 % del total de casos clasificados correctamente						
		<b>RAB</b>	<b>M</b>	100.0	0.0	0.0	23
			<b>C</b>	3.2	74.2	22.6	31
			<b>R</b>	0.0	26.7	73.3	30
	81.0 % del total de casos clasificados correctamente						

**Tabla 2.** Aporte de cada función discriminante a la variación morfológica total

<b>Comparación</b>	<b>Eigenvalue</b>	<b>Función discriminante</b>	<b>% variación</b>	<b>% acumulativo</b>
<b>Todos los tratamientos</b>	3.227	1	72.2	72.2
	0.607	2	13.6	85.8
<b>Órigenes</b>	1.674	1	95.0	95.0
	0.088	2	5.0	100.0
<b>Recipientes</b>	0.583	1	83.2	83.2
	0.118	2	16.8	100.0
<b>Origen Col</b>	1.997	1	91.3	91.3
	0.190	2	8.7	100.0
<b>Origen Mostaza</b>	1.638	1	78.0	78.0
	0.463	2	22.0	100.0
<b>Origen Rábano</b>	0.994	1	73.2	73.2
	0.364	2	26.8	100.0
<b>Recipiente Col</b>	1.817	1	85.6	85.6
	0.305	2	14.4	100.0
<b>Recipiente Mostaza</b>	3.573	1	96.4	96.4
	0.135	2	3.6	100.0
<b>Recipiente Rábano</b>	4.876	1	96.0	96.0
	0.205	2	4.0	100.0

**Tabla 3.** Correlaciones entre las variables morfológicas y las funciones discriminantes obtenidas a partir de los análisis discriminantes.

BL= longitud corporal, ANTHI= tercer segmento antenal, BVI= base del sexto segmento antenal, PTVI= proceso terminal del sexto segmento antenal, URS= último segmento rostral, HF= fémur posterior, HT= tibia posterior, HTARII= segundo segmento tarsal posterior, FF= fémur anterior, COR= cornícola, CAU= cauda.

a) para todos los tratamientos, tratamientos agrupados por planta de origen y tratamientos agrupados por planta recipiente.

Agrupación de los tratamientos	Variable	Función discriminante	
		1	2
TODOS	BL	0.777 *	-0.241
	HF	-0.016	0.772 *
	HT	-0.098	0.695 *
	FF	-0.211	0.467
	ANTHI	-0.057	0.214
	HTARII	0.179	0.183
	URS	-0.064	-0.218
	CAU	0.125	0.428
	PTVI	0.020	0.316
	COR	0.128	0.432
	BVI	-0.037	0.139
POR ORIGEN	BL	0.541 *	0.078
	COR	0.288 *	0.001
	CAU	0.262 *	0.070
	HTARII	0.202 *	-0.145
	ANTHI	-0.123 *	0.055
	HF	0.039	0.500 *
	URS	-0.130	0.324 *
	FF	-0.251	0.305 *
	BVI	-0.049	-0.139 *
	PTVI	0.042	0.088 *
	HT	-0.026	-0.086 *
POR RECIPIENTE	BL	0.722 *	0.298
	COR	-0.263 *	-0.171
	URS	0.206 *	-0.173
	HF	-0.264	0.729 *
	HT	-0.312	0.548 *
	FF	-0.108	0.511 *
	CAU	-0.167	0.347 *
	BVI	0.049	0.329 *
	HTARII	0.164	0.291 *
	ANTHI	0.106	0.260 *
	PTVI	-0.130	0.216 *

b) para las plantas origen consideradas individualmente

Origen	Variable	Función discriminante		
		1	2	
COL	BL	0.867 *	0.084	
	HT	-0.479 *	0.378	
	COR	-0.249 *	0.034	
	ANTIII	-0.166 *	0.115	
	HF	-0.350	0.712 *	
	BVI	-0.144	0.345 *	
	FF	-0.342	0.343 *	
	PTVI	-0.141	0.326 *	
	URS	0.051	-0.232 *	
	CAU	-0.171	-0.174 *	
	HTARII	0.052	0.084 *	
MOSTAZA	BL	0.824 *	-0.290	
	ANTIII	0.392 *	0.112	
	HTARII	0.295 *	0.036	
	PTVI	0.193 *	-0.094	
	FF	0.471	0.658 *	
	HT	0.270	0.550 *	
	HF	0.401	0.520 *	
	BVI	0.203	0.339 *	
	CAU	-0.002	0.296 *	
	URS	0.105	0.272 *	
	COR	0.061	-0.109 *	
	RÁBANO	HF	0.725 *	0.160
		HT	0.605 *	0.172
FF		0.486 *	0.191	
CAU		0.335 *	0.276	
PTVI		0.323 *	0.130	
URS		-0.308 *	-0.201	
BL		-0.350	0.699 *	
ANTIII		0.235	0.454 *	
HTARII		0.126	0.359 *	
COR		0.202	-0.288 *	
BVI		-0.016	0.191 *	

c) para las plantas recipiente consideradas individualmente

RECIP	Variable	Función discriminante	
		1	2
COL	BL	0.499 *	-0.366
	COR	0.320 *	0.151
	FF	-0.205 *	0.186
	HT	0.014	0.532 *
	CAU	0.279	0.458 *
	URS	0.026	-0.298 *
	ANTIII	-0.185	0.271 *
	HTARII	0.106	0.269 *
	BVI	0.004	0.112 *
	PTV	-0.069	0.100 *
	HF	0.024	0.031 *
MOSTAZA	BL	0.683 *	-0.388
	FF	-0.537 *	0.090
	HT	-0.401 *	0.257
	ANTIII	-0.297 *	0.230
	BVI	-0.188 *	0.131
	URS	-0.164 *	0.004
	CAU	0.068	0.640 *
	HF	-0.371	0.529 *
	COR	0.062	0.409 *
	PTVI	-0.081	0.180 *
	HTARII	0.073	0.112 *
	RÁBANO	BL	0.618 *
HF		0.385 *	-0.308
HTARII		0.250 *	0.137
HT		0.208 *	0.160
PTVI		0.186 *	0.008
ANTIII		0.157 *	0.081
BVI		0.037	0.509 *
FF		0.120	-0.327 *
COR		0.262	0.265 *
CAU		0.204	-0.254 *
URS		-0.125	-0.126 *

**Tabla 4.** Resultados de los MANOVA realizados en base a los puntajes discriminantes de cada análisis

<b>Comparación</b>	<b>Función discriminante</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Significación</b>	
<b>Todos los tratamientos</b>	1	9	830.021	92.225	91.420	0.000	**
	2	9	162.250	18.028	18.015	0.000	**
<b>Orígenes</b>	1	3	442.199	147.400	147.853	0.000	**
	2	3	23.171	7.724	7.751	0.000	**
<b>Recipientes</b>	1	3	157.550	52.517	52.297	0.000	**
	2	3	31.207	10.402	10.441	0.000	**
<b>Origen Col</b>	1	3	179.742	59.914	59.914	0.000	**
	2	3	17.112	5.704	5.704	0.001	**
<b>Origen Mostaza</b>	1	3	135.951	45.317	45.317	0.000	**
	2	3	38.420	12.807	12.807	0.000	**
<b>Origen Rábano</b>	1	3	89.349	29.783	29.780	0.000	**
	2	3	31.211	10.404	9.897	0.000	**
<b>Recipiente Col</b>	1	3	172.579	57.526	57.526	0.000	**
	2	3	28.944	9.648	9.648	0.000	**
<b>Recipiente Mostaza</b>	1	3	296.571	98.857	98.857	0.000	**
	2	3	11.209	3.736	3.736	0.014	*
<b>Recipiente Rábano</b>	1	3	389.024	129.675	128.916	0.000	**
	2	3	16.494	5.498	5.565	0.002	**

**Tabla 5.** Prueba de Tamhane de comparaciones múltiples entre los puntajes discriminantes

a) de todos los tratamientos.

	Trat	MM	MC	MR	CM	CC	CR	RM	RC	RR
<b>Función discriminante 1</b>	MM	----	**	**	N.S.	**	**	**	**	**
	MC	**	----	*	**	**	**	**	**	**
	MR	**	*	----	**	**	**	**	**	*
	CM	N.S.	**	**	----	**	**	**	**	**
	CC	**	**	**	**	----	*	**	N.S.	N.S.
	CR	**	**	**	**	*	----	**	**	N.S.
	RM	**	**	**	**	**	**	----	**	**
	RC	**	**	**	**	N.S.	**	**	----	*
	RR	**	**	*	**	N.S.	N.S.	**	*	----
<b>Función discriminante 2</b>	MM	----	**	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	**	**
	MC	**	----	N.S.	N.S.	**	N.S.	N.S.	**	**
	MR	N.S.	N.S.	----	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	**	**
	CM	N.S.	N.S.	N.S.	----	N.S.	N.S.	N.S.	**	**
	CC	N.S.	**	N.S.	N.S.	----	N.S.	N.S.	*	**
	CR	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	----	N.S.	**	**
	RM	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	----	**	**
	RC	**	**	**	**	*	**	**	----	N.S.
	RR	**	**	**	**	**	**	**	N.S.	----

b) de los tratamientos agrupados por origen y por recipiente

<b>Función discriminante</b>	<b>Orig</b>	<b>M</b>	<b>C</b>	<b>R</b>
<b>1</b>	<b>M</b>	----	**	**
	<b>C</b>	**	----	N.S.
	<b>R</b>	**	N.S.	----
<b>2</b>	<b>M</b>	----	*	N.S.
	<b>C</b>	*	----	**
	<b>R</b>	N.S.	**	----
<b>1</b>	<b>Recip</b>	<b>M</b>	<b>C</b>	<b>R</b>
	<b>M</b>	----	**	**
	<b>C</b>	**	----	**
<b>2</b>	<b>M</b>	----	**	N.S.
	<b>C</b>	**	----	**
	<b>R</b>	N.S.	**	----

c) de las plantas origen y recipiente consideradas individualmente

ORIG	FUNCIÓN DISCRIMINANTE	RECIP	Significación		
			M	C	R
Col	1	M	----	**	**
		C	**	----	N.S.
		R	**	N.S.	----
	2	M	----	N.S.	N.S.
		C	N.S.	----	**
		R	N.S.	**	----
Mostaza	1	M	----	**	**
		C	**	----	**
		R	**	**	----
	2	M	----	**	N.S.
		C	**	----	**
		R	N.S.	**	----
Rábano	1	M	----	N.S.	**
		C	N.S.	----	**
		R	**	**	----
	2	M	----	**	**
		C	**	----	N.S.
		R	**	N.S.	----
RECIP		ORIG	M	C	R
Col	1	M	----	**	**
		C	**	----	N.S.
		R	**	N.S.	----
	2	M	----	**	N.S.
		C	**	----	**
		R	N.S.	**	----
Mostaza	1	M	----	**	**
		C	**	----	**
		R	**	**	----
	2	M	----	**	N.S.
		C	**	----	**
		R	N.S.	**	----
Rábano	1	M	----	**	**
		C	**	----	**
		R	**	**	----
	2	M	----	*	N.S.
		C	*	----	**
		R	N.S.	**	----

**Tabla 6.** ANOVAS factoriales para fecundidad (F), tiempo de desarrollo (TD) y tasa intrínseca de crecimiento (RM)**a) Ensayo 1**

<b>Variable</b>	<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>	
<b>F</b>	Orig	2	431.308	215.654	2.881	0.640	N.S
	Recip	2	3956.782	1978.391	26.433	0.000	**
	Orig x Recip	4	438.003	109.501	1.463	0.225	N.S
<b>TD</b>	Orig	2	1.689	0.844	1.534	0.222	N.S
	Recip	2	31.489	15.744	28.594	0.000	**
	Orig x Recip	4	3.778	0.944	1.715	0.155	N.S.
<b>RM</b>	Orig	2	0.003	0.001	3.541	0.035	*
	Recip	2	0.028	0.014	35.342	0.000	**
	Orig x Recip	4	0.002	0.001	1.299	0.281	N.S.

**b) Ensayo 2**

<b>Variable</b>	<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>	
<b>F</b>	Orig	2	1077.269	538.634	13.716	0.000	**
	Recip	2	2033.529	1016.764	25.891	0.000	**
	Orig x Recip	4	76.558	19.139	0.487	0.745	N.S.
<b>TD</b>	Orig	2	2.086	1.043	1.529	0.231	N.S.
	Recip	2	5.547	2.774	4.066	0.026	*
	Orig x Recip	4	2.801	0.700	1.027	0.407	N.S.
<b>RM</b>	Orig	2	0.003	0.01	5.240	0.010	**
	Recip	2	0.006	0.03	12.274	0.000	**
	Orig x Recip	4	0.001	0.00	0.759	0.559	N.S.

**Tabla 7.** Pruebas post-hoc para el ensayo 1**a) Prueba Tukey's B para medias de fecundidad**

Recipiente	N	Subset	
		1	2
Rábano	25	51.24	
Col	18	54.44	
Mostaza	26		68.58

**b) Prueba Tukey's B para medias de tiempo de desarrollo**

Recipiente	N	Subset		
		1	2	3
Rábano	30	11.57		
Col	30		12.10	
Mostaza	30			13.00

**c) Prueba de Waller-Duncan y Tukey's B para las medias de tasa intrínseca de crecimiento (arriba para orígenes, abajo para recipientes)**

Waller-D	Origen	N	Subset	
			1	2
	Mostaza	25	0.2398	
	Col	19	0.2484	0.2484
	Rábano	25		0.2529

Tukey's B	Recipiente	N	Subset		
			1	2	3
	Rábano	25	0.2235		
	Col	18		0.2449	
	Mostaza	26			0.2709

**Tabla 8.** Pruebas post-hoc para el ensayo 2

a) Prueba Tukey's B para medias de fecundidad (arriba para orígenes, abajo para recipientes)

Origen	N	Subset		
		1	2	3
Mostaza	15	50.1275		
Rábano	15		55.440	
Col	14			62.214

Recipiente	N	Subset		
		1	2	3
Col	15	46.980		
Rábano	14		57.307	
Mostaza	15			63.167

b) Prueba Tukey's B para las medias de tiempo de desarrollo

Recipiente	N	Subset	
		1	2
Mostaza	15	13.867	
Rábano	14	14.293	14.293
Col	15		14.727

c) Prueba Tukey's B para las medias de tasa intrínseca de crecimiento (arriba para orígenes, abajo para recipientes)

Origen	N	Subset	
		1	2
Mostaza	15	0.2012	
Rábano	15	0.2040	
Col	14		0.2192

Recipiente	N	Subset	
		1	2
Col	15	0.1931	
Rábano	14		0.2093
Mostaza	15		0.2213

**Tabla 9.** ANOVA para porcentaje de nitrógeno de las tres plantas hospederas. Datos transformados a arcoseno.

	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>	
<b>Entre grupos</b>	0.997	2	0.498	4.533	0.029	*
<b>Dentro de grupos</b>	1.649	15	0.110			
<b>Total</b>	2.646	17				

**Tabla 10.** Prueba post hoc de Duncan para porcentaje de N de las tres plantas hospederas

<b>Planta</b>	<b>N</b>	<b>Subset</b>	
		<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Rábano</b>	6	11.811	
<b>Col</b>	6	11.933	
<b>Mostaza</b>	6		12.360

## **10. ANEXOS**

a)



b)



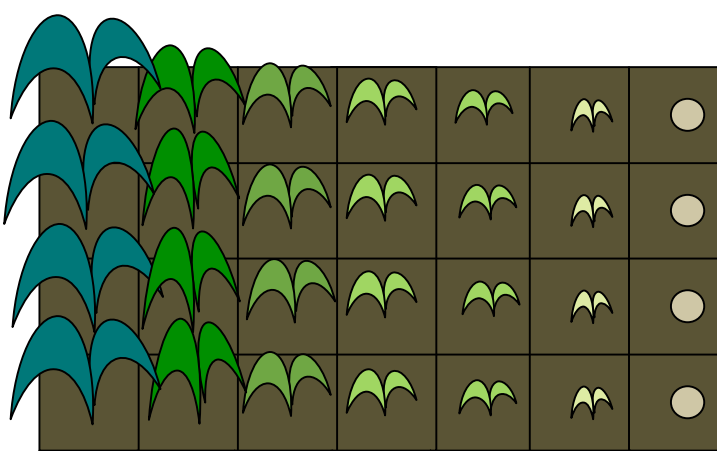
c)



d)

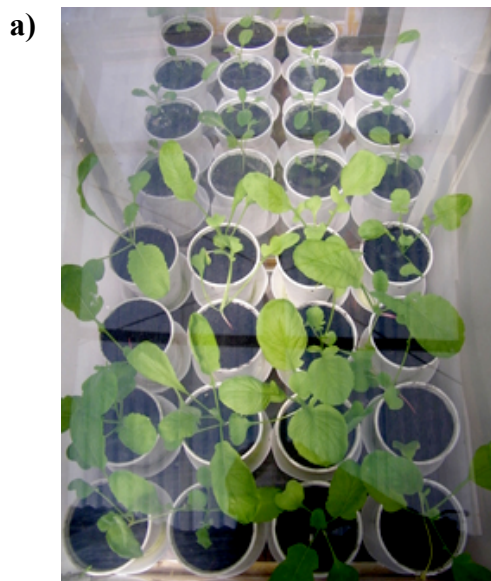


**Anexo 1.** Plantas hospederas utilizadas en el estudio: **a)** *Brassica napus* (modificada de Schopke, 2004), **b)** *Raphanus sativus* (Feketisch, 2004), **c)** *Brassica oleracea* (Association Ecosystem, 2011), **d)** *Brassica nigra* (modificada de Schopke, 2004).

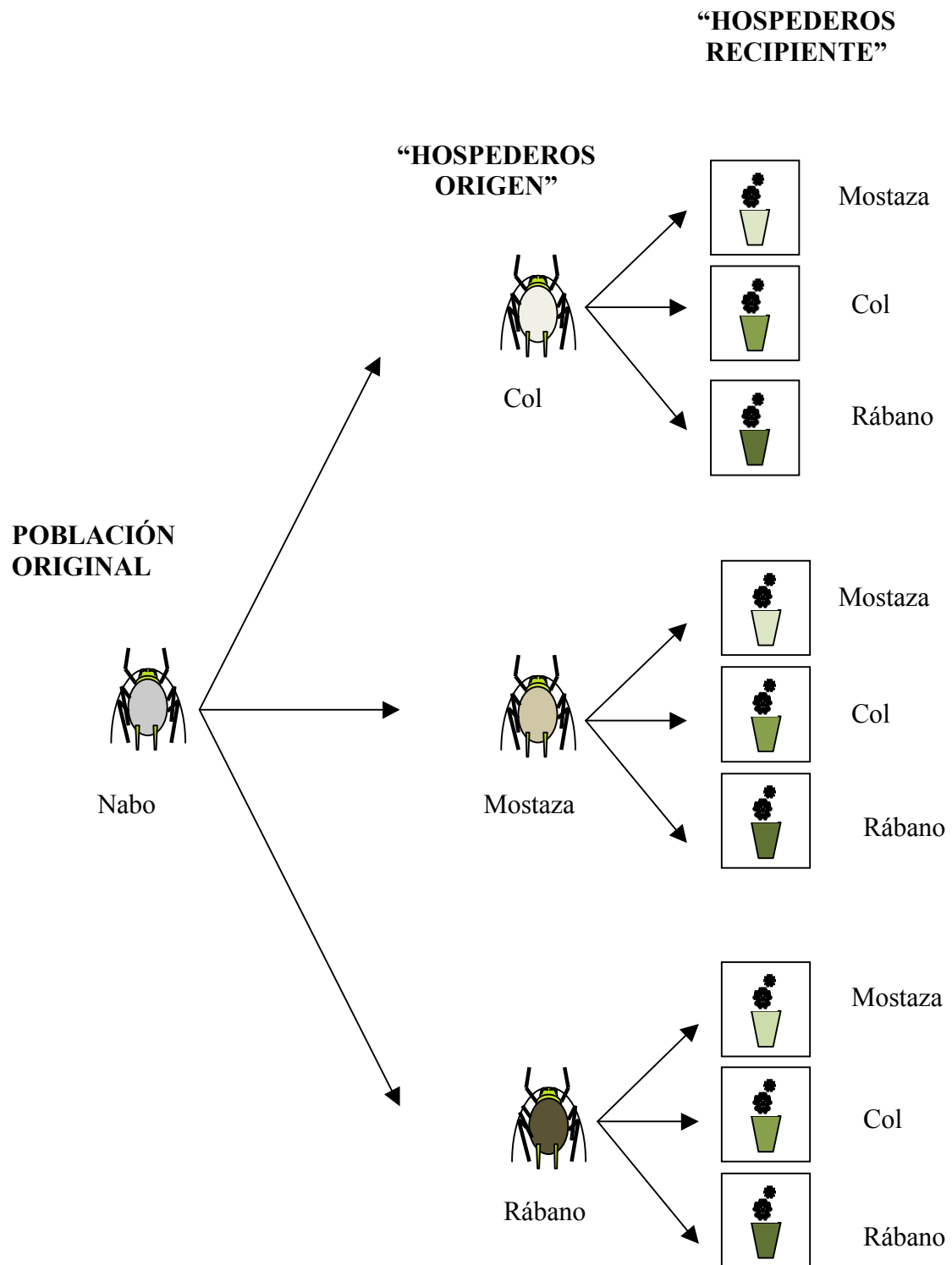


Generación	1	2	3	4	5	6	7
Tiempo entre generaciones	10 Días	10 Días	10 Días	10 Días	10 Días	10 Días	10 Días

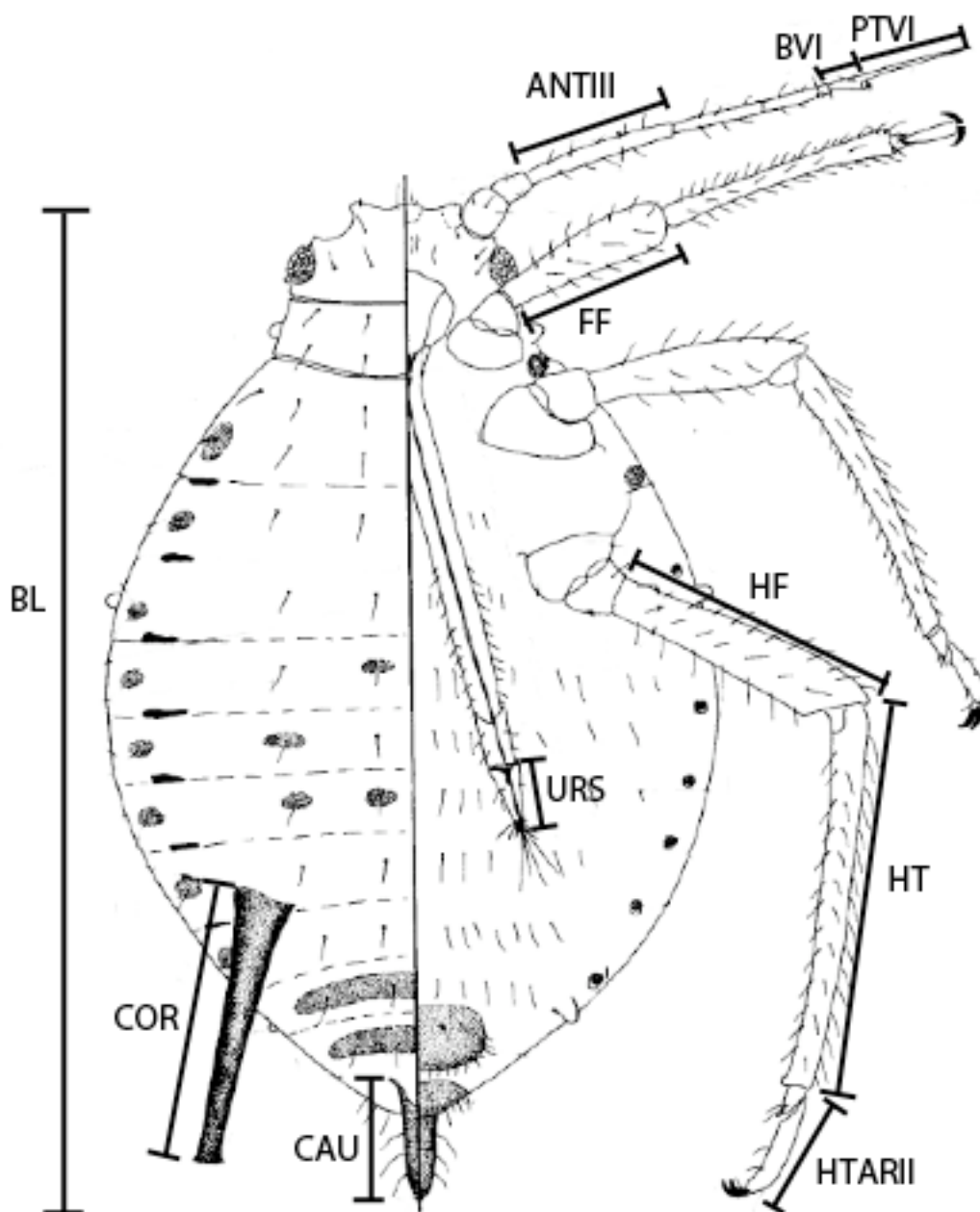
**Anexo 2.** Proceso de siembra sucesiva de las plantas hospedadas. Las diferencias de tamaño y color en los dibujos reflejan la diferencia de edad de las plantas debido al lapso de tiempo entre la siembra de cada generación. Se sembró varias semillas al mismo tiempo para asegurar un stock de plantas.



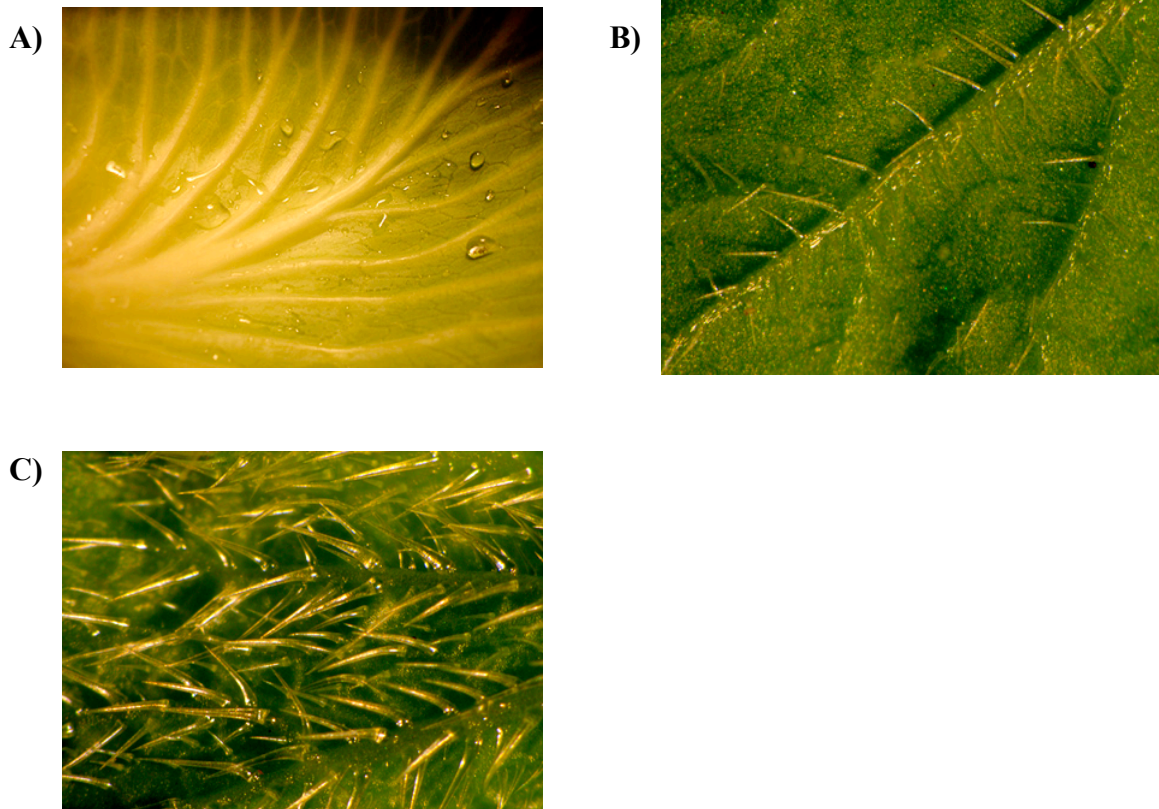
**Anexo 3.** Métodos utilizados para cría y manipulación de plantas y áfidos **a)** cría de generaciones sucesivas de rábano, **b)** cajas acrílicas de 40x40cm para los ensayos de cruces recíprocos, **c)** planta hospedera sembrada en un vaso plástico de 16 oz., **d)** áfido preparado y montado en placa para microscopio, **e)** áfido con crías y el pincel con el que se retiraban cada día en el conteo de fecundidad. Fotos: Paula Terán O.



**Anexo 4.** Descripción gráfica del diseño experimental empleado para llevar a cabo el ensayo de cruces recíprocos.



**Anexo 5.** Medidas tomadas de los áfidos. Modificado de Blackman & Eastop (2004). BL= Longitud corporal, ANTI= tercer segmento antenal, BVI= base del sexto segmento antenal, PTVI= proceso terminal del sexto segmento antenal, URS= último segmento rostral, HF= fémur posterior, HT= tibia posterior, HTARII= segundo segmento tarsal posterior, FF= fémur anterior, COR= cornícula, CAU= cauda.



**Anexo 6.** Superficie de las hojas de las tres plantas hospederas. **A)** col (*Brassica oleracea*), **B)** mostaza (*Brassica nigra*) y **C)** rábano (*Raphanus sativus*).  
Fotos: Paula Terán O.

**Anexo 7.** Promedios de las variables que más aportaron a las dos funciones discriminantes. La primera letra indica la planta recipiente y la segunda letra la planta de origen. M= mostaza, C= col, R= rábano

Comparación	Tratamientos	Residuos						
		BL	LOG BL	HF	HT	FF	CAU	BVI
Todos los tratamientos	MM	2.68	0.429	0.009	0.010	-	-	-
	MC	2.90	0.463	-0.010	-0.011	-	-	-
	MR	2.83	0.451	-0.001	-0.004	-	-	-
	CM	2.64	0.421	-0.005	-0.004	-	-	-
	CC	2.71	0.432	-0.004	0.002	-	-	-
	CR	2.76	0.441	-0.004	-0.007	-	-	-
	RM	2.49	0.396	-0.006	-0.002	-	-	-
	RC	2.68	0.429	0.007	0.010	-	-	-
	RR	2.74	0.437	0.015	0.011	-	-	-
Recipientes	MM, MC, MR	2.80	0.447	-0.001	-	-	-	-
	CM, CC, CR	2.70	0.431	-0.004	-	-	-	-
	RM, RC, RR	2.64	0.423	0.006	-	-	-	-
Recipiente col	CM	2.64	0.421	-	-0.004	-	-0.018	-
	CC	2.71	0.432	-	0.002	-	0.009	-
	CR	2.76	0.441	-	-0.007	-	-0.003	-
Recipiente mostaza	MM	2.68	0.429	0.009	-	0.023	-0.007	-
	MC	2.90	0.463	-0.010	-	-0.014	-0.005	-
	MR	2.83	0.451	-0.001	-	-0.004	0.006	-
Recipiente rábano	RM	2.49	0.396	-	-	-	-	-0.004
	RC	2.68	0.429	-	-	-	-	0.009
	RR	2.74	0.437	-	-	-	-	-0.003
Orígenes	MM, CM, RM	2.60	0.417	0.000	-	-	-	-
	MC, CC, RC	2.76	0.440	-0.002	-	-	-	-
	MR, CR, RR	2.77	0.443	0.003	-	-	-	-
Origen col	MC	2.90	0.463	-0.010	-	-	-	-
	CC	2.71	0.432	-0.004	-	-	-	-
	RC	2.68	0.429	0.007	-	-	-	-
Origen mostaza	MM	2.68	0.429	0.009	0.010	0.023	-	-
	CM	2.64	0.421	-0.005	-0.004	0.003	-	-
	RM	2.49	0.396	-0.006	-0.002	0.002	-	-
Origen rábano	MR	2.83	0.451	-0.001	-0.004	-	-	-
	CR	2.76	0.441	-0.004	-0.007	-	-	-
	RR	2.74	0.437	0.015	0.011	-	-	-

