



TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE DESARROLLO DE LAS CIENCIAS BÁSICAS

**INTERACCIÓN PLANTA-INSECTO:
RESISTENCIA DIFERENCIAL A LA HERBIVORÍA EN DOS ESPECIES DE *SOLANUM* Y
SU RELACIÓN CON LA PREFERENCIA Y PERFORMANCE DE HERBÍVOROS
GENERALISTAS Y ESPECIALISTAS**

MSc. Paula Altesor
Laboratorio de Ecología Química
Facultad de Química
Universidad de la República

Montevideo, Uruguay
Julio de 2016

ORIENTADOR

Dr. Andrés González

Laboratorio de Ecología Química
Facultad de Química
Universidad de la República

CO-ORIENTADORES

Dr. Martín Oesterheld

IFEVA-Cátedra de Ecología
Facultad de Agronomía
Universidad de Buenos Aires

Dra. Roxina Soler

Department of Terrestrial Ecology
Netherlands Institute of Ecology
Wageningen

TRIBUNAL

Dr. Fernando Ferreira

Departamento de Química Orgánica
Facultad de Química
Universidad de la República

Dra. Patricia González Vainer

Sección Entomología
Facultad de Ciencias
Universidad de la República

Dr. Martín Pareja

Departamento de Biología Animal
Instituto de Biología
Universidad Estadual de Campinas

AGRADECIMIENTOS A:

Tutores: Andrés González, Martín Oesterheld, Roxina Soler.

Tribunal de tesis: Martín Pareja, Patricia González y Fernando Ferreira.

Financadoras y Programa de posgrado: ANII, CAP, CSIC, PEDECIBA Biología.

Compañeros del Laboratorio de Ecología Química y allegados: Lucía, María Laura, Belén, Guille, Hernán, Vicky, Vale, Vero, Marti, Emilio, Flor, Vicky Finozzi, Diana, Anna, Maru, Fede, Carmen, Jeremy. Por todo el calor humano.

Estudiantes: Álvaro García, Elizabeth Font.

Apoyo técnico y logístico en INIA-Las Brujas: Paco Vilaró, Alicia Castillo, Roberto Zoppolo, Felipe García, Juan José Villamil, Richard, Robert, Varinia, Alberto, y muy especialmente a Adilsia, Natalia y Marlene (apoyo en invernáculos y material in vitro).

Asistencia entomológica: Roberto Carballo (áfidos), Juan José Martínez (parasitoides), Horacio Silva (hiperparasitoide), Nora Cabrera (Epitrix), Stefan Schmidt (avispa sierra), Beatriz Scatoni y Carlos Bentancourt (insectos en general), Martín Bollazzi (hormigas).

Apoyo técnico en HPLC-MS Pando: Alejandra Rodríguez, Rafael González.

Asistencia botánica en FQ: Eduardo Alonso (tricomas).

Acceso a su campo orgánico para colecta de insectos: César Vega.

Prueba con arañas en IIBCE: Fernando Costa, María José Albo, Laura Montes de Oca.

Servicio del Analizador Elemental-FQ: Lucía Otero.

Compañeros de la Unidad de Entomología, Facultad de Agronomía.

Familia y amigos: a mi madre, Alice, José, Lu, Ceci, Gaby, Fabi, Agus, Sonia, Fernando. Por todo.

ÍNDICE

RESUMEN	5
Introducción General	7
<i>Referencias</i>	12
CAPÍTULO I. Glicoalcaloides de la papa cultivada y de una especie silvestre emparentada: efecto en insectos herbívoros generalistas y especialistas.	17
<i>Introducción</i>	18
<i>Materiales y Métodos</i>	20
<i>Resultados</i>	26
<i>Discusión</i>	35
<i>Referencias</i>	40
CAPÍTULO II. Preferencia y performance de una avispa sierra especialista en plantas congéneres con distintos niveles de resistencia a la herbivoría	46
<i>Introducción</i>	47
<i>Materiales y Métodos</i>	50
<i>Resultados</i>	54
<i>Discusión</i>	57
<i>Referencias</i>	60
CAPÍTULO III. Preferencia y performance de áfidos generalistas en plantas congéneres con distintos niveles de resistencia a la herbivoría	65
<i>Introducción</i>	66
<i>Materiales y Métodos</i>	70
<i>Resultados</i>	75
<i>Discusión</i>	81
<i>Referencias</i>	86
Discusión General y Perspectivas	93
<i>Referencias</i>	98
ANEXO	101

RESUMEN

El estudio de las interacciones antagonistas planta-insecto puede ser enfocado desde la óptica de la planta y sus mecanismos de defensa, o desde la perspectiva del insecto y sus estrategias de alimentación. A lo largo de la evolución, las presiones de selección impuestas por los insectos, taxón más diverso dentro de los organismos que atacan a las plantas, han diversificado las estrategias defensivas de las plantas y a su vez, estas nuevas estrategias han conducido a la diversificación de contra-adaptaciones en los herbívoros atacantes. En el caso de las plantas cultivadas, los procesos de domesticación han reducido su capacidad defensiva producto de una selección enfocada al incremento productivo. Por este motivo, en comparación con especies silvestres emparentadas, se espera que las especies cultivadas sean más susceptibles a la herbivoría. En particular, se espera que la susceptibilidad diferencial de plantas cultivadas y silvestres se asocie con la amplitud de dieta de los insectos. Esto se explicaría por los diferentes mecanismos que generalistas y especialistas tienen para hacer frente a las defensas de las plantas. Por otra parte, la ventaja que otorga a los generalistas el acceso a una mayor cantidad y diversidad de recursos puede verse opacada por una mayor dificultad para discriminar entre hospederos, ya que tienen que procesar una mayor cantidad de estímulos provenientes de la mayor diversidad de plantas que consumen. Por este motivo, se espera que los generalistas tengan una menor correlación entre la preferencia de oviposición y la performance de la descendencia, en comparación con los especialistas, que poseen un rango menor de hospederos.

En base a lo mencionado anteriormente, utilizando como modelos a la especie cultivada *Solanum tuberosum* y su congénere silvestre *S. commersonii*, los objetivos generales de este trabajo fueron, por un lado, correlacionar el efecto de la domesticación con las defensas de las plantas y la resistencia a herbívoros generalistas y especialistas, y por otro, correlacionar la preferencia de oviposición y la performance de la descendencia en herbívoros especialistas y generalistas asociados al género *Solanum*. Para ello, se comparó la diversidad y abundancia de herbívoros en *S. tuberosum* y *S. commersonii* en ensayos de campo y de laboratorio y se evaluó el efecto de la domesticación en dos de los principales caracteres defensivos de las *Solanum*, el

contenido de glicolacaloides y la densidad de tricomas. Asimismo, se evaluó la capacidad de dos especies generalistas y una especialista de discriminar entre estas plantas hospederas para dejar descendencia, lo que se correlacionó con la performance de la progenie. Los resultados obtenidos fueron que la especie cultivada fue más susceptible a la herbivoría de insectos con mayor amplitud de dieta, mientras que la especie silvestre fue más susceptible al insecto con dieta más restringida. Además, los glicoalcaloides de la papa silvestre *S. commersonii*, presentes en mayor concentración y diversidad que en la papa cultivada *S. tuberosum*, explicaron, al menos en parte, la deterrencia de un generalista y la preferencia de un especialista por esta especie. Además de una mayor capacidad defensiva a través de glicoalcaloides, la especie silvestre *S. commersonii* tuvo una mayor densidad de tricomas simples y glandulares. En cuanto a la capacidad de elegir entre hospederos para dejar descendencia, el herbívoro generalista no discriminó entre las dos *Solanum*, a pesar de que en *S. commersonii* su performance fue muy pobre. Por el contrario, el herbívoro especialista ovipuso exclusivamente en la papa silvestre, donde la performance de su descendencia fue mejor.

Los resultados obtenidos aportan a la comprensión de un aspecto complejo de las interacciones planta-insecto: el rol diferencial de las defensas de plantas contra herbívoros cuando éstos presentan diferente amplitud de dieta, y su efecto en las preferencias y performance de estos herbívoros. Asimismo, el estudio de la interacción planta-insecto desde un abordaje comparativo puede proporcionar herramientas para el diseño de sistemas de producción sostenible, y constituye un excelente acercamiento para abordar preguntas generales sobre la ecología de estos dos grupos de organismos, posiblemente los más importantes en ecosistemas terrestres.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las plantas son atacadas por un sinnúmero de especies, desde microorganismos hasta mamíferos. El grupo más diverso dentro de los taxones atacantes son los insectos, con poco más de un millón de especies descritas, de las cuales aproximadamente la mitad se alimenta de plantas (Gullan & Cranston, 2014). Sin embargo, las plantas distan de ser víctimas pasivas de sus atacantes, ya que poseen múltiples formas de resistencia. Estas se pueden clasificar como resistencia morfológica, química, nutricional y tolerancia o escape a la herbivoría en el espacio o en el tiempo (Schoonhoven et al., 2005).

La resistencia morfológica consiste principalmente en la presencia de ganchos, espinas, tricomas, ceras epicuticulares y dureza de las hojas. La resistencia química comprende la producción de sustancias químicas, fundamentalmente metabolitos secundarios, que pueden resultar tóxicos, *deterrentes* —compuestos disuasivos que actúan por contacto— o repelentes para los insectos. Pueden encontrarse independientemente del daño (compuestos constitutivos), e incrementarse o inducirse la producción de nuevos compuestos a partir de la herbivoría. Un tipo particular es la resistencia indirecta, en la cual la planta produce sustancias, ya sea de forma constitutiva o inducida, que resultan atractivas para los enemigos naturales de los herbívoros (depredadores y parasitoides), siendo éstos quienes defienden a la planta del ataque de los herbívoros. Por su parte, la resistencia nutricional refiere a la producción de niveles bajos de nutrientes, fundamentalmente nitrógeno, y de agua —que no es estrictamente un nutriente— así como niveles altos de compuestos que reducen la digestibilidad (como lignina y sílice). La tolerancia implica una mayor capacidad de recuperarse frente al daño, por ejemplo a través de una mayor tasa de fotosíntesis y crecimiento. Por último, el escape en el espacio o en el tiempo refiere a plantas que resultan poco aparentes, tienen gran capacidad de dispersión o germinación y/o crecimiento rápido o impredecible (Schoonhoven et al., 2005; Agrawal & Fishbein, 2006; Dicke, 2009). En su defensa, las plantas típicamente utilizan una combinación de estas estrategias defensivas, más que estrategias aisladas (Agrawal & Fishbein, 2006).

Del otro lado de la interacción, los insectos que atacan a las plantas han desarrollado adaptaciones a lo largo de su evolución para hacer frente a sus distintas fuentes de resistencia. Estas adaptaciones se pueden clasificar en morfológicas, fisiológicas o comportamentales. Entre las morfológicas se encuentra el desarrollo de mandíbulas u ovipositor más potente que les posibilita atravesar tejidos endurecidos, así como adaptaciones en los tarsos para desplazarse por la superficie de hojas muy cerosas o con abundancia de tricomas. Las adaptaciones fisiológicas comprenden la evitación de las toxinas, por ejemplo a través de la impermeabilización del tubo digestivo, siendo excretadas tal cual fueron ingeridas; la inactivación de la inducción defensiva, mediante compuestos presentes en la saliva de los insectos; la detoxificación, que conlleva la modificación de las toxinas a moléculas inertes; la tolerancia, en la que ocurren, por ejemplo, modificaciones en el sitio blanco donde actúan las toxinas, por lo que dejan de ser efectivas. Una adaptación fisiológica particularmente interesante es el secuestro, el cual involucra la utilización de las toxinas para beneficio del insecto, fundamentalmente como defensa, pudiendo ser incorporadas en estructuras externas o en forma sistémica, y utilizadas con o sin transformaciones químicas por parte del insecto. Por su parte, entre las adaptaciones comportamentales se encuentra el consumo de tejidos que presentan menores niveles de resistencia, así como el aislamiento de compuestos defensivos a partir de cortar y dejar drenar las nervaduras de las hojas, por ejemplo en plantas productoras de látex (Schoonhoven et al., 2005; Schowalter, 2006; Opitz & Müller, 2009).

En general las adaptaciones de los insectos frente a las defensas de las plantas están relacionadas con su amplitud de dieta. Los generalistas o polípagos consumen una gran diversidad de plantas provenientes de distintas familias, mientras que los especialistas oligófagos se alimentan de plantas de una misma familia y los monófagos de plantas de un mismo género (Schoonhoven et al., 2005). Los herbívoros están enfrentados a una elección evolutiva que consiste en maximizar el rango de recursos explotados (generalistas), o maximizar la eficiencia de explotar un recurso particular (especialistas). Los generalistas maximizan el rango de recursos explotados a través de, por ejemplo, mecanismos de detoxificación o evitación generalizados, sacrificando la eficiencia de explotar un recurso particular. Por su parte, los especialistas maximizan la eficiencia de explotar un recurso particular a través de, por

ejemplo, estrategias más específicas de detoxificación o evitación, sacrificando la habilidad de alimentarse de otras especies con compuestos defensivos diferentes (Schowalter, 2006).

Al parecer, las estrategias de los especialistas serían más exitosas evolutivamente, ya que sólo el 10 % de los herbívoros es generalista (Bernays & Graham, 1988). Entre las desventajas de una amplitud de dieta mayor, destacaría la menor eficiencia en la elección de hospedero, ya sea por elegir hospederos inadecuados o por destinar más tiempo a la elección. Esto tendría consecuencias negativas para la performance, al consumir plantas que pueden resultar tóxicas o con pocos nutrientes, y también implicaría una mayor exposición a enemigos naturales, por dedicar más tiempo a la elección de hospederos (Bernays & Graham, 1988; Bernays, 1998, 2001; Bernays & Funk, 1999; Janz, 2003).

Esta menor eficiencia de los generalistas se explicaría mediante la hipótesis de restricción neuronal, la cual plantea que si el procesamiento de información compleja es un problema para los insectos debido a su limitada capacidad neuronal, los generalistas van a tener más dificultades que los especialistas para seleccionar un hospedero apropiado, ya que tienen que evaluar un mayor número de características de las plantas en una diversidad de plantas mayor (Levins & MacArthur, 1969; Bernays, 1998). Estas características a evaluar serían tanto defensivas como nutricionales, mientras que los especialistas evaluarían sólo la presencia de unas pocas características específicas de sus plantas hospederas, como son los metabolitos secundarios (Bernays & Chapman, 1994; Renwick & Chew, 1994; Honda, 1995; Bernays, 1998; Schoonhoven et al., 2005). Por este motivo, no se esperaría para los generalistas una correlación positiva entre la preferencia de oviposición de las hembras y la *performance* —desarrollo, supervivencia y reproducción— de la descendencia en las plantas preferidas para oviponer, correlación que sí se esperaría encontrar en especialistas.

Dadas las distintas adaptaciones de generalistas y especialistas frente a las defensas desarrolladas por las plantas, la distribución de estos herbívoros puede variar en relación a si son cultivadas o silvestres. Esto puede explicarse porque en los procesos de domesticación de las plantas cultivadas suele ocurrir un proceso de re-direccionamiento energético hacia el desarrollo de estructuras productivas (como hojas, flores y semillas) en desmedro de la

asignación de recursos a defensa (Bazzaz et al., 1987; Herms & Mattson, 1992). Asimismo, puede ocurrir un proceso selectivo dirigido a la eliminación de toxinas para obtener variedades aptas para el consumo humano (Bautista et al., 2012). En cambio, las plantas emparentadas silvestres están sujetas a procesos de selección natural y por lo tanto suelen presentar mayor capacidad defensiva que sus parientes cultivadas (Rosenthal & Dirzo, 1997; Gepts, 2004).

Siendo que en general no se encuentran poblaciones silvestres de especies cultivadas, producto de su selección y modificación artificial a lo largo del tiempo, los efectos de la domesticación sobre las estrategias defensivas de plantas pueden estudiarse mediante la comparación entre especies cultivadas y especies silvestres cercanamente emparentadas. En ese sentido, la papa es un buen modelo de estudio, ya que la especie que se cultiva mundialmente, *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae) (Fig. 1A), es originaria de Sudamérica, y en Uruguay coexiste con la papa silvestre, *S. commersonii* Dunal (Spooner & Hijmans, 2001) (Fig. 1B). Por lo tanto, es un sistema interesante para evaluar el efecto de la domesticación sobre las estrategias defensivas, y cómo este proceso incide en la resistencia a la herbivoría, en particular frente a insectos generalistas y especialistas.

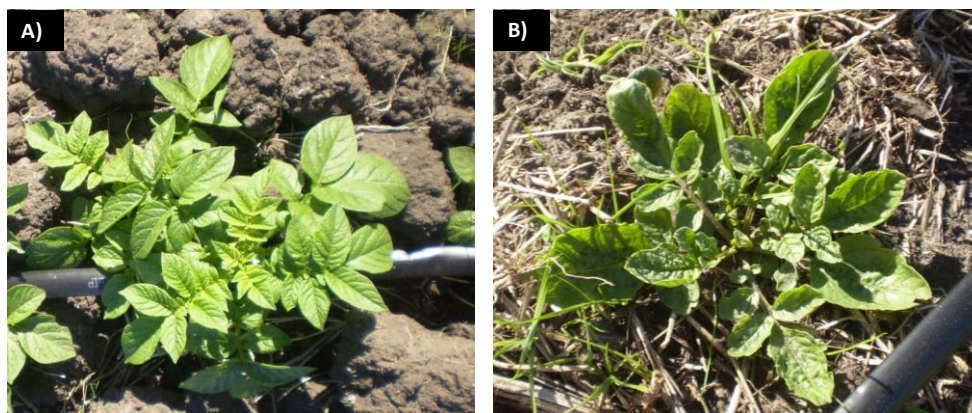


Figura 1 **A)** Papa cultivada *Solanum tuberosum* y **B)** Papa silvestre *Solanum commersonii*, ambas en fase de crecimiento vegetativo, previo a la floración.

Las fuentes principales de resistencia a la herbivoría en especies de *Solanum* formadoras de tubérculos son los glicoalcaloides y los tricomas (Pelletier et al., 2013). Los glicoalcaloides son metabolitos secundarios tóxicos con probada actividad frente a distintos herbívoros (Tingey, 1984; Flanders et al., 1992; Guntner et al., 1997, 2000; Fragoyiannis et al., 1998; Kowalski et al.,

1999; Rangarajan et al., 2000; Yencho et al., 2000; Lorenzen et al., 2001; Friedman, 2002; Mulatu et al., 2006; Jansky et al., 2009; Nenaah, 2011b; a). En la papa cultivada los glicoalcaloides están representados mayormente por dos compuestos conocidos como α -solanina y α -chaconina, los que difieren en la porción del azúcar trisacárido. La cantidad de estos compuestos se ha reducido por otorgar sabor amargo al tubérculo y ser tóxicos para el ser humano en concentraciones mayores a 200 mg/kg de peso fresco de tubérculo (Gregory et al., 1981; Gelder et al., 1988). Por su parte, *S. commersonii* produce fundamentalmente los glicoalcaloides tetrasacáridos tomatina, commersonina, demissina, dehidro-commersonina y dehidro-demissina (Vázquez et al., 1997) y su concentración varía desde 30 a 40000 mg/kg de peso fresco foliar en distintas poblaciones presentes en el país (Pianzola et al., 2005). En cuanto a los tricomas, tanto los simples como los glandulares tienen un efecto negativo, sobre todo en los insectos de menor tamaño (Tingey et al., 1981; Flanders et al., 1992; Vargas et al., 2005; Pelletier et al., 2013). En particular, los tricomas glandulares poseen compuestos que atrapan a los herbívoros, impidiendo su desplazamiento y alimentación, y por tanto provocándoles la muerte (Gibson, 1971; Ryan et al., 1982; Avé & Tingey, 1986; Yu et al., 1992; Kowalski et al., 1992; Pelletier et al., 2013). Hasta el momento no se ha evaluado en forma comparativa en la papa cultivada *S. tuberosum* y la silvestre *S. commersonii* estas fuentes de resistencia y su efecto contra herbívoros generalistas y especialistas.

En base a lo mencionado anteriormente, se utilizó como modelos a la especie silvestre *S. commersonii* y su congénere cultivada *S. tuberosum* para comparar las estrategias defensivas en plantas sujetas a diferentes procesos selectivos, su efecto frente a herbívoros generalistas y especialistas, y la capacidad de estos insectos de discriminar entre las dos *Solanum*, en relación con la performance de la progenie. Por tanto, los objetivos generales de este trabajo fueron (1) correlacionar el efecto de la domesticación con las defensas de las plantas y la resistencia a herbívoros generalistas y especialistas y (2) correlacionar la preferencia de oviposición y la performance de la descendencia en herbívoros especialistas y generalistas asociados al género *Solanum*.

Específicamente, en el capítulo I se estudió comparativamente la diversidad y abundancia de herbívoros en *S. tuberosum* y *S. commersonii* en un experimento de campo. Asimismo, se realizó una exploración causal de la distribución diferencial de los herbívoros en las dos especies de papa, para lo cual se evaluó el efecto de los glicoalcaloides de estas plantas en la preferencia de alimentación de los herbívoros más relevantes encontrados: los especialistas masticadores *Tequus schrottkyi* (Konow) (Hymenoptera: Pergidae) y *Epitrix argentinensis* Bryant (Coleoptera: Chrysomelidae) y los generalistas pico-suctores *Myzus persicae* (Sulzer) y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) (Altesor et al., 2014, ver Anexo). De los insectos mencionados, *T. schrottkyi* no había sido reportado para Uruguay, ni existía información de su biología incluyendo su planta hospedera, lo que fue recientemente reportado (Altesor et al., 2016, ver Anexo).

En relación a los resultados del Capítulo I, se profundizó en el estudio de la interacción planta-insecto en *Solanum*, desde la óptica del herbívoro. En particular, en el capítulo II se evaluó la correlación entre la preferencia de oviposición y la performance de los estados inmaduros del especialista monófago *T. schrottkyi* en las dos plantas de estudio, mientras que en el capítulo III se evaluó la correlación entre preferencia y performance de los áfidos generalistas *M. persicae* y *M. euphorbiae*. Además, se evaluó una posible asociación del contenido de glicoalcaloides, la densidad de tricomas simples y glandulares y la calidad nutricional de las hojas de ambas especies de *Solanum*, con la performance diferencial de estos herbívoros.

Cada capítulo de la tesis está redactado en formato artículo, por lo que constituye una unidad en sí misma y por tanto, puede contener información repetida en otras secciones de la tesis. El primer capítulo ya fue publicado (ver Anexo), mientras que el segundo y el tercero serán enviados a publicar en fecha posterior a la defensa.

Referencias

Agrawal AA & Fishbein M (2006) Plant defense syndromes. *Ecology* 87:S132–49.

Altesor P, García Á, Font E, Rodríguez-Haralambides A, Vilaró F, Oesterheld M, Soler R &

González A (2014) Glycoalkaloids of Wild and Cultivated *Solanum*: Effects on Specialist and

- Generalist Insect Herbivores. *Journal of Chemical Ecology* 40:599–608.
- Altesor P, González A & Schmidt S (2016) First report of *Tequus schrottkyi* (Konow) (Hymenoptera: Pergidae) in Uruguay, and information about its host plant and biology. *Biodiversity Data Journal* 4:e7538.
- Avé DA & Tingey WM (1986) Phenolic Constituents of Glandular Trichomes on *Solanum berthaultii* and *S. polyadenium*. *American Potato Journal* 63:473–480.
- Bautista A, Parra F & Espinosa-García F (2012) Efectos de la Domesticación de Plantas en la Diversidad Fitoquímica. *Temas Selectos en Ecología Química de Insectos*. (ed by JC Rojas & EA Malo) El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas, pp 253–267.
- Bazzaz FA, Chiariello NR, Coley PD & Pitelka LF (1987) Allocating Resource to Reproduction and Defense. *BioScience* 37:58–67.
- Bernays EA (1998) The value of being a resource specialist: behavioral support for a neural hypothesis. *The American naturalist* 151:451–464.
- Bernays EA (2001) Neural Limitations in Phytophagous Insects: Implications for Diet Breadth and Evolution of Host Affiliation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 46:703–727.
- Bernays EA & Chapman RF (1994) *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects*. Chapman & Hall, New York.
- Bernays E a. & Funk DJ (1999) Specialists make faster decisions than generalists: experiments with aphids. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 266:151–156.
- Bernays E & Graham M (1988) On the Evolution of Host Specificity in Phytophagous Arthropods Author. *Ecology* 69:886–892.
- Dicke M (2009) Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Plant, cell & environment* 32:654–65.
- Flanders KL, Hawkes JG, Radcliffe EB & Lauer FI (1992) Insect resistance in potatoes: sources, evolutionary relationships, morphological and chemical defenses, and ecogeographical associations. *Euphytica* 61:83–111.
- Fragoyiannis DA, Mckinlay RG & Mello JPDF (1998) Studies of the growth, development and reproductive performance of the aphid *Myzus persicae* on artificial diets containing potato

- glycoalkaloids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88:59–66.
- Friedman M (2002) Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. *Journal of agricultural and food chemistry* 50:5751–80.
- Gelder WMJ Van, Vinket JH & Scheffer JJC (1988) Steroidal glycoalkaloids in tubers and leaves of *Solanum* species used in potato breeding. *Euphytica* S:147–158.
- Gepts P (2004) Crop Domestication as a Long-term Selection Experiment. *Plant Breeding Reviews* 24:1–44.
- Gibson RW (1971) Glandular hairs providing resistance to aphids in certain wild potato species. *Annals of Applied Biology* 68:113–119.
- Gregory P, Sinden SL, Osman SF, Tingey WM & Chessin DA (1981) Glycoalkaloids of Wild, Tuber-Bearing *Solanum* Species. *Journal of agricultural and food chemistry* 29:1212–1215.
- Gullan PJ & Cranston PS (2014) *The Insects. An outline of Entomology*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Guntner C, Gonzalez A, Dos Reis R, Gonzalez G, Vazquez A, Ferreira F & Moyna P (1997) Effect of *Solanum* Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *Journal of chemical ecology* 23:1651–1659.
- Guntner C, Vázquez A, González G, Usubillaga A, Ferreira F & Moyna P (2000) Effect of *Solanum* Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*: Part II. *Journal of Chemical Ecology* 26:1113–1121.
- Herms D a. & Mattson WJ (1992) The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. *The Quarterly Review of Biology* 67:283–335.
- Honda K (1995) Chemical Basis of Differential Oviposition by Lepidopterous Insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 30:1–23.
- Jansky SH, Simon R & Spooner DM (2009) A Test of Taxonomic Predictivity: Resistance to the Colorado Potato Beetle in Wild Relatives of Cultivated Potato. *Journal of Economic Entomology* 102:422–431.
- Janz N (2003) The cost of polyphagy: oviposition decision time vs error rate in a butterfly. *Oikos* 100:493–496.
- Kowalski SP, Domek JM, Deahl KL & Sanford LL (1999) Performance of Colorado Potato Beetle Larvae, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), Reared on Synthetic Diets Supplemented

- with Solanum Glycoalkaloids. *American Journal of Potato Research* 76:305–312.
- Kowalski SP, Eannetta NT, Hirzel a T & Steffens JC (1992) Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase from Glandular Trichomes of *Solanum berthaultii*. *Plant physiology* 100:677–84.
- Levins R & MacArthur R (1969) An Hypothesis to Explain the Incidence of Monophagy. *Ecology* 50:910–911.
- Lorenzen JH, Balbyshev NF, Lafta AM, Tian X, Sagredo B & Casper H (2001) Resistant Potato Selections Contain Leptine and Inhibit Development of the Colorado Potato Beetle (Coleoptera : Chrysomelidae) Resistant Potato Selections Contain Leptine and Inhibit Development of the Colorado Potato Beetle (Coleoptera : Chrysomelidae.
- Mulatu B, Applebaum SW, Kerem Z & Coll M (2006) Tomato fruit size, maturity and α -tomatine content influence the performance of larvae of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bulletin of Entomological Research* 96:173–178.
- Nenaah G (2011a) Individual and synergistic toxicity of solanaceous glycoalkaloids against two coleopteran stored-product insects. *Journal of Pest Science* 84:77–86.
- Nenaah GE (2011b) Toxic and antifeedant activities of potato glycoalkaloids against *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research* 47:185–190.
- Opitz SEW & Müller C (2009) Plant chemistry and insect sequestration. *Chemoecology* 19:117–154.
- Pelletier Y, Horgan FG & Pompon J (2013) Potato Resistance Against Insect Herbivores: Resources and Opportunities. *Insect Pests of Potato*. (ed by Alyokhin, Vincent & Giordanengo) 1st edn. Academic Press, Inc., pp 439–462.
- Pianzola MJ, Zarantonelli L, González G, Franco Fraguas L & Vázquez A (2005) Genetic, phytochemical and biochemical analyses as tools for biodiversity evaluation of wild accessions of *Solanum commersonii*. *Biochemical Systematics and Ecology* 33:67–78.
- Rangarajan A, Miller AR & Veilleux RE (2000) Leptine glycoalkaloids reduce feeding by Colorado potato beetle in diploid *Solanum* sp. hybrids. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125:689–693.

- Renwick JAA & Chew FS (1994) Oviposition Behavior in Lepidoptera. Annual Review of Entomology 39:377–400.
- Rosenthal JP & Dirzo R (1997) Effects of life history, domestication and agronomic selection on plant defence against insects: Evidence from maizes and wild relatives. Evolutionary Ecology 11:337–355.
- Ryan JD, Gregory P & Tingey WM (1982) Phenolic oxidase activities in glandular trichomes of *Solanum berthaultii*. Phytochemistry 21:1885–1887.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA & Dicke M (2005) Insect-Plant Biology. Oxford University Press.
- Schowalter TD (2006) Insect Ecology: An Ecosystem Approach. Academic Press, Elsevier, California.
- Spooner DM & Hijmans RJ (2001) Potato Systematics and Germplasm Collecting, 1989-2000. American Journal of Potato Research 78:237–268.
- Tingey WM (1984) Glycoalkaloids as pest resistance factors. American Potato Journal 61:157–167.
- Tingey WM, Mehlenbacher SA & Laubengayer JE (1981) Occurrence of glandular trichomes in wild *Solanum* species. American Potato Journal 58:81–83.
- Vargas RR, Troncoso AJ, Tapia DH, Olivares-Donoso R & Niemeyer HM (2005) Behavioural differences during host selection between alate virginoparae of generalist and tobacco-specialist *Myzus persicae*. Entomologia Experimentalis et Applicata 116:43–53.
- Vázquez A, González G, Ferreira F, Moyna P & Kenne L (1997) Glycoalkaloids of *Solanum commersonii* Dun. ex Poir. Euphytica 95:195–201.
- Yencho GC, Kowalski SP, Kennedy GG & Sanford LL (2000) Segregation of leptine glycoalkaloids and resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) in F2 *Solanum tuberosum* (4x) x *S. chacoense* (4x) Potato progenies. American Journal of Potato Research 77:167–178.
- Yu H, Kowalski SP & Steffens JC (1992) Comparison of Polyphenol Oxidase Expression in Glandular Trichomes of *Solanum* and *Lycopersicon* Species. Plant physiology 100:1885–1890.

CAPÍTULO I. GLICOALCALOIDES DE LA PAPA CULTIVADA Y DE UNA ESPECIE SILVESTRE EMPARENTADA: EFECTO EN INSECTOS HERBÍVOROS GENERALISTAS Y ESPECIALISTAS.

Introducción

Los procesos de domesticación de las plantas cultivadas han implicado largos períodos de cruza selectiva para obtener variedades mejoradas. Como consecuencia, la resistencia a la herbivoría se ha visto afectada, ya que en gran medida las mejoras han significado una mayor asignación de recursos al crecimiento de partes comestibles y tejido fotosintético, en detrimento de la asignación de recursos a defensa (Bazzaz et al., 1987; Herms & Mattson, 1992; Rosenthal & Dirzo, 1997). De forma directa también se han seleccionado variedades con niveles reducidos de metabolitos secundarios defensivos por su potencial toxicidad para el ser humano (Gepts, 2004; Bautista et al., 2012). De esta manera, las plantas cultivadas serían más susceptibles a la herbivoría que variedades o especies silvestres relacionadas, lo que ha sido evaluado en algunos trabajos (Small, 1996; Rosenthal & Dirzo, 1997; Cole, 1997; Masei & Hartley, 2000; Wise et al., 2001; Poelman et al., 2008; Gols, Bukovinszky, et al., 2008; Gols, Wagenaar, et al., 2008; Bellota et al., 2013; Dávila-Flores et al., 2013). Sin embargo, sólo en unos pocos se ha evaluado simultáneamente la resistencia a la herbivoría de plantas cultivadas y silvestres emparentadas, su fuente de resistencia y la relación causal entre estos dos factores (Cole, 1997; Poelman et al., 2008; Gols, Bukovinszky, et al., 2008; Gols, Wagenaar, et al., 2008).

La resistencia de las plantas a la herbivoría ha constituido a lo largo de la evolución una presión de selección que ha motivado el desarrollo de contra-adaptaciones en los insectos, y el rango alimenticio que poseen es parte importante de dichas adaptaciones. Los generalistas o polívoros comprenden a insectos que se alimentan de plantas de distinta familia, mientras que los especialistas a insectos que se alimentan de plantas dentro de una familia (oligófagos) o un género (monófagos) (Schoonhoven et al., 2005). Los especialistas están adaptados a los metabolitos secundarios tóxicos de sus plantas hospedadoras a través de estrategias que incluyen la evitación, detoxificación o tolerancia a estos compuestos, llegando incluso a utilizarlos en su propia defensa o como parte de la comunicación sexual, mientras que los generalistas poseen mecanismos de detoxificación o evitación generalizados, perdiendo capacidad de explotar un recurso particular (Schowalter, 2006; Opitz & Müller, 2009; Ali & Agrawal, 2012). La especialización constituye la regla más que la excepción, comprendiendo los generalistas

menos del 10 % de los insectos herbívoros (Bernays & Graham, 1988). Por tanto, las plantas que poseen defensas químicas, si bien estarían protegidas contra insectos generalistas, tendrían un alto riesgo de ser atacadas por especialistas adaptados a sus metabolitos secundarios. Por el contrario, las especies domesticadas tendrían un alto riesgo de ser atacadas por herbívoros generalistas si producen una menor cantidad o diversidad de compuestos defensivos. Por tanto, la comparación entre la capacidad defensiva de plantas cultivadas y variedades o especies silvestres emparentadas debería incorporar como un factor relevante el grado de especialización de los insectos involucrados.

El género *Solanum* (Solanaceae) se caracteriza por la producción de glicoalcaloides esteroidales (Eich, 2008). Químicamente estos metabolitos secundarios poseen características estructurales y electrónicas interesantes como resultado de combinar un esqueleto esteroide rígido, un nitrógeno heterocíclico básico y una región polar azucarada. Biológicamente, los glicoalcaloides se han asociado con la resistencia de la planta frente a insectos (Tingey, 1984; Flanders et al., 1992; Guntner et al., 1997, 2000; Fragoyiannis et al., 1998; Kowalski et al., 1999; Rangarajan et al., 2000; Yencho et al., 2000; Lorenzen et al., 2001; Friedman, 2002; Mulatu et al., 2006; Jansky et al., 2009; Nenaah, 2011b; a). En la papa cultivada, *S. tuberosum*, los niveles de estos compuestos se han reducido por otorgar sabor amargo al tubérculo y ser tóxicos para el ser humano en concentraciones mayores a 200 mg/kg de peso fresco de tubérculo (Gregory et al., 1981; Gelder et al., 1988). Los glicoalcaloides principales de *S. tuberosum* son α -solanina y α -chaconina, representando en general más del 95 % de los glicoalcaloides de la planta (Friedman et al., 1997). Estos compuestos comparten la aglicona esteroide solanidina, y se diferencian en la porción del azúcar trisacárido. Por su parte, diversas especies silvestres de *Solanum*, que crecen desde el suroeste de Norteamérica hasta el sur de Sudamérica (Hijmans & Spooner, 2001), también se han estudiado para la caracterización de sus glicoalcaloides (Eich, 2008). En particular, *S. commersonii*, cuyo centro de distribución está en Uruguay (Spooner & Hijmans, 2001), produce fundamentalmente los glicoalcaloides tetrasacáridos tomatina, commersonina, demissina, dehidro-commersonina y dehidro-demissina (Vázquez et al., 1997). Distintas poblaciones de *S. commersonii* muestran gran variabilidad en la diversidad y concentración de estos compuestos (desde 30 a 40000 mg/kg de biomasa foliar fresca) (Pianzola et al., 2005).

Mientras que *S. commersonii* ha sido estudiada por su resistencia a patógenos (Siri et al., 2004, 2008) y se analizó el efecto de algunos de sus glicoalcaloides frente al áfido de la papa *Macrosiphum euphorbiae* (Aphididae) (Guntner et al., 1997, 2000), no se ha evaluado la resistencia a la herbivoría de la planta entera en condiciones naturales ni el rol del conjunto de sus glicoalcaloides en dicha resistencia en comparación con la congénere cultivada.

Utilizando como modelos a la especie silvestre *S. commersonii* y su congénere cultivada *S. tuberosum* el objetivo de este trabajo fue correlacionar el efecto de la domesticación con la diversidad y la abundancia de herbívoros generalistas y especialistas, la química defensiva de la planta y la preferencia de hospedero mediada por dichas defensas. Las hipótesis planteadas fueron que (1) los procesos de domesticación inciden en la resistencia de las plantas cultivadas a la herbivoría, debido a una mayor asignación de recursos a crecimiento, en desmedro de la asignación a defensa. Por tanto, se espera que la papa cultivada sea más atacada que la papa silvestre, y que los glicoalcaloides expliquen, al menos en parte, la resistencia diferencial de ambas *Solanum*. En particular, (2) la resistencia diferencial de plantas cultivadas y silvestres se relaciona con la amplitud de dieta de los herbívoros, debido a que los insectos generalistas y especialistas poseen diferentes mecanismos para sortear la resistencia de las plantas. Por tanto, se espera que la papa cultivada tenga una mayor presencia de generalistas mientras que la silvestre una mayor presencia de especialistas. Para evaluar estas predicciones se registró la diversidad y abundancia de herbívoros en *S. tuberosum* y *S. commersonii* en un experimento de campo, se caracterizaron y cuantificaron los glicoalcaloides de ambas especies y se evaluó la preferencia de alimentación de los principales herbívoros generalistas y especialistas en relación a estos metabolitos secundarios.

Materiales y Métodos

Plantas e insectos

Se trabajó con clones de *S. commersonii* (accesión 05.02–6) y *S. tuberosum* (var. Iporá) obtenidos de un banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA-Las Brujas, Canelones, Uruguay). Las plantas se propagaron bajo flujo laminar a partir de cortes internodales de los tallos conteniendo una sola yema, y se mantuvieron *in vitro* por 15

días en medio con agar enriquecido en sales, vitaminas y sacarosa (Murashige & Skoog, 1962; Staba, 1969) y condiciones controladas de luz, temperatura y fotoperiodo (3000 lux, 21 ± 2 °C; 16:8 h L:O). Una vez alcanzados los cuatro nodos, se transfirieron a almaciguera con tierra y se mantuvieron en invernáculo por 15 días. Al cabo de ese tiempo fueron trasplantadas a tierra para el experimento de campo o se transfirieron a recipientes plásticos de mayor tamaño (6 x 7 cm, diámetro y altura) y se mantuvieron en el invernáculo por 15 días adicionales antes de utilizarlos en los experimentos de laboratorio, la extracción de glicoalcaloides o para el mantenimiento de los insectos. De esta forma, las plantas se utilizaron en su fase vegetativa previo a la floración.

Los áfidos (Hemiptera: Aphididae) fueron obtenidos de campo en el sur de Uruguay *Myzus persicae* sobre un cultivo de papa (*S. tuberosum*) y *Macrosiphum euphorbiae* sobre tomate (*Lycopersicon esculentum*). En laboratorio *M. persicae* se mantuvo sobre plantas de morrón (*Capsicum annuum*) y *M. euphorbiae* sobre *S. tuberosum* y *S. commersonii* (clones descritos anteriormente), en una incubadora bajo condiciones controladas (19 ± 1 °C, 60 ± 10 % HR, 14:10 h L:O). Las larvas de *Tequus schrottkyi* (Hymenoptera: Pergidae) y los adultos de *Epitrix argentinensis* (Coleoptera: Chrysomelidae) fueron utilizados a los pocos días de su colecta en campo sobre *S. commersonii* o *L. esculentum*, respectivamente. En laboratorio se mantuvieron bajo condiciones controladas (5000 lux, 23 ± 2 °C, 50 ± 10 % HR, 14:10 h L:O).

Experimento de campo

El experimento se llevó a cabo en un campo orgánico de la Estación Experimental de INIA-Las Brujas, entre febrero y junio de 2011. Para ello los clones de *S. tuberosum* y *S. commersonii* fueron trasplantados a tierra, en parcelas alternadas de cada especie (3 x 3 m cada parcela, 48 plantas por parcela) separadas entre sí por 3 m (7 parcelas de cada especie en total) (Fig. 1, izquierda). Para prevenir el crecimiento heterogéneo de malezas, alrededor de las parcelas se sembró avena (*Avena sativa*). La diversidad y abundancia de los herbívoros en *S. tuberosum* y *S. commersonii* fue comparada a partir de muestrear semanalmente durante 6 semanas consecutivas, los insectos presentes en la parte aérea de 3 plantas elegidas al azar dentro de cada parcela. El muestreo se realizó sin repetición, sobre un total de 126 plantas de cada

especie, y cubriendo todo el ciclo de la planta (crecimiento vegetativo, floración y tuberización), a partir de abril, cuando las plantas habían alcanzado un mayor tamaño (Fig. 1, derecha).



Figura 1. Izquierda: esquema de plantación de parcelas alternadas de cada especie de papa, *S. tuberosum* y *S. commersonii*, representadas por cuadrados de colores distintos. Derecha: Fotografía de las parcelas al inicio del muestreo, un par de meses después del trasplante, cuando las plantas habían alcanzado un mayor tamaño.

Para estimar el área foliar consumida, una vez finalizado el experimento se trasladaron al laboratorio 15 plantas de cada especie, seleccionadas al azar de todas las parcela. De cada planta se eliminaron hojas de forma alternada y se midió el área foliar restante. Para ello se escaneó la imagen obtenida a partir de extender cada hoja sobre un papel blanco, conteniendo un objeto de área conocida como referencia. La imagen digitalizada fue analizada a través del software ImageJ (v1.43, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). El área foliar completa (esperada sin herbivoría) fue estimada por reconstrucción de los márgenes faltantes y medición de las áreas internas. De esta forma, el área faltante, presumiblemente perdida por herbivoría, fue calculada y expresada en porcentaje. Todas las hojas de la planta (medidas o no) fueron posteriormente secadas en estufa a 50 °C hasta que su peso no varió. Con las hojas medidas y pesadas se calculó el área foliar específica (área foliar/biomasa seca), factor utilizado para estimar el área foliar de las restantes hojas de la planta. Estos cálculos indicaron que el $44 \pm 2 \%$ y el $43 \pm 3 \%$ del área foliar fue realmente medida para *S. tuberosum* y *S. commersonii*, respectivamente.

Ensayos de preferencia

Para comparar la resistencia a la herbivoría entre ambas especies de *Solanum* y evaluar el rol de sus glicoalcaloides, se realizaron ensayos de preferencia de alimentación de dos opciones. Los ensayos fueron realizados con los principales herbívoros encontrados en el experimento de campo: áfidos de *M. persicae* y *M. euphorbiae*, adultos del crisomélido *E. argentinensis* y larvas de la avispa sierra *T. schrottkyi*. Se cortaron dos discos de hojas (1.2 cm de diámetro) de plantas sanas y se colocaron sobre una capa de agar 2 %, en una placa de petri (6.1 cm de diámetro), ubicando los discos equidistantes del centro y los márgenes. Con cada herbívoro se realizaron dos experimentos, uno en el que se ofreció como opciones dos discos de hoja, uno de cada especie de *Solanum*, y el otro conteniendo dos discos de *S. tuberosum*, uno con la adición tópica de los glicoalcaloides extraídos de *S. commersonii*, y el otro actuando como control (con adición tópica del solvente del extracto) (Fig. 2). El extracto (0.8 µg/µl) fue añadido en 10 µl de MeOH para obtener una dosis de 8 µg, que corresponde con la cantidad promedio de glicoalcaloides en una masa equivalente a 1.2 cm de disco de hoja de *S. commersonii* (22 ± 1 mg, N = 10 discos de hoja; glicoalcaloides en *S. commersonii*: 0.36 ± 0.09 mg/g de peso fresco, N = 5 plantas).

La preferencia de los áfidos fue evaluada como el porcentaje de áfidos asentados en cada disco de hoja después de 24 h. Quince *M. persicae* o diez *M. euphorbiae* (adultos y ninfas de último estadio) fueron colocados en el centro de la placa de Petri utilizando un pincel fino humedecido, y posteriormente la placa se invirtió, debido a la preferencia de los áfidos a asentarse en el envés de las hojas. Las réplicas fueron consideradas válidas si más del 50 % de los áfidos se encontraba vivo después de 24 h, y si de éstos al menos la mitad estaba asentado en algún disco de hoja.

La preferencia de alimentación de adultos de *E. argentinensis* y larvas de *T. schrottkyi* (larvas de estadio 2 a 5) fue evaluada como el porcentaje de disco consumido (realizado visualmente y categorizado como 0, 25, 50, 75 y 100 %). Un adulto de *E. argentinensis* o una larva de *T. schrottkyi* fue colocada en el centro de la placa de Petri y se registró el porcentaje de área consumida cada 30 minutos por 3 h o hasta que el 100 % de uno de los discos hubiera sido

consumido. Debido a que *E. argentinensis* se alimentó más lento, se realizó una medición más a las 24 h. Los insectos que no se alimentaron en las primeras dos observaciones fueron reemplazados.

Un experimento adicional fue realizado para evaluar si la evitación de *M. persicae* y la preferencia de *T. schrottkyi* por el extracto de glicoalcaloides de *S. commersonii* fue debida al tipo en oposición a la cantidad total de glicoalcaloides en el disco de hoja. Para ello se colocó tópicamente un extracto de glicoalcaloides de *S. tuberosum* a uno de los discos de hoja de *S. tuberosum* (10 μ l; 1 μ g/ μ l MeOH), mientras que el otro disco de *S. tuberosum* se mantuvo como control (10 μ l MeOH) (Fig. 2). La dosis de glicoalcaloide aplicada correspondió a un incremento de 1.7 la cantidad presente por peso de disco de hoja de *S. tuberosum* (21 ± 1 mg, N = 10 discos de hoja; glicoalcaloides de *S. tuberosum*: 0.28 ± 0.04 mg/g de peso fresco, N = 5). La medición de preferencia para ambos insectos se realizó de igual forma que en los ensayos previos.

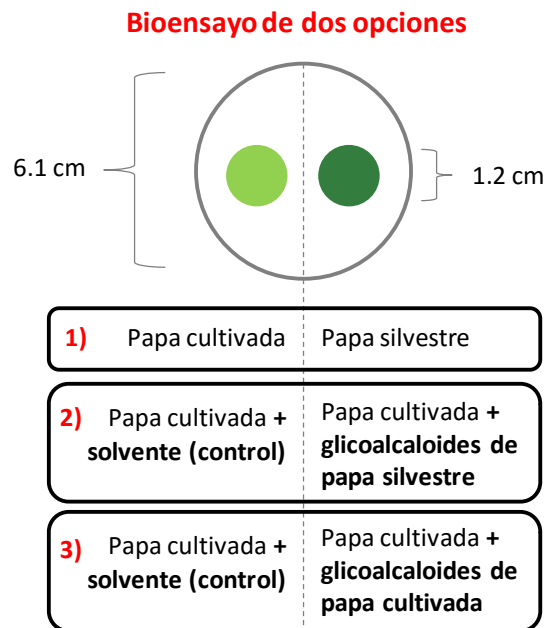


Figura 2. Esquema del ensayo de preferencia de alimentación, realizado en una placa de Petri conteniendo dos discos de hoja de igual o diferente especie según el experimento (1-3) y con adición tópica de un extracto de glicoalcaloides de la misma o diferente especie (experimentos 2 y 3).

Análisis de glicoalcaloides

Los glicoalcaloides fueron extraídos de todas las hojas presentes en plantas individuales. Las hojas fueron cortadas, pesadas y secadas en estufa a 50 °C hasta que su peso se mantuvo constante (0.42 ± 0.01 g, 0.45 ± 0.06 g para *S. tuberosum* y *S. commersonii* respectivamente, N = 5 plantas/especie). Las hojas secas fueron trituradas en mortero con 5 ml de ácido acético al 1 % y tanto el material vegetal como la solución se colocaron en un tubo para ser sonicado (5 min) y después centrifugado (5 min). El mortero fue lavado con 1 ml de ácido acético al 1 % y añadido a la muestra previo a sonicar. La solución sobrenadante obtenida de la centrifugación fue separada y el tejido vegetal re-extraído con 5 ml de ácido acético al 1 %, y nuevamente sonicado y centrifugado por 5 min cada uno. Los dos sobrenadantes se unificaron y filtraron bajo vacío para ser purificados por extracción en fase sólida, utilizando un cartucho Sep-Pak C-18 (1000 mg). El cartucho fue acondicionado con pasajes sucesivos de MeOH, agua destilada y ácido acético al 1% (3 x 3 mL para cada solvente). El extracto fue aplicado al cartucho, lavado con MeOH al 40 % (10 ml) y los glicoalcaloides eluidos con MeOH (10 ml) (Ferreira et al. 1993). El extracto metanólico de GAs fue evaporado hasta sequedad bajo vacío, pesado y almacenado a -20 °C hasta su análisis químico y uso en bioensayos.

La identificación y cuantificación de los glicoalcaloides extraídos fue realizada por cromatografía líquida (LC) acoplada a espectrometría de masas (MS) (incluyendo tándem MS-MS) mediante un instrumento HPLC (Agilent 1200, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) acoplado a un MS con analizador de trampa de iones (Esquire 6000, Bruker Daltonics GmbH Bremen, Alemania). Las muestras fueron analizadas utilizando una columna analítica de fase reversa Luna C18, de 100 mm de longitud, 3 mm de diámetro interno y 3 µm de tamaño de partícula (Phenomenex, Torrance, CA, USA), mantenida a 40 °C. Los extractos (1 mg/ml) fueron inyectados en MeOH (5 µl) y los glicoalcaloides fueron separados utilizando un gradiente lineal de 20% a 30% de acetonitrilo en ácido fórmico (10 mM) en 15 min. La velocidad de flujo fue de 0.35 ml/min y la relación de división antes de entrar al MS fue de 1:1. La espectrometría de masas fue realizada en modo ión-positivo, utilizando las siguientes condiciones: voltaje de salida de la placa terminal de fuente electrospray = -500 V; voltaje del capilar = -4000 V; nebulizador = 40 psi;

flujo del gas seco = 9.0 l/min; temperatura del gas seco = 365 °C. Fue utilizado nitrógeno como gas secante y nebulizante. La adquisición y análisis de los datos fue realizada con Bruker Compass Data Analysis 4.0 SP 1 (versión 1.2 SR1, BrukerDaltonik GmbH). La cuantificación absoluta y relativa de los glicoalcaloides en los extractos se basó en las áreas de los picos del ión $[M+H]^+$. La cuantificación absoluta fue realizada por extrapolación en una curva de calibración obtenida de una solución estándar de α -solanina (Sigma-Aldrich; 10, 100, 1000 ppm: $r^2 > 0.999$). De esta forma, los valores cuantitativos se expresaron como equivalentes de α -solanina.

Análisis estadístico

La abundancia de los insectos en *S. tuberosum* y *S. commersonii* se comparó mediante ANOVA de medidas repetidas, utilizando las semanas de muestreo como un factor intra-sujetos (previa transformación de los datos a $\sqrt{x+1}$). El porcentaje de área foliar consumida en el experimento de campo y el efecto de la planta de cría en el bioensayo de preferencia con *M. euphorbiae* fueron analizados mediante la Prueba U de Mann-Whitney. La preferencia de los insectos en el bioensayo de dos opciones fue analizado mediante la Prueba de rangos de Wilcoxon para muestras apareadas. Las diferencias fueron consideradas significativas a $P < 0.05$. Los datos se expresaron como promedio \pm error estándar.

Resultados

Experimento de campo

Los principales herbívoros encontrados en el experimento de campo fueron los áfidos *M. persicae* y *M. euphorbiae*, adultos del crisomélido *E. argentinensis* y larvas de la avispa sierra *T. schrottkyi* (Fig. 3). Además, esporádicamente aparecieron unos pocos adultos de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) en ambas especies de plantas, por lo que no se consideraron en el análisis. Los áfidos, tomados en conjunto y *E. argentinensis*, ambos considerados plagas de la papa cultivada, fueron más abundante en esta especie que en *S. commersonii* (ANOVA de medidas repetidas, $F_{(1,12)} = 38.30$, $P < 0.001$ y $F_{(1,12)} = 9.48$, $P < 0.01$, respectivamente) (Fig. 4a,b), mientras que las larvas de *T. schrottkyi* fueron encontradas casi exclusivamente en *S. commersonii* (ANOVA de medidas repetidas, $F_{(1,12)} = 36.52$, $P < 0.001$) (Fig.

4c). El porcentaje de área foliar consumida fue mayor para *S. commersonii* que para *S. tuberosum* (Tabla I) lo cual se explica por la presencia casi exclusiva de las larvas defoliadoras de *T. schrottkyi* en *S. commersonii*. Por su parte, mientras que no hubo diferencias en la biomasa tanto fresca como seca entre ambas especies, el área foliar de *S. tuberosum* fue mayor que el de *S. commersonii* (área medida + área estimada) (Tabla I), lo que se explicaría por un área foliar específica mayor para la papa cultivada.

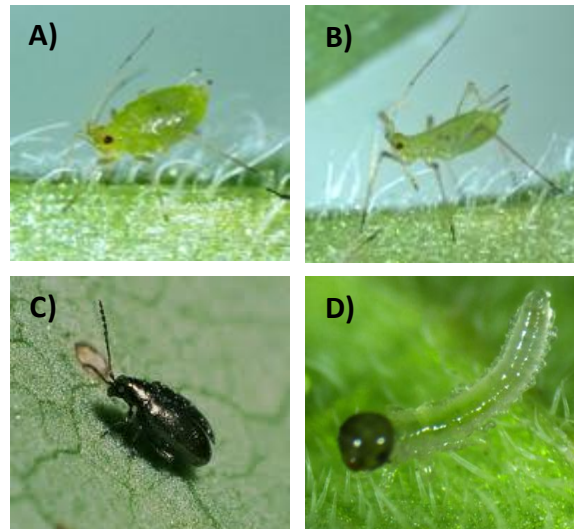


Figura 3. Herbívoros más importantes encontrados en el experimento de campo: los áfidos *M. persicae* (A) y *M. euphorbiae* (B), adultos del crisomélido *E. argentinensis* (C) y larvas de la avispa sierra *T. schrottkyi* (D) (las fotografías no se encuentran en la misma escala).

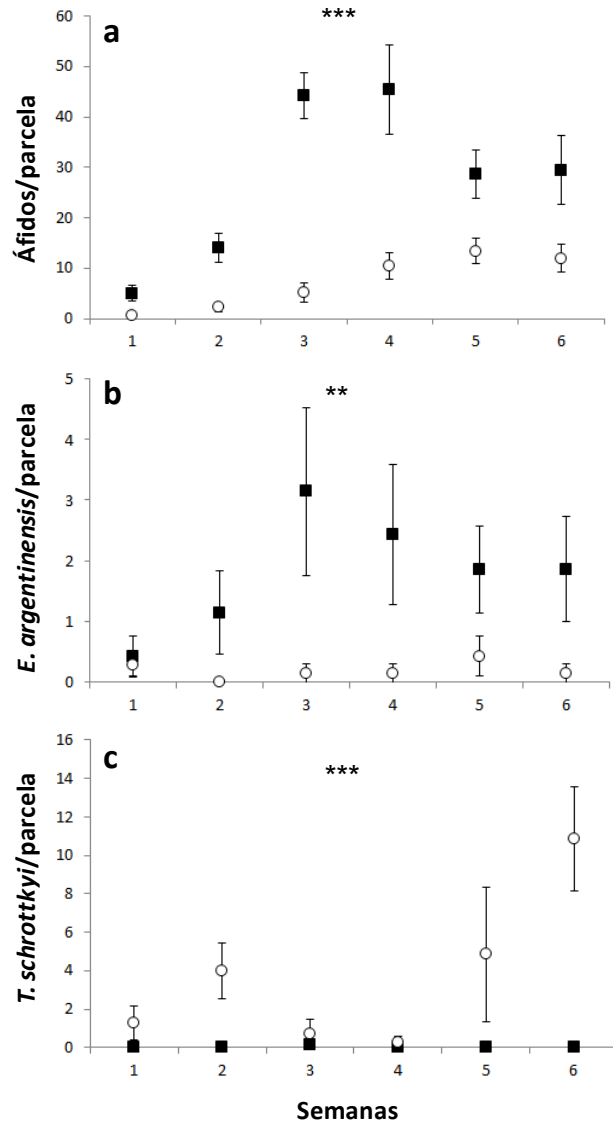


Figura 4. Abundancia de los herbívoros más relevantes encontrados en campo sobre *S. tuberosum* (cuadrados negros) y *S. commersonii* (círculos blancos): a) áfidos *M. persicae* y *M. euphorbiae*; b) adultos de *E. argentinensis*; c) larvas de *T. schrottkyi*. Los datos representan el número de insectos muestreados en 3 plantas dentro de cada parcela. ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$.

Tabla I. Biomasa foliar fresca y seca, área foliar (medida + estimada) y porcentaje consumido para *S. tuberosum* y *S. commersonii* al finalizar el experimento de campo.

	<i>S. tuberosum</i>	<i>S. commersonii</i>	Prueba U de Mann-Whitney
Biomasa fresca (g) (N = 10 plantas)	185 ± 33	104 ± 13	W = 128; P = 0.08
Biomasa seca (g) (N = 10 plantas)	11.4 ± 2.1	6.9 ± 0.9	W = 124.5; P = 0.14
Área foliar (cm²) (N = 15 plantas)	2943 ± 415	1262 ± 170	W = 307; P = 0.002
Área foliar consumida (%) (N = 15 plantas)	1.23 ± 0.14	2.95 ± 0.36	W = 141; P < 0.001

Ensayos de preferencia

De acuerdo con el comportamiento en campo, el áfido *M. persicae* prefirió asentarse en el disco de hoja de *S. tuberosum* respecto a *S. commersonii* (Prueba de rangos de Wilcoxon, P = 0.002, N = 20) (Fig. 5a1). Esta preferencia se explicó parcialmente por los glicoalcaloides de *S. commersonii*, ya que el disco de hoja de *S. tuberosum* tratado con los glicoalcaloides de la especie silvestre fue menos preferido que el disco de hoja de *S. tuberosum* control (Prueba de rangos de Wilcoxon, P = 0.02, N = 25) (Fig. 5a). Este comportamiento diferencial fue resultado de la composición de glicoalcaloides de *S. commersonii*, debido a que la adición de glicoalcaloides de *S. tuberosum* a los discos de hoja de *S. tuberosum* no tuvieron efecto en la preferencia de *M. persicae* (48.8 ± 2.3 % y 51.2 ± 2.3 % de los áfidos asentados en el control y en el disco de hoja con el suplemento de glicoalcaloides, respectivamente; Prueba de rangos de Wilcoxon P = 0.61, N = 41 placas).

A diferencia del comportamiento en campo, *M. euphorbiae* no mostró preferencia de asentamiento entre los discos de hoja las dos especies, para ninguna de las condiciones de cría (Prueba de rangos de Wilcoxon, P = 0.18, N = 25 y P > 0.99, N = 25, para los áfidos criados en *S. tuberosum* y *S. commersonii*, respectivamente) (Fig. 5b1). Por su parte, la adición de glicoalcaloides de *S. commersonii* no afectó significativamente el asentamiento de *M. euphorbiae* en *S. tuberosum*, para ninguna de las condiciones de cría (Prueba de rangos de

Wilcoxon, $P = 0.07$, $N = 34$ y $P = 0.30$, $N = 26$, para los áfidos criados en *S. tuberosum* y *S. commersonii*, respectivamente) (Fig. 5b2).

La preferencia de alimentación de los herbívoros masticadores estuvo en consonancia con el resultado de campo. Los adultos del crisomélido *E. argentinensis* prefirieron alimentarse del disco de hoja de *S. tuberosum* (Prueba de rangos de Wilcoxon, $P = 0.04$, $N = 39$) (Fig. 5c1), aunque esta preferencia no estuvo explicada por un rechazo a los glicoalcaloides de *S. commersonii* (Prueba de rangos de Wilcoxon, $P = 0.37$, $N = 39$) (Fig. 5c2). Por su parte, las larvas de *T. schrottkyi* mantuvieron la preferencia por *S. commersonii*, al consumir en mayor medida el disco de hoja de esta especie (Prueba de rangos de Wilcoxon, $P < 0.001$, $N = 40$) (Fig. 5d1), y esa preferencia se mantuvo para el disco de hoja con los glicoalcaloides de *S. commersonii* (Prueba de rangos de Wilcoxon, $P < 0.001$, $N = 39$) (Fig. 5d2). Además, esta preferencia se debió a la composición de glicoalcaloides de *S. commersonii* y no a un aumento en la dosis, debido a que la adición de glicoalcaloides de *S. tuberosum* a los discos de hoja de *S. tuberosum* no tuvieron efecto en la alimentación de *T. schrottkyi* (28.8 ± 5.8 % y 45.0 ± 7.2 %, área consumida del control y del disco de hoja con el suplemento de glicoalcaloides de *S. tuberosum*, respectivamente; Prueba de rangos de Wilcoxon $P = 0.35$, $N = 20$ placas).

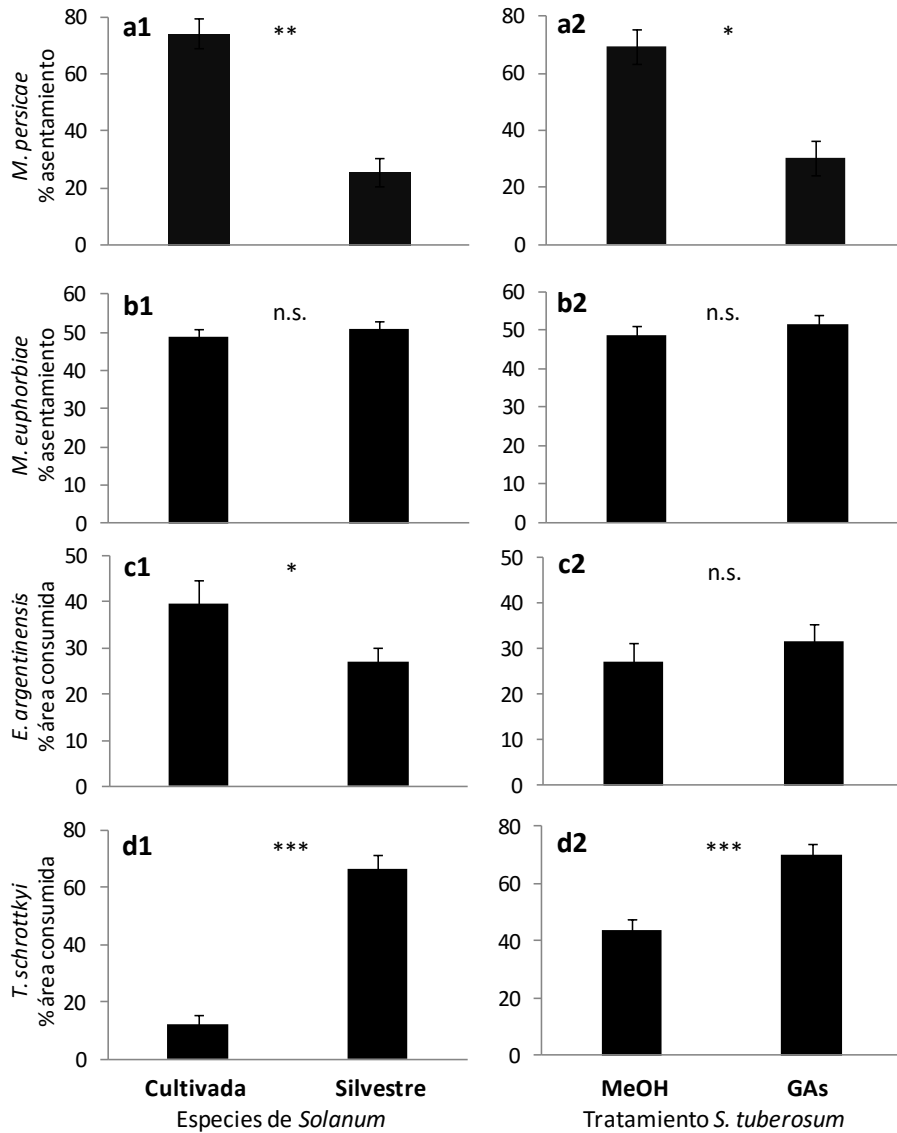


Figura 5. Preferencia de los áfidos *M. persicae* (a) y *M. euphorbiae* (b), adultos del crisomélido *E. argentinensis* (c) y larvas de *T. Schrottkyi* (d), entre los discos de hoja de la papa cultivada *S. tuberosum* y la papa silvestre *S. commersonii* (izquierda) o entre los discos de hoja de *S. tuberosum* tratado con solvente (control) y tratado con glicoalcaloides (GAs) de *S. commersonii* (derecha). Debido a que no hubo diferencias en la preferencia de asentamiento entre las poblaciones de *M. euphorbiae* criadas en *S. tuberosum* y *S. commersonii* (Prueba U de Mann-Whitney, $W = 596.5$, $P = 0.43$ y $W = 920$, $P = 0.06$, para **b1** y **b2**, respectivamente), los datos se combinaron en la figura. n.s. = no significativo, * = $P < 0.05$, ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$.

Análisis de glicoalcaloides

El análisis del extracto de glicoalcaloides por LC-MS de la accesión de *S. commersonii* de este estudio mostró 7 picos en el cromatograma (Fig. 6a, Tabla II). El compuesto mayoritario (pico 5) representó el 80 % de la mezcla total de glicoalcaloides y mostró un ión $[M+H]^+$ de m/z 1016.5, que sugirió un glicoalcaloide con una región azucarada compuesta de cuatro monosacáridos (Distl & Wink, 2009). En el análisis MS-MS de este ión $[M+H]^+$, sus fragmentos de iones indicaron la pérdida de una pentosa terminal (132 unidades de masa, m/z 884) y tres hexosas (cada una de 162 unidades de masa). La pérdida de esta región azucarada (denominada licotetraosa) resultó en un fragmento de m/z 398, que correspondió con la aglicona solanidina (Fig. 6b, Tabla II) (Distl & Wink, 2009). Esta información, junto con el reporte previo de los glicoalcaloides de *S. commersonii* (Vázquez et al., 1997) permitió la identificación de dehidro-demissina como el glicoalcaloide mayoritario de esta accesión. El siguiente glicoalcaloide más abundante de *S. commersonii* (pico 6) mostró dos unidades de masa adicional en su ión $[M+H]^+$ (Tabla II), y los fragmentos obtenidos en el MS-MS indicaron el mismo patrón de fragmentación correspondiente a la región azucarada licotetraosa, con una aglicona de m/z 400, que correspondería con demissina. Por tanto, el glicoalcaloide 6 fue identificado como demissina, que fue previamente reportado como el compuesto mayoritario de *S. commersonii*, en la accesión analizada (Vázquez et al., 1997). Dos glicoalcaloides menores, correspondientes a los picos 3 y 4, fueron identificados tentativamente como dehidro-tomatina y dehidro-commersonina por comparación de sus espectros de masa con los reportados previamente (Distl & Wink, 2009). Dehidro-tomatina mostró un ión $[M+H]^+$ de m/z 1032, y los fragmentos de iones en el MS-MS, que indicaron la pérdida del azúcar licotetraosa, resultaron en un fragmento de m/z 414 que correspondió con la aglicona tomatidenol. Por su parte, dehidro-commersonina mostró un ión $[M+H]^+$ de m/z 1046, y los fragmentos de iones en el MS-MS, que indicaron la pérdida de la región azucarada commertetraosa (compuesta por 4 hexosas, m/z 648), resultaron en la aglicona solanidina (m/z 398). Por tanto, se identificaron 4 de 7 glicoalcaloides para *S. commersonii*, que en conjunto representaron el 91 % de la mezcla total de glicoalcaloides de esta especie. Los restantes picos (1, 2 y 7) también corresponden con glicoalcaloides dado sus espectros de masa, quedando pendiente su identificación.

Los glicoalcaloides extraídos de *S. tuberosum* fueron analizados de forma similar, mostrando 6 picos en el cromatograma (Tabla II). Los dos picos mayoritarios (8 y 9) representaron más del 95 % de la mezcla total de glicoalcaloides y fueron identificados como α -solanina y α -chaconina, respectivamente, siendo los glicoalcaloides típicos de *S. tuberosum*. La identificación se basó en el orden de elución, los iones $[M+H]^+$ de m/z 868 y 852, los fragmentos de iones correspondientes con los trisacáridos solatriosa y chacotriosa, y el fragmento de m/z 398, que corresponde con la aglicona solanidina (Distl & Wink, 2009). Los restantes picos (10-13), si bien no fueron identificados, corresponden con glicoalcaloides por sus espectros de masa. La concentración total de glicoalcaloides en las hojas fue mayor en *S. commersonii*, que contuvo 1.46 ± 0.14 mg/g de biomasa seca, lo que representó más de dos veces la concentración de glicoalcaloides de *S. tuberosum* (0.65 ± 0.19 mg/g de biomasa seca) (Prueba U de Mann-Whitney, $W = 10$, $P = 0.03$).

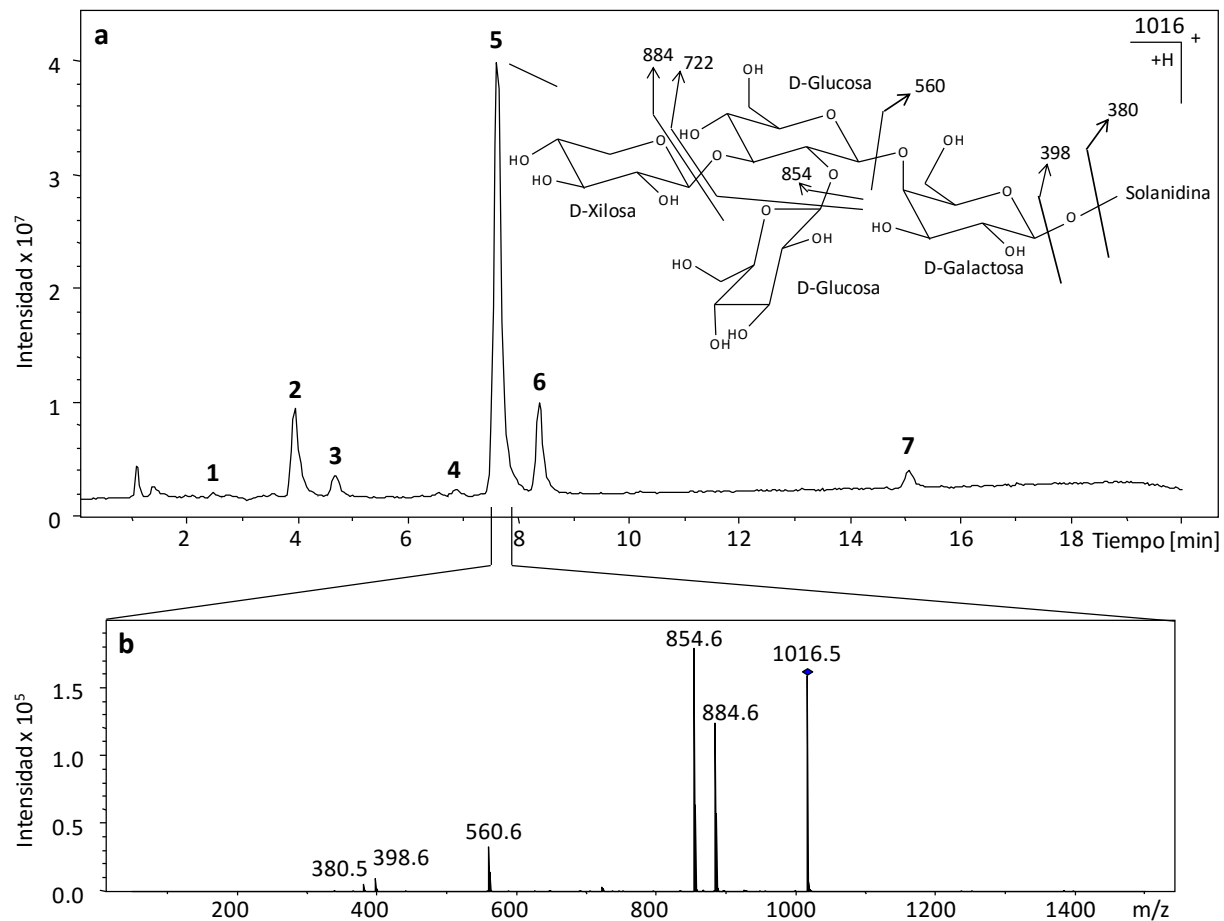


Figura 6. **a)** Cromatograma del ión total del extracto de glicoalcaloides de *S. commersonii*, incluyendo la estructura y el esquema de fragmentación del glicoalcaloide principal, dehidro-demissina. **b)** Fragmentación en el MS-MS del ión [M+H]⁺ para la identificación de dehidro-demissina. Los iones hijos corresponden a diferentes pérdidas de la región azucarada y de la aglicona solanidina (m/z 398).

Tabla II. Datos cromatográficos, espectroscópicos y abundancia relativa de los glicoalcaloides extraídos de *S. commersonii* y *S. tuberosum*. GA=glicoalcaloide; Tr= tiempo de retención; n.i.= no identificado

Especie	GA	Tr (min)	Compuesto	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺	Fragmentos de iones principales ^a (MS-MS del [M+H] ⁺)	% Área [M+H] ⁺
<i>S. commersonii</i>	1	2.5	n.i.		1033	1014.5/900.4/882.3/870.5/ 853.5/ 558.3/576.1/379.6	0.44 ± 0.12
	2	3.9	n.i.		1031	898.5/850.3/736.4/718.2/ 574.3/556.5/433.3/412.4/ 394.6	7.3 ± 1.8
	3	4.7	Dehidrotomatina	C ₅₀ H ₈₁ NO ₂₁	1032.5	900.3/870.3/576.4/567.3/ 414.4 /396.4	1.29 ± 0.22
	4	6.9	Dehidrocommersonina	C ₅₁ H ₈₃ NO ₂₁	1046.6	1038.5/1016.4/884.4/560.5/ 398.4 /390.5	1.33 ± 0.08
	5	7.6	Dehidrodemissina	C ₅₀ H ₈₁ NO ₂₀	1016.5	884.6/854.6/722.6/560.6/ 398.6 /380.5	80.4 ± 1.9
	6	8.4	Demissina	C ₅₀ H ₈₃ NO ₂₀	1018.6	886.6/856.6/724.7/562.5/ 400.6 /382.6	7.84 ± 0.63
	7	15	n.i.		1195.6	1063.6/1033.5/1016.6/739.2/ 709.3/577.3/433.2/415.4/ 397.4	1.43 ± 0.12
<i>S. tuberosum</i>	8	7.9	α-Solanina	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	868.7	722.6/706.7/560.6/ 398.7	21.38 ± 0.52
	9	8.2	α-Chaconina	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₄	852.7	834/706.4/560.5/ 398.4 / 380.5	75.53 ± 0.39
	10	12.9	n.i.		1085.6	1069.3/1066.3/939.4/923.5/ 777.3/615.3/598.5/592.9/576.4/ 511.1/493.2/431.6/365.1/347.3	0.15 ± 0.04
	11	13.9	n.i.		1069.6	965.3/923.4/777.3/597.4/ 432.4	0.36 ± 0.10
	12	15.8	n.i.		1047.6	723.5/577.3/415.4/397.4/ 309.1	0.61 ± 0.15
	13	16.3	n.i.		1031.7	996.3/869.5/723.4 /577.4/ 561.4/543.4/415.5/397.5/ 379.5	1.98 ± 0.39

^a Fragmentos de iones en negrita corresponden a las agliconas.

Discusión

Los resultados del experimento de campo indicaron que la papa cultivada *S. tuberosum* fue más susceptible a herbívoros generalistas (los áfidos *M. persicae* y *M. euphorbiae*, cuantificados juntos) y a una especie oligófaga (adultos del crisomélido *E. argentinensis*), mientras que la

papa silvestre *S. commersonii* fue más susceptible a un herbívoro monófago (larvas de la avispa sierra *T. schrottkyi*), que se alimentó casi exclusivamente de esta especie. Estos resultados apoyan la hipótesis de que el efecto de la domesticación tiene incidencia en la resistencia a la herbivoría, en particular en relación con la amplitud de dieta de los herbívoros. Los procesos de domesticación de las plantas cultivadas tienden a seleccionar variedades que asignan más recursos a crecer, en detrimento de la capacidad de resistir a la herbivoría, tornándose más susceptibles a herbívoros generalistas que no requieren adaptaciones particulares para alimentarse de especies poco defendidas. En cambio, las especies silvestres pueden desarrollar estrategias para reducir la herbivoría, como la producción de metabolitos secundarios tóxicos, lo que genera una presión de selección en los herbívoros íntimamente asociados, que los puede llevar a desarrollar adaptaciones para sortear esa fuente de resistencia (Ehrlich & Raven, 1964).

Una de las estrategias principales de las plantas para reducir la herbivoría son las defensas químicas y en las especies de este estudio está determinada fundamentalmente por la producción de glicoalcaloides (Pelletier et al., 2013). Los glicoalcaloides aislados de la papa silvestre *S. commersonii* tuvieron un efecto significativo y diferente en la elección de alimentación de dos herbívoros de este estudio. En el caso del áfido *M. persicae*, que prefirió alimentarse de la papa cultivada, evitó los glicoalcaloides de la papa silvestre cuando fueron aplicados en su planta preferida. Esta respuesta no se debió a un incremento en la cantidad de glicoalcaloides, ya que *M. persicae* no evitó el disco de hoja con los glicoalcaloides de *S. tuberosum* que fueron aplicados en igual cantidad que los de *S. commersonii*. Por su parte, los glicoalcaloides de *S. commersonii*, especie preferida por las larvas de *T. schrottkyi*, resultaron fagoestimulantes para las larvas cuando se añadieron al disco de hoja de *S. tuberosum*. Este resultado no se debió a un aumento en la cantidad de glicoalcaloides del disco de hoja, ya que al aplicar la misma cantidad de glicoalcaloides de *S. tuberosum* no se reprodujo la preferencia de las larvas. Estos resultados muestran que las defensas a través de glicoalcaloides explican, al menos en parte, la elección de hospedero del generalista *M. persicae* y del especialista *T. schrottkyi*, y que es debida a la composición y no a la concentración presente en *S. commersonii*.

En ese sentido, el análisis químico del extracto de glicoalcaloides permitió identificar en *S. commersonii* cuatro glicoalcaloides: dehidro-tomatina, dehidro-commersonina, dehidro-demissina, y demissina, mientras que en *S. tuberosum* se identificaron los glicoalcaloides típicos de esta especie: α -solanina y α -chaconina. Estos últimos comparten la aglicona solanidina con el compuesto mayoritario de *S. commersonii*, dehidro-demissina y se diferencian en la porción glicosídica, estando glicosilados por trisacáridos los glicoalcaloides de *S. tuberosum* mientras que por tetrasacáridos los glicoalcaloides de *S. commersonii*. La importancia de la porción glicosídica en la modulación de la actividad biológica de los glicoalcaloides no es inesperada (Roddick et al., 1992; Guntner et al., 1997, 2000), aunque no se descarta en la preferencia de hospedero el efecto de los restantes glicoalcaloides de *S. commersonii* actuando en concierto.

Además de producir una respuesta fagoestimulante en las larvas de *T. schrottkyi*, los glicoalcaloides de *S. commersonii* podrían ser utilizados como señal para oviponer por las hembras de *T. schrottkyi* o incluso emplearlos en su propia defensa contra depredadores. Esto último tiene su base en que el género *Tequus* tiene distribución Neotropical y sus hospederos reportados son todos del género *Solanum* (Schmidt & Smith, 2006), lo que indica una historia evolutiva asociada íntimamente con plantas productoras de glicoalcaloides. Además, la adaptación y el secuestro de defensas químicas de sus plantas hospederas no es inusual en las avispas sierras (Eisner et al., 1974; Bowers et al., 1993; Schaffner et al., 1994; Schaffner & Boevé, 1996; Müller et al., 2001; Barker et al., 2002; Prieto et al., 2007; Opitz et al., 2010, 2012; Crockett & Boevé, 2011), incluyendo miembros de la familia Pergidae, de la que forma parte *Tequus* (Carne, 1962; Tait, 1962; Morrow et al., 1976; Schmidt et al., 2000, 2010). Por esto, sería interesante evaluar en futuros trabajos si los glicoalcaloides son incorporados y utilizados por las larvas en su protección frente a depredadores. Además, si bien las larvas prefirieron a *S. commersonii*, también consumieron a *S. tuberosum*, por lo cual sería interesante evaluar el efecto de los glicoalcaloides de ambas *Solanum* en la performance de este especialista, y su asociación con la preferencia de oviposición de las hembras.

Respecto a otros los herbívoros de este estudio, el áfido generalista *M. euphorbiae*, a diferencia de lo que sucedió con *M. persicae*, no mostró preferencia en laboratorio por alguna de las

Solanum y los glicoalcaloides de *S. commersonii* no afectaron su preferencia de asentamiento. Además, la ausencia de preferencia fue independiente de la experiencia previa, debido a que *M. euphorbiae* mantenido en *S. tuberosum* o en *S. commersonii* mostró igual respuesta. Los resultados no contradicen lo obtenido en campo ya que en ese experimento no se hizo distinción entre las dos especies de áfidos, e indican que herbívoros con modos de alimentación similares y gran amplitud de dieta pueden responder diferente a los metabolitos secundarios específicos de las plantas. Esto podría estar relacionado con el distinto origen de ambos áfidos, ya que *M. persicae* es originaria de China y *M. euphorbiae* proviene de Norteamérica (van Emden & Harrington, 2007). Por tanto, *M. euphorbiae* podría tener una más larga asociación evolutiva con las papas silvestres, también originarias de América (Hijmans & Spooner, 2001), y por tanto más posibilidades de desarrollar adaptaciones frente a los metabolitos tóxicos de estas plantas hospederas. Estos resultados muestran la importancia de contemplar en el efecto de plantas químicamente defendidas, además de la amplitud de dieta de los herbívoros, la historia evolutiva de sus asociaciones con las plantas hospederas.

Más allá de conocer el efecto de los glicoalcaloides en la preferencia de alimentación de *M. persicae* y *M. euphorbiae*, sería interesante evaluar la performance de ambos áfidos generalistas en las dos especies de *Solanum*, debido a que compuestos que resultan deterrentes, pueden no tener efecto en la performance cuando no hay otra opción de alimentación (Schoonhoven & Derksen-Koppers, 1976). Además, existen resultados variables en la performance de estos áfidos frente a otras especies silvestres de *Solanum* (Flanders et al., 1997; Le Roux et al., 2007; Fréchette et al., 2010; Pelletier et al., 2010; Pompon et al., 2010), no existiendo una clara relación entre la performance de estos áfidos y el contenido de glicoalcaloides de las plantas (Flanders et al., 1992). La evaluación de glicoalcaloides específicos mostró que los tetraglicósidos tomatina y demissina (este último presente en la accesión de *S. commersonii* de este estudio) redujeron moderadamente la performance de *M. euphorbiae*, mientras que los glicoalcaloides de *S. tuberosum*, α -solanina y α -chaconina, no tuvieron efecto negativo en su performance (Guntner et al., 1997, 2000). Por su parte, contra *M. persicae* los glicoalcaloides α -solanina y α -chaconina fueron efectivos, aunque el experimento fue realizado con dosis más altas respecto a las dosis empleadas contra *M. euphorbiae* (Fragoyiannis et al.,

1998). Dado estos resultados, sería interesante evaluar de forma comparativa la performance de ambos áfidos en *S. tuberosum* y *S. commersonii*, con las dosis y mezclas naturales de glicoalcaloides que contienen ambas plantas.

En cuanto al crisomélido oligófago *E. argentinensis*, cuyos hospederos son plantas de la familia Solanaceae, tanto el experimento de campo como el ensayo de laboratorio mostraron una preferencia por la papa cultivada *S. tuberosum*. Sin embargo, esto no se debió a los glicoalcaloides de la papa silvestre *S. commersonii*, ya que no tuvieron efecto negativo en su preferencia de alimentación. Esto indica que *E. argentinensis* estaría adaptado a los glicoalcaloides de la papa silvestre, resultado esperable en un herbívoro especializado en plantas que comparten los mismos metabolitos secundarios. Estudios en *E. cucumeris* tampoco hallaron una asociación clara de los glicoalcaloides de especies silvestres de *Solanum* con la resistencia a esta especie, pero sí que los tricomas simples y glandulares tuvieron un efecto negativo en la performance de este herbívoro (Tingey & Sinden, 1982; Flanders et al., 1992). En ese sentido, *S. commersonii* presenta una mayor densidad de tricomas que *S. tuberosum* (P. Altesor, sin publicar), lo que podría explicar la preferencia de *E. argentinensis* por *S. tuberosum*.

En conclusión, este trabajo proporciona una comparación de los patrones de herbivoría y defensas químicas constitutivas en dos especies relacionadas de *Solanum* sujetas a diferente presión de selección. La susceptibilidad a la herbivoría difirió cuantitativa y cualitativamente entre la papa cultivada y la silvestre, con uno de los insectos generalistas y el especialista oligófago prefiriendo alimentarse de la papa cultivada, mientras que el especialista monófago prefiriendo a la papa silvestre. Además, se encontró que la papa silvestre produjo glicoalcaloides estructuralmente distintos y en mayor cantidad y se estableció una clara relación entre estos metabolitos secundarios y la preferencia de los insectos herbívoros. Estos resultados muestran que si bien la domesticación ha podido debilitar la capacidad defensiva de la papa cultivada, siendo atacada por herbívoros con amplitud de dieta mayor, la congénere silvestre, mejor defendida, puede igualmente ser susceptible como resultado de la especialización de los herbívoros. Finalmente, el rol defensivo de los glicoalcaloides no puede

asumirse igualmente efectivo contra todos los generalistas, debiendo considerarse también la historia evolutiva de las asociaciones de los insectos con sus plantas hospederas.

Referencias

- Ali JG & Agrawal A a (2012) Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in plant science* 17:293–302.
- Barker A, Schaffner U & Boevé J-L (2002) Host specificity and host recognition in a chemically-defended herbivore, the tenthredinid sawfly *Rhadinoceraea nodicornis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 104:61–68.
- Bautista A, Parra F & Espinosa-García F (2012) Efectos de la Domesticación de Plantas en la Diversidad Fitoquímica. *Temas Selectos en Ecología Química de Insectos*. (ed by JC Rojas & EA Malo) El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas, pp 253–267.
- Bazzaz FA, Chiariello NR, Coley PD & Pitelka LF (1987) Allocating Resource to Reproduction and Defense. *BioScience* 37:58–67.
- Bellota E, Medina RF & Bernal JS (2013) Physical leaf defenses – altered by *Zea* life-history evolution, domestication, and breeding – mediate oviposition preference of a specialist leafhopper. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 149:185–195.
- Bernays E & Graham M (1988) On the Evolution of Host Specificity in Phytophagous Arthropods Author. *Ecology* 69:886–892.
- Bowers MD, Boockvar K & Collinge SK (1993) Iridoid Glycosides of *Chelone glabra* (Scrophulariaceae) and their Sequestration by Larvae of a Sawfly, *Tenthredo grandis* (Tenthredinidae). *Journal of chemical ecology* 19:815–823.
- Carne PB (1962) The Characteristics and Behaviour of the Saw-Fly *Perga affinis affinis* (Hymenoptera). *Australian Journal of Zoology* 10:1–38.
- Cole R a. (1997) The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 85:121–133.
- Crockett SL & Boevé J-L (2011) Flavonoid glycosides and naphthodianthrones in the sawfly *Tenthredo zonula* and its host-plants, *Hypericum perforatum* and *H. hirsutum*. *Journal of chemical ecology* 37:943–52.
- Dávila-Flores AM, DeWitt TJ & Bernal JS (2013) Facilitated by nature and agriculture: performance of a specialist herbivore improves with host-plant life history evolution, domestication, and breeding. *Oecologia* 173:1425–37.
- Distl M & Wink M (2009) Identification and Quantification of Steroidal Alkaloids from Wild

- Tuber-Bearing Solanum Species by HPLC and LC-ESI-MS. *Potato Research* 52:79–104.
- Ehrlich PR & Raven PH (1964) Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18:586–608.
- Eich E (2008) *Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites*. Berlin, Heidelberg.
- Eisner T, Johnessee JS & Carrel J (1974) Defensive Use by an Insect of a Plant Resin. *Science* 184:996–999.
- van Emden HF & Harrington R (Ed by) (2007) *Aphids as Crop Pests*. CABI, London.
- Flanders KL, Hawkes JG, Radcliffe EB & Lauer FI (1992) Insect resistance in potatoes: sources, evolutionary relationships, morphological and chemical defenses, and ecogeographical associations. *Euphytica* 61:83–111.
- Flanders KL, Radcliffe EB & Hawkes JG (1997) Geographic distribution of insect resistance in potatoes. *Euphytica* 93:201–221.
- Fragoyiannis DA, Mckinlay RG & Mello JPDF (1998) Studies of the growth, development and reproductive performance of the aphid *Myzus persicae* on artificial diets containing potato glycoalkaloids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88:59–66.
- Fréchette B, Bejan M, Lucas E, Giordanengo P & Vincent C (2010) Resistance of wild Solanum accessions to aphids and other potato pests in Quebec field conditions. *Journal of Insect Science* 10:1–16.
- Friedman M (2002) Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. *Journal of agricultural and food chemistry* 50:5751–80.
- Friedman M, McDonald GM & Fliadelfi-Keszi M (1997) Potato Glycoalkaloids: Chemistry, Analysis, Safety, and Plant Physiology. *Critical Reviews in Plant Sciences* 16:55–132.
- Gelder WMJ Van, Vinket JH & Scheffer JJC (1988) Steroidal glycoalkaloids in tubers and leaves of Solanum species used in potato breeding. *Euphytica* S:147–158.
- Gepts P (2004) Crop Domestication as a Long-term Selection Experiment. *Plant Breeding Reviews* 24:1–44.
- Gols R, Bukovinszky T, van Dam NM, Dicke M, Bullock JM & Harvey J a (2008) Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild Brassica populations. *Journal of chemical ecology* 34:132–43.
- Gols R, Wagenaar R, Bukovinszky T, van Dam NM, Dicke M, Bullock JM & Harvey J a (2008) Genetic variation in defense chemistry in wild cabbages affects herbivores and their endoparasitoids. *Ecology* 89:1616–26.
- Gregory P, Sinden SL, Osman SF, Tingey WM & Chessin DA (1981) Glycoalkaloids of Wild, Tuber-

- Bearing Solanum Species. *Journal of agricultural and food chemistry* 29:1212–1215.
- Guntner C, Gonzalez A, Dos Reis R, Gonzalez G, Vazquez A, Ferreira F & Moyna P (1997) Effect of Solanum Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *Journal of chemical ecology* 23:1651–1659.
- Guntner C, Vázquez A, González G, Usubillaga A, Ferreira F & Moyna P (2000) Effect of Solanum Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*: Part II. *Journal of Chemical Ecology* 26:1113–1121.
- Hermes D a. & Mattson WJ (1992) The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. *The Quarterly Review of Biology* 67:283–335.
- Hijmans RJ & Spooner DM (2001) Geographic Distribution of Wild Potato Species. *American Journal of Botany* 88:2101–2112.
- Jansky SH, Simon R & Spooner DM (2009) A Test of Taxonomic Predictivity: Resistance to the Colorado Potato Beetle in Wild Relatives of Cultivated Potato. *Journal of Economic Entomology* 102:422–431.
- Kowalski SP, Domek JM, Deahl KL & Sanford LL (1999) Performance of Colorado Potato Beetle Larvae, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), Reared on Synthetic Diets Supplemented with Solanum Glycoalkaloids. *American Journal of Potato Research* 76:305–312.
- Lorenzen JH, Balbyshev NF, Lafta AM, Tian X, Sagredo B & Casper H (2001) Resistant Potato Selections Contain Leptine and Inhibit Development of the Colorado Potato Beetle (Coleoptera : Chrysomelidae) Resistant Potato Selections Contain Leptine and Inhibit Development of the Colorado Potato Beetle (Coleoptera : Chrysomelidae.
- Massei G & Hartley SE (2000) Disarmed by domestication? Induced responses to browsing in wild and cultivated olive. *Oecologia* 122:225–231.
- Morrow PA, Bellas TE & Eisner T (1976) Eucalyptus Oils in the Defensive Oral Discharge of Australian Sawfly Larvae (Hymenoptera: Pergidae). *Oecologia (Berl.)* 24:193–206.
- Mulatu B, Applebaum SW, Kerem Z & Coll M (2006) Tomato fruit size, maturity and α -tomatine content influence the performance of larvae of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bulletin of Entomological Research* 96:173–178.
- Müller C, Agerbirk N, Olsen CE, Boevé JL, Schaffner U & Brakefield PM (2001) Sequestration of Host Plant Glucosinolates in the Defensive Hemolymph of the Sawfly *Athalia rosae*. *Journal of chemical ecology* 27:2505–16.
- Murashige T & Skoog F (1962) A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473–497.
- Nenaah GE (2011b) Toxic and antifeedant activities of potato glycoalkaloids against *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research*

47:185–190.

- Nenaah G (2011a) Individual and synergistic toxicity of solanaceous glycoalkaloids against two coleopteran stored-product insects. *Journal of Pest Science* 84:77–86.
- Opitz SEW, Boevé J-L, Nagy ZT, Sonet G, Koch F & Müller C (2012) Host Shifts from Lamiales to Brassicaceae in the Sawfly Genus *Athalia*. *PLoS ONE* 7:1–8.
- Opitz SEW, Jensen SR & Müller C (2010) Sequestration of glucosinolates and iridoid glucosides in sawfly species of the genus *Athalia* and their role in defense against ants. *Journal of chemical ecology* 36:148–57.
- Opitz SEW & Müller C (2009) Plant chemistry and insect sequestration. *Chemoecology* 19:117–154.
- Pelletier Y, Horgan FG & Pompon J (2013) Potato Resistance Against Insect Herbivores: Resources and Opportunities. *Insect Pests of Potato*. (ed by Alyokhin, Vincent & Giordanengo) 1st edn. Academic Press, Inc., pp 439–462.
- Pelletier Y, Pompon J, Dexter P & Quiring D (2010) Biological performance of *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphididae) on seven wild *Solanum* species. *Annals of Applied Biology* ISSN 0003-:1–8.
- Pianzola MJ, Zarantonelli L, González G, Franco Fraguas L & Vázquez A (2005) Genetic, phytochemical and biochemical analyses as tools for biodiversity evaluation of wild accessions of *Solanum commersonii*. *Biochemical Systematics and Ecology* 33:67–78.
- Poelman EH, Galiart RJFH, Raaijmakers CE, Van Loon JJA & Van Dam NM (2008) Performance of specialist and generalist herbivores feeding on cabbage cultivars is not explained by glucosinolate profiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 127:218–228.
- Pompon J, Quiring D, Giordanengo P & Pelletier Y (2010) Characterization of *Solanum chomatophilum* resistance to 2 aphid potato pests, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) and *Myzus persicae* (Sulzer). *Crop Protection* 29:891–897.
- Prieto JM, Schaffner U, Barker A, Braca A, Siciliano T & Boevé J-L (2007) Sequestration of Furostanol Saponins by *Monophadnus* Sawfly Larvae. *Journal of chemical ecology* 33:513–24.
- Rangarajan A, Miller AR & Veilleux RE (2000) Leptine glycoalkaloids reduce feeding by Colorado potato beetle in diploid *Solanum* sp. hybrids. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125:689–693.
- Roddick JG, Rijnenberg AL & Weissenberg M (1992) Alterations to the permeability of liposome membranes by the solasodine-based glycoalkaloids solasonine and solamargine. *Phytochemistry* 31:1951–1954.
- Rosenthal JP & Dirzo R (1997) Effects of life history, domestication and agronomic selection on

- plant defence against insects: Evidence from maizes and wild relatives. *Evolutionary Ecology* 11:337–355.
- Le Roux V, Campan EDM, Dubois F, Vincent C & Giordanengo P (2007) Screening for resistance against *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* among wild *Solanum*. *Annals of Applied Biology* 151:83–88.
- Schaffner U & Boevé J-L (1996) Sequestration of plant alkaloids by the sawfly *Rhadinoceraea nodicornis*: Ecological Relevance for different life stages and occurrence among related species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80:283–285.
- Schaffner U, Boevé J-L, Gfeller H & Schlunegger UP (1994) Sequestration of *Veratrum* Alkaloids by Specialist *Rhadinoceraea nodicornis* Konow (Hymenoptera, Tenthredinidae) and its Ecoethological Implications. *Journal of chemical ecology* 20:3233–3250.
- Schmidt S, McKinnon a E, Moore CJ & Walter GH (2010) Chemical detoxification vs mechanical removal of host plant toxins in *Eucalyptus* feeding sawfly larvae (Hymenoptera: Pergidae). *Journal of Insect Physiology* 56:1770–1776.
- Schmidt S & Smith DR (2006) An Annotated Systematic World Catalogue of the Pergidae (Hymenoptera). *Contributions of the American Entomological Institute* 34:972.
- Schmidt S, Walter GH & Moore CJ (2000) Host plant adaptations in myrtaceous-feeding Pergid sawflies: essential oils and the morphology and behaviour of *Pergagrapta* larvae (Hymenoptera, Symphyta, Pergidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 70:15–26.
- Schoonhoven LM & Derksen-Koppers I (1976) Effects of Some Allelochemicals on Food Uptake and Survival of a Polyphagous Aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 19:52–56.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA & Dicke M (2005) *Insect-Plant Biology*. Oxford University Press.
- Schowalter TD (2006) *Insect Ecology: An Ecosystem Approach*. Academic Press, Elsevier, California.
- Siri MI, Galván G a., Quirici L, Silvera E, Villanueva P, Ferreira F, Franco Fraguas L & Pianzola MJ (2008) Molecular marker diversity and bacterial wilt resistance in wild *Solanum commersonii* accessions from Uruguay. *Euphytica* 165:371–382.
- Siri MI, Villanueva P, Pianzola MJ, Franco Fraguas L, Galván G & Ferreira F (2004) In vitro antimicrobial activity of different accessions of *Solanum commersonii* Dun. from Uruguay. *Potato Research* 47:127–138.
- Small E (1996) Adaptations to herbivory in alfalfa (*Medicago sativa*). *Canadian Journal of Botany* 74:807–822.
- Spooner DM & Hijmans RJ (2001) Potato Systematics and Germplasm Collecting, 1989–2000. *American Journal of Potato Research* 78:237–268.

- Staba JE (1969) Plant Tissue Culture as a Technique for the Phytochemist. Recent Advances in Phytochemistry. (ed by MK Seikel & VC Runcekles) Appeton-Century-Crofts, New York, pp 75–106.
- Tait NN (1962) The Anatomy of the Sawfly *Perga affinis affinis* Kirby (Hymenoptera: Symphyta). Australian Journal of Zoology 10:652–683.
- Tingey WM (1984) Glycoalkaloids as pest resistance factors. American Potato Journal 61:157–167.
- Tingey WM & Sinden SL (1982) Glandular Pubescence, Glycoalkaloid Composition, and Resistance to the Green Peach Aphid, Potato Leafhopper, and Potato Fleabeetle in *Solanum berthaultii*. American Potato Journal 59:95–106.
- Vázquez A, González G, Ferreira F, Moyna P & Kenne L (1997) Glycoalkaloids of *Solanum commersonii* Dun. ex Poir. Euphytica 95:195–201.
- Wise IL, Lamb RJ & Smith MAH (2001) Domestication of wheats (Gramineae) and their susceptibility to herbivory by *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae). The Canadian EntomologistCan Entomol 133:255–267.
- Yencho GC, Kowalski SP, Kennedy GG & Sanford LL (2000) Segregation of leptine glycoalkaloids and resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) in F2 *Solanum tuberosum* (4x) x *S. chacoense* (4x) Potato progenies. American Journal of Potato Research 77:167–178.

CAPÍTULO II. PREFERENCIA Y PERFORMANCE DE UNA AVISPA SIERRA ESPECIALISTA EN PLANTAS CONGÉNERES CON DISTINTOS NIVELES DE RESISTENCIA A LA HERBIVORÍA

Introducción

En el estudio de la interacción planta-insecto, un problema central es la relación entre la preferencia de oviposición de las hembras frente a distintas plantas hospederas y la supervivencia, desarrollo y reproducción de su descendencia (performance) en dichas plantas (Thompson, 1988; Bernays & Chapman, 1994; Schoonhoven et al., 2005). En los estados inmaduros que tienen escasa movilidad y no presentan cuidado parental, el acceso al alimento está determinado únicamente por la elección de oviposición de la hembra. Debido a esto, la elección de hospedero para oviponer debe ser un componente importante del éxito reproductivo de la hembra, en el que la selección puede actuar. Por tanto, sería de esperar que la hembra sea capaz de discriminar entre hospederos con diferente calidad, eligiendo aquel que favorezca la performance de su descendencia (Jaenike, 1978; Thompson, 1988; Mayhew, 1997).

En efecto, la mayoría de los estudios que han evaluado la correlación entre la preferencia de oviposición de la hembra y la performance de su descendencia muestra que las hembras son capaces de discriminar entre hospederos y elegir el que resulta más apropiado para la descendencia (Gripenberg et al., 2010). Entre los factores que determinan la elección de oviposición se destacan los metabolitos primarios y secundarios de las plantas. Los metabolitos primarios proveen los nutrientes necesarios para la alimentación de la descendencia mientras que los secundarios pueden tener un efecto variable, según si el insecto es susceptible o está adaptado a esa fuente de resistencia (Bernays & Chapman, 1994; Schoonhoven et al., 2005). Factores indirectos como la oviposición en sitios que proveen refugio frente a enemigos naturales, que reducen la competencia o son fuente de interacciones mutualistas también son relevantes en la elección de hospedero por parte de la hembra ya que tienen una incidencia importante en la performance de la descendencia (Jaenike, 1978; Atsatt, 1981; Thompson, 1988; Ohsaki & Sato, 1994; Bjorkman et al., 1997; Mayhew, 1997; Wise & Weinberg, 2002; Gripenberg et al., 2010; Wilson & Leather, 2012).

Por su parte, en aquellos estudios donde no se ha encontrado correlación positiva entre la preferencia de oviposición de la hembra y la performance de la descendencia (Rausher, 1979;

Valladares & Lawton, 1991; Underwood, 1994; Mayhew, 1997; Price et al., 1999; Pires et al., 2000; Harris et al., 2001; Ferrier & Price, 2004; Digweed, 2006; Clark et al., 2011; Jiao et al., 2012; Potter et al., 2012), se han postulado distintos factores para explicar este desajuste. Entre estos se destacan la alimentación de los adultos, que puede hacer menos relevante la alimentación de la descendencia; la distribución de los huevos, ya que no es lo mismo dejar todos los huevos en una planta errónea que dejar uno solo; la predictibilidad temporal del hospedero, sobre todo de plantas herbáceas, que pueden variar su calidad en periodos muy cortos; y la amplitud de dieta, relacionado con la exactitud y la rapidez de elección (Thompson, 1988; Mayhew, 1997; Foster & Howard, 1999; Scheirs et al., 2000; Gripenberg et al., 2010; Soler et al., 2012). Sin embargo, de estos factores solo la amplitud de dieta explicaría el desajuste entre preferencia y performance, reflejando la oviposición de los oligófagos la performance de la descendencia, no así en el caso de polífagos y monófagos (Gripenberg et al., 2010).

La elección de hospederos en base a la amplitud de dieta es explicada por la hipótesis de restricción neuronal. Esta hipótesis plantea que, si el procesamiento de información constituye un problema para los insectos, los especialistas (monófagos y oligófagos) tendrán ventaja frente a los generalistas (polífagos) debido a que tienen que procesar una menor cantidad de estímulos proveniente de sus plantas hospederas (Levins & MacArthur, 1969; Bernays, 1998). Esto se debe a que los oligófagos consumen plantas de una misma familia, los monófagos plantas de un mismo género y los polífagos plantas de distintas familias (Schoonhoven et al., 2005). Por tanto, se espera que oligófagos y monófagos tengan una mayor capacidad de discriminar entre hospederos en relación a polífagos, debido a la menor diversidad de plantas que consumen.

En ese marco, resulta llamativa la ausencia de correlación entre preferencia y performance de los monófagos. Al respecto se ha planteado que podría estar relacionado con la dificultad de discriminar entre hospederos muy similares entre sí, ya que todos los estudios con monófagos han utilizado plantas del mismo género o especie (Gripenberg et al., 2010). Sin embargo, existe amplia evidencia de que los especialistas son capaces de discriminar a nivel especie-específico, en gran medida asociado a las diferencias en los metabolitos secundarios específicos de las

especies de plantas (Renwick & Chew, 1994; Honda, 1995; Schoonhoven et al., 2005). Una explicación alternativa es que en varios ensayos con monófagos se evaluó la performance sólo de la etapa larval, sin considerar el desarrollo hasta el adulto (Åhman, 1984; Roininen & Tahvanainen, 1989; Kagata & Ohgushi, 2001), lo que puede llevar a conclusiones erróneas acerca del resultado de la performance y por tanto del vínculo entre preferencia y performance.

Por este motivo es relevante aumentar el número de estudios con monófagos que evalúen la performance no solamente del estado larval. Además, es necesario ampliar el estudio a grupos de insectos menos representados debido a que la mayoría de los trabajos de preferencia y performance se han desarrollado en lepidópteros (Gripenberg et al., 2010). En particular, en los himenópteros sólo se encuentra representada la familia Tenthredinidae (suborden Symphyta), con resultados variables de correlación entre preferencia y performance (Roininen & Tahvanainen, 1989; Price et al., 1999; Nagasaka & Ohsaki, 2002; Ferrier & Price, 2004; Digweed, 2006; Müller & Arand, 2007; Braccini et al., 2013).

Por todo esto se trabajó con la avispa sierra monófaga *Tequus schrottkyi* (Konow) (Hymenoptera: Pergidae) cuya planta hospedera es la papa silvestre *Solanum commersonii* (Solanaceae). El género *Tequus* tiene distribución Neotropical, y sus hospederos conocidos son plantas del género *Solanum* (Schmidt & Smith, 2006). Estudios previos con *T. schrottkyi* frente a *S. commersonii* y a la papa cultivada *S. tuberosum*, mostraron que las larvas prefirieron alimentarse de su planta hospedera, aunque también consumieron a *S. tuberosum*. Además, al menos parte de esa preferencia se debió a los glicoalcaloides de *S. commersonii* (Altesor et al., 2014). Los glicoalcaloides son metabolitos secundarios tóxicos característicos de las solanáceas, que otorgan resistencia a la herbivoría (Tingey, 1984; Flanders et al., 1992; Guntner et al., 1997, 2000; Fragoyiannis et al., 1998; Kowalski et al., 1999; Yencho et al., 2000; Friedman, 2002; Jansky et al., 2009; Nenaah, 2011). Comparativamente, *S. commersonii* posee una concentración y diversidad mayor de glicoalcaloides que *S. tuberosum* (Altesor et al., 2014). Si bien los glicoalcaloides de *S. commersonii* son fagoestimulantes para las larvas de *T. schrottkyi*, consumir una mayor cantidad puede tener un efecto negativo en la performance de este

insecto, tal como se ha visto en otros especialistas adaptados a los metabolitos secundarios tóxicos de sus plantas hospederas (Ali & Agrawal, 2012).

Los objetivos de este trabajo fueron (1) evaluar la correlación entre la preferencia de oviposición de las hembras de *T. schrottkyi* y la performance de sus estados inmaduros en *S. commersonii* y *S. tuberosum* y (2) asociar los metabolitos primarios y secundarios de las dos *Solanum* con el resultado de preferencia y performance de *T. schrottkyi*. Bajo la hipótesis de restricción neuronal, se espera que las hembras de *T. schrottkyi* dejen más huevos en la especie de *Solanum* donde su descendencia se desarrolla mejor. Para evaluar esta predicción se estudió comparativamente la performance de las larvas hasta la emergencia de los adultos en ambas *Solanum*, así como la preferencia de oviposición de las hembras teniendo como opciones dichas plantas. También se analizaron los principales metabolitos primarios indicadores de calidad nutricional de las plantas (proteínas, carbohidratos no estructurales y agua), que, en conjunto con los glicoalcaloides evaluados en un estudio previo, se relacionaron con el resultado de preferencia y performance de *T. schrottkyi*.

Materiales y Métodos

Plantas e Insectos

Se trabajó con clones de *S. commersonii* (accesión 05.02–6) y *S. tuberosum* (var. Iporá) obtenidos de un banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA-Las Brujas, Canelones, Uruguay). Las plantas se propagaron bajo flujo laminar a partir de cortes internodales de los tallos conteniendo una sola yema, y se mantuvieron *in vitro* por 15 días en medio con agar enriquecido en sales, vitaminas y sacarosa (Murashige & Skoog, 1962; Staba, 1969) y condiciones controladas de luz, temperatura y fotoperiodo (3000 lux, 21 ± 2 °C; 16:8 h L:O). Una vez alcanzados los cuatro nodos, se transfirieron a almaciguera con tierra y se mantuvieron en invernáculo por 15 días. Al cabo de ese tiempo se transfirieron a recipientes de mayor tamaño (6 x 7 cm, diámetro y altura) y se mantuvieron en el invernáculo por 15-30 días adicionales antes de utilizarlos en los experimentos o para el mantenimiento de los insectos.

Las plantas se utilizaron en su fase vegetativa previa a la floración, conteniendo de 8 a 16 hojas completamente desarrolladas, cada una con 5-7 folíolos.

Huevos y larvas de *T. schrottkyi* fueron colectados en plantas silvestres de *S. commersonii* en INIA-Las Brujas, entre marzo y julio de 2014 y 2015 y fueron mantenidos en laboratorio sobre *S. commersonii* bajo condiciones controladas (5000 lux, 21 ± 3 °C, 50 ± 10 % HR, 14:10 h L:O) hasta su uso como larvas o adultos. Asimismo, la generación siguiente de larvas (generación de laboratorio) fue utilizada también en los experimentos de performance.

Performance

Para evaluar la performance de los estados inmaduros de *T. schrottkyi*, se colocó una larva de estadio I-II (24-48 h de emergidos) por planta de *S. commersonii* y *S. tuberosum* de la misma edad (N = 35 y 36 larvas, respectivamente). Las plantas fueron mantenidas de forma individual dentro de recipientes de plástico (24 x 20 x 20 cm, altura, ancho y profundidad) cerrados con tela voile (Fig. 1, izquierda). Cada dos días durante 30 días se registró la etapa de desarrollo de los individuos y su peso (balanza de precisión 0.01 mg), para obtener datos de supervivencia, tiempo de desarrollo y peso de larvas y pupas, así como emergencia y sexo de adultos en cada planta (Fig. 1, derecha). Debido al comportamiento de enterramiento de las larvas para pupar, no se pudo registrar en todos los casos la formación y peso de las pupas. Sin embargo, en todos los casos se cuenta con datos de emergencia de los adultos.

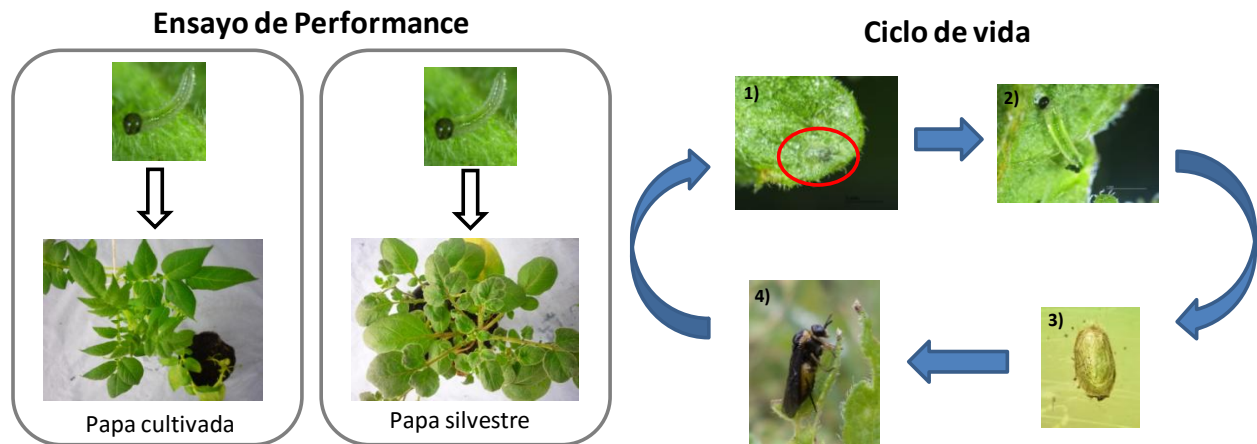


Figura 1. Izquierda: Esquema del experimento de performance de la avispa sierra *T. schrottkyi* sobre plantas individualizadas de *S. tuberosum* y *S. commersonii*. Derecha: ciclo de vida de la avispa sierra *T. schrottkyi*, del cual fue analizado para el experimento de performance la supervivencia, el tiempo de desarrollo y peso de larvas (2) y pupas (3), así como la emergencia y sexo de los adultos (4) en cada especie de *Solanum*. En 1) se circula la etapa de huevo, que es colocado por las hembras dentro de los tejidos de las hojas.

Preferencia de oviposición

Para evaluar la preferencia de oviposición de *T. schrottkyi*, se colocó una hembra virgen (24-48 h de edad) en la base de un recipiente de plástico cerrado con voile (mismas dimensiones que en el ensayo de performance) conteniendo dos plantas, una de *S. commersonii* y la otra de *S. tuberosum* de la misma edad (N = 23 hembras en total) (Fig. 2). En estos insectos las hembras no fecundadas ponen huevos que darán lugar a machos haploides (partenogénesis arrenotoquia). La preferencia de oviposición se evaluó a partir de revisar las plantas cada día durante 8 días para registrar el número de huevos eclosionados por planta. No se realizó el conteo directo de los huevos ya que se depositan dentro del tejido de las hojas, siendo difícil su visualización a simple vista. A su vez, el conteo de las larvas emergidas cada día es una medida confiable de los huevos eclosionados por planta ya que las larvas de los primeros estadios tienen escasa movilidad y se mantienen alimentándose de la misma porción de hoja donde emergieron (obs. pers.). Al finalizar el experimento se revisaron bajo lupa las hojas no consumidas, en busca de huevos no eclosionados.

Los experimentos de preferencia y performance se realizaron en una habitación con iguales condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo que las del mantenimiento de insectos.

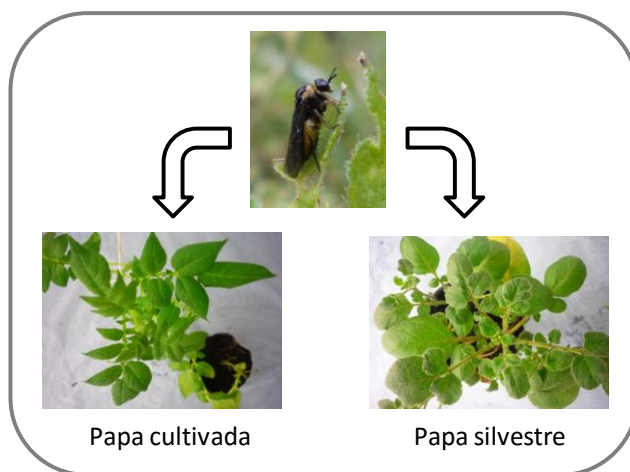


Figura 2. Esquema del experimento de preferencia de oviposición de las hembras de *T. schrottkyi*, que fueron colocadas individualmente en recipientes cerrados conteniendo dos opciones de plantas, la papa cultivada *S. tuberosum* y la papa silvestre *S. commersonii*.

Calidad nutricional de las plantas

Se midió el contenido de proteínas, carbohidratos no estructurales y agua de *S. commersonii* y *S. tuberosum* (N = 5 y N = 4 respectivamente) (servicio realizado por el Laboratorio de Nutrición Animal, Departamento de Producción Animal y Pasturas, de la Facultad de Agronomía). Para ello la parte aérea de las plantas se secó en una estufa a 50 °C hasta que su peso no varió. Se midió el contenido de nitrógeno total (método Kjeldahl) y nitrógeno no proteico para llegar al contenido de proteínas (definido como $6.25 \times \% \text{ nitrógeno proteico}$) (Latimer, 2012). El porcentaje de carbohidratos no estructurales, constituidos por azúcares y almidón, se determinó como el complemento a 100 de la sumatoria de los siguientes contenidos nutritivos medidos: % carbohidratos estructurales, que incluyen celulosa, hemicelulosa y lignina (procedimiento fibra detergente neutro, Fiber Analyzer 200, Ankom Technology Corporation, Fairport, N.Y), % materia inorgánica (procedimiento cenizas totales, en mufla a 600 °C), % lípidos (procedimiento extracto etéreo) y % proteína cruda (método Kjeldahl, nitrógeno total x

6.25) (Van Soest et al., 1991; Latimer, 2012). Todos los porcentajes se calcularon en base a la materia seca de las plantas (en estufa a 105 °C).

Análisis estadístico

La supervivencia de los individuos en ambas plantas fue comparada mediante el test de Chi-Cuadrado, utilizando la corrección de Yates cuando las frecuencias esperadas fueron menores a 5. El tiempo de desarrollo y peso de larvas y pupas se compararon mediante el test de Student, previa transformación de los datos de tiempo a \sqrt{x} . Los valores de calidad nutricional de las plantas se compararon mediante la prueba U de Mann-Whitney. Se consideraron diferencias significativas cuando $P < 0.05$. Los datos están expresados en promedio \pm EE.

Resultados

Performance

Los resultados de performance mostraron diferencias en la supervivencia de la descendencia de *T. schrottkyi* en *S. commersonii* y *S. tuberosum*, ya que emergió un mayor número de adultos en su planta hospedera *S. commersonii* (Test de Chi-Cuadrado, $P = 0.003$) (Fig. 3). Al considerar por separado las etapas de desarrollo, no se encontraron diferencias en la supervivencia de la etapa larval entre las dos *Solanum*, pero sí en el pasaje de larva a adulto (Test de Chi-Cuadrado, $P > 0.05$ y $P = 0.014$ para la etapa larval y de ésta a adulto, respectivamente) (Fig. 3). Por su parte, no hubo diferencias en la proporción sexual de los adultos obtenidos en ambas especies de plantas, emergiendo igual número de hembras que de machos (Test de Chi-Cuadrado, $P = 0.82$).

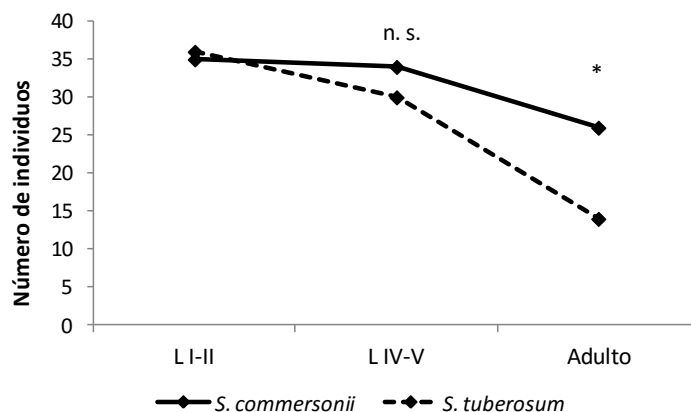


Figura 3. Supervivencia de *T. schrottkyi* en *S. commersonii* y *S. tuberosum*. L I-II y L IV-V: larvas de estadios I-II y IV-V (finales), n. s. = no significativo; * = $P < 0.05$.

En cuanto al tiempo de desarrollo, no se encontraron diferencias significativas entre larvas ni entre pupas mantenidas en *S. commersonii* y *S. tuberosum* (Test de Student, $t = -0.4$, $P = 0.69$, y $t = 0.73$, $P = 0.47$ para larvas y pupas respectivamente) (Fig. 4a). Con el peso ocurrió algo similar, no existiendo diferencias en el peso máximo alcanzado por las larvas al final de su desarrollo ni en el de las pupas criadas en *S. commersonii* y *S. tuberosum* (Test de Student, $t = -0.25$, $P = 0.8$ y $t = -0.91$, $P = 0.37$ para larvas y pupas respectivamente; $N = 18$ y $N = 14$ para las pupas en *S. commersonii* y *S. tuberosum* respectivamente) (Fig. 4b).

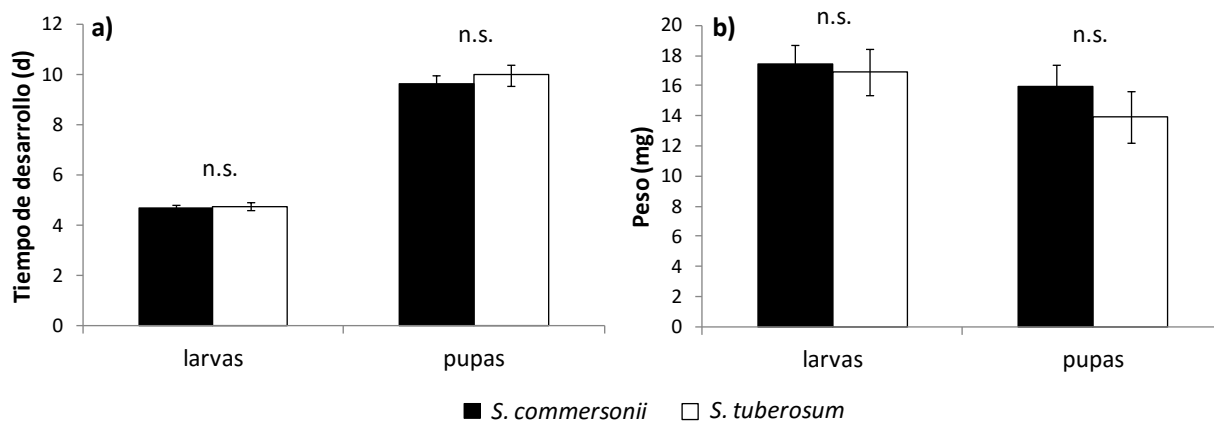


Figura 4 **a)** Tiempo de desarrollo y **b)** peso de larvas (de los últimos estadios) y pupas de *T. schrottkyi* en *S. commersonii* y *S. tuberosum*; n.s. = no significativo.

Preferencia de oviposición

Las hembras de *T. schrottkyi* ovipusieron exclusivamente en *S. commersonii* frente a la opción de *S. tuberosum*. El número de huevos depositados por hembra, medido a través de su eclosión, fue de 24.7 ± 2.3 huevos. En *S. tuberosum*, además de que no hubo eclosión de huevos, no se encontraron huevos no eclosionados. La eclosión se registró entre el día 4 y 7, con un pico el día 5. Las hembras sobrevivieron 2.3 ± 0.2 días.

Calidad nutricional de las plantas

En cuanto a la calidad nutricional de las dos *Solanum*, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de proteínas y carbohidratos no estructurales entre ambas plantas, mientras que el contenido de agua fue mayor en *S. tuberosum* (Tabla I).

Tabla I. Contenido de proteínas, carbohidratos no estructurales y agua en *S. commersonii* y *S. tuberosum*.

	<i>S. commersonii</i>	<i>S. tuberosum</i>	Prueba U de Mann-Whitney
Proteínas (%)	23.7 ± 0.6	21.7 ± 0.6	W = 13; P = 0.11
Carbohidratos no estructurales (%)	28.5 ± 1.2	24.6 ± 0.5	W = 13; P = 0.11
Agua (%)	92.4 ± 0.3	94.1 ± 0.2	W = 30; P = 0.02

Discusión

El estudio de preferencia y performance realizado con el himenóptero monófago *T. schrottkyi* mostró una correlación positiva entre la preferencia de oviposición de las hembras y la performance de sus estados inmaduros, ya que ovipusieron exclusivamente en la papa silvestre *S. commersonii*, donde la descendencia tuvo una mayor supervivencia respecto a la papa cultivada *S. tuberosum*. Estos resultados apoyan la hipótesis de restricción neuronal, que plantea que los especialistas, a diferencia de los generalistas, tienen que procesar una menor cantidad de estímulos debido a la menor diversidad de plantas que consumen, por lo que tendrán mayor capacidad de discriminar entre plantas que proveen diferente performance de la descendencia, seleccionando la más adecuada para su desarrollo (Levins & MacArthur, 1969; Bernays, 1998).

Al analizar por separado las etapas de desarrollo, se obtuvo que en la etapa larval no hubo diferencias en la supervivencia de las larvas alimentadas en *S. tuberosum* y *S. commersonii*. Además, tampoco hubo diferencias en el tiempo de desarrollo ni en el peso de larvas y pupas, a pesar de que emergió un menor número de adultos en *S. tuberosum*. Estos resultados muestran la importancia de realizar estudios de performance considerando todo el desarrollo inmaduro, no solamente la etapa larval. Son varios los estudios de preferencia y performance con monófagos donde se ha evaluado la performance solo de la etapa larval (Åhman, 1984; Roininen & Tahvanainen, 1989; Ohsaki & Sato, 1994; Price et al., 1999; Kagata & Ohgushi, 2001; Nagasaka & Ohsaki, 2002; Van Nouhuys et al., 2003; Ferrier & Price, 2004; Singer et al., 2004; Müller & Arand, 2007), lo que podría llevar a conclusiones erróneas acerca del link entre preferencia y performance.

Al analizar las posibles causas de la mejor performance de los estados inmaduros de *T. schrottkyi* en *S. commersonii*, la calidad nutricional no explicaría las diferencias encontradas, ya que las dos plantas de este estudio no se diferenciaron en el contenido de proteínas y carbohidratos no estructurales, mientras que el contenido de agua fue mayor en *S. tuberosum*. Por su parte, los mayores niveles de glicoalcaloides de *S. commersonii*, presentes en una

concentración de más del doble que en *S. tuberosum* (Altesor et al., 2014) no tuvieron un efecto negativo en la performance de *T. schrottkyi*. Por el contrario, podría ser que tuvieran un efecto positivo si fueran incorporados por las larvas durante la alimentación y brindaran protección a las pupas frente a patógenos y/o depredadores del suelo. En ese sentido, sería interesante evaluar por un lado, si las larvas incorporan los glicoalcaloides de estas plantas para su propia defensa y por otro, si las pupas provenientes de larvas alimentadas en *S. commersonii* son más resistentes al ataque de patógenos y/o depredadores que las pupas criadas en *S. tuberosum*.

Alternativamente, los glicoalcaloides de *S. tuberosum* podrían tener un efecto negativo en la performance de *T. schrottkyi*, si el insecto no se encuentra adaptado a estos metabolitos secundarios como sí lo está a los glicoalcaloides de su planta hospedera. *S. commersonii* posee glicoalcaloides glicosilados por tetrasacáridos, siendo los principales identificados dehidro-demissina, demissina, dehidro-commersonina y dehidro-tomatina, mientras que *S. tuberosum* posee glicoalcaloides triglicosilados, siendo los mayoritarios α -solanina y α -chaconina (Altesor et al., 2014). Los dos glicoalcaloides de la papa cultivada se diferencian del glicoalcaloide mayoritario y de un glicoalcaloide minoritario de la papa silvestre (dehidro-demissina y dehidro-commersonina, respectivamente) solamente en la región azucarada, ya que comparten la misma aglicona solanidina. Estas diferencias en el número de azúcares de los glicoalcaloides de ambas *Solanum* podrían ser suficientes para afectar la capacidad de *T. schrottkyi* de lidiar con estos metabolitos secundarios, como se ha encontrado para otros herbívoros (Roddick et al., 1992; Guntner et al., 1997, 2000), con efectos acumulables y observables tardíamente en las pupas.

En cuanto a la elección de oviposición de *T. schrottkyi*, realizada exclusivamente en la papa silvestre *S. commersonii*, podría estar relacionada también con los glicoalcaloides específicos de esta planta hospedera. Las señales de las plantas que las hembras evalúan para oviponer son en última instancia señales químicas de contacto. En particular, los especialistas utilizan fundamentalmente metabolitos secundarios específicos de sus plantas hospederas como señales de oviposición (Bernays & Chapman, 1994; Renwick & Chew, 1994; Honda, 1995;

Bernays, 1998; Schoonhoven et al., 2005). Los metabolitos secundarios, dependiendo de su polaridad y solubilidad, pueden liberarse de los tejidos vegetales donde son producidos y acumularse en la cutícula, o ser contactados a partir del daño en los tejidos productores (Müller & Riederer, 2005). Los glicoalcaloides de este estudio son de polaridad intermedia a muy polares según el pH del medio, por lo que es poco probable que se acumulen en la cutícula que tiene características apolares. Sin embargo, debido a que las hembras de las avispas sierras poseen un ovipositor aserrado que insertan en los tejidos para depositar los huevos en su interior (Smith, 1972; Weltz & Vilhelmsen, 2014), podrían llegar a contactar con estos compuestos en los tejidos del mesófilo donde se producen, y utilizarlos como señales para la detección del hospedero.

En otras avispas sierra se ha demostrado la importancia de los metabolitos secundarios en la selección de la planta hospedera. Por ejemplo, las especies monófagas *Euura amerinae* y *E. lasiolepis* (Tenthredinidae) son capaces de reconocer y seleccionar a su planta hospedera *Salix pentandra* y *S. lasiolepis* respectivamente, en base a los glicósidos fenólicos principales que las caracterizan (2'-O-acetylsalicortina en *S. pentandra* y tremulacina en *S. lasiolepis*), distinguiéndolas de otras especies de *Salix* con distinta composición de glicósidos fenólicos (Kolehmainen, 1994; Roininen et al., 1999). En el caso de *T. schrottkyi*, sería interesante estudiar con más detalle el comportamiento de oviposición de las hembras enfrentadas a las dos *Solanum* y evaluar el efecto de los glicoalcaloides de su planta hospedera en su preferencia de oviposición.

En conclusión, en este trabajo se obtuvo correlación positiva entre la preferencia de oviposición de las hembras de un insecto monófago y la performance de su descendencia enfrentado a su planta hospedera y una especie congénere. La performance diferencial de *T. schrottkyi* no se registró en la etapa larval sino en las etapas de pre-pupa y pupa, emergiendo un mayor número de adultos en su planta hospedera *S. commersonii* respecto a *S. tuberosum*. Este resultado muestra la importancia de realizar estudios considerando el desarrollo hasta el adulto, no solamente de la etapa larval. La performance diferencial no se explicaría por diferencias en la calidad nutricional de las dos especies de *Solanum*, ya que no difirieron en su contenido de

proteínas y carbohidratos no estructurales. Ésta podría explicarse, junto con el resultado de elección de oviposición de las hembras, por los glicoalcaloides específicos de su planta hospedera *S. commersonii*, lo que sería interesante evaluar en futuros estudios. Este trabajo contribuye al estudio de la correlación entre preferencia y performance de monófagos enfrentados a plantas congéneres. Asimismo aporta desde un grupo de insectos menos representado en este tema, como son los himenópteros y en particular la familia Pergidae.

Referencias

- Åhman I (1984) Oviposition and larval performance of *Rabdophaga terminalis* on *Salix* spp. with special consideration to bud size of host plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 35:129–136.
- Ali JG & Agrawal A (2012) Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in plant science* 17:293–302.
- Altesor P, García Á, Font E, Rodríguez-Haralambides A, Vilaró F, Oesterheld M, Soler R & González A (2014) Glycoalkaloids of Wild and Cultivated *Solanum*: Effects on Specialist and Generalist Insect Herbivores. *Journal of Chemical Ecology* 40:599–608.
- Atsatt PR (1981) Ant-Dependent Food Plant-Selection by the Mistletoe Butterfly *Ogyris-Amaryllis* (Lycaenidae). *Oecologia* 48:60–63.
- Bernays EA (1998) The value of being a resource specialist: behavioral support for a neural hypothesis. *The American naturalist* 151:451–464.
- Bernays EA & Chapman RF (1994) *Host-Plant Selection by Phytofagous Insects*. Chapman & Hall, New York.
- Bernays E & Graham M (1988) On the Evolution of Host Specificity in Phytophagous Arthropods Author. *Ecology* 69:886–892.
- Bjorkman C, Larsson S & Bommarco R (1997) Oviposition preferences in pine sawflies: a trade-off between larval growth and defence against natural enemies. *Oikos* 79:45.
- Braccini CL, Vega AS, Chludil HD, Leicach SR & Fernandez PC (2013) Host selection, oviposition behaviour and leaf traits in a specialist willow sawfly on species of *Salix* (Salicaceae). *Ecological Entomology* 38:617–626.
- Clark KE, Hartley SE & Johnson SN (2011) Does mother know best? The preference-performance hypothesis and parent-offspring conflict in aboveground-belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology* 36:117–124.
- Digweed S (2006) Oviposition preference and larval performance in the exotic birch-leafmining sawfly *Profenusa thomsoni*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 120:41–49.

- Ferrier SM & Price PW (2004) Oviposition Preference and Larval Performance of a Rare Bud-Galling Sawfly (Hymenoptera: Tenthredinidae) on Willow in Northern Arizona. *Environmental Entomology* 33:700–708.
- Flanders KL, Hawkes JG, Radcliffe EB & Lauer FI (1992) Insect resistance in potatoes: sources, evolutionary relationships, morphological and chemical defenses, and ecogeographical associations. *Euphytica* 61:83–111.
- Foster SP & Howard AJ (1999) Adult female and neonate larval plant preferences of the generalist herbivore, *Epiphyas postvittana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 92:53–62.
- Fragoyiannis D a, McKinlay RG & D’mello JP (2001) Interactions of aphid herbivory and nitrogen availability on the total foliar glycoalkaloid content of potato plants. *Journal of chemical ecology* 27:1749–62.
- Fragoyiannis DA, Mckinlay RG & Mello JPDF (1998) Studies of the growth, development and reproductive performance of the aphid *Myzus persicae* on artificial diets containing potato glycoalkaloids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88:59–66.
- Friedman M (2002) Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. *Journal of agricultural and food chemistry* 50:5751–80.
- Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M & Roslin T (2010) A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13:383–393.
- Guntner C, Gonzalez A, Dos Reis R, Gonzalez G, Vazquez A, Ferreira F & Moyna P (1997) Effect of Solanum Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *Journal of chemical ecology* 23:1651–1659.
- Guntner C, Vázquez A, González G, Usubillaga A, Ferreira F & Moyna P (2000) Effect of Solanum Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*: Part II. *Journal of Chemical Ecology* 26:1113–1121.
- Harris MO, Sandanayaka M & Griffine W (2001) Oviposition preferences of the Hessian fly and their consequences for the survival and reproductive potential of offspring. *Ecological Entomology* 26:473–486.
- Honda K (1995) Chemical Basis of Differential Oviposition by Lepidopterous Insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 30:1–23.
- Jaenike J (1978) On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical population biology* 14:350–356.
- Jansky SH, Simon R & Spooner DM (2009) A Test of Taxonomic Predictivity: Resistance to the Colorado Potato Beetle in Wild Relatives of Cultivated Potato. *Journal of Economic Entomology* 102:422–431.
- Jiao X, Xie W, Wang S, Wu Q, Zhou L, Pan H, Liu B & Zhang Y (2012) Host preference and nymph performance of B and Q putative species of *Bemisia tabaci* on three host plants. *Journal of Pest Science* 85:423–430.

- Kagata H & Ohgushi T (2001) Preference and performance linkage of a leaf-mining moth on different Salicaceae species. *Population Ecology* 43:141–147.
- Kolehmainen J (1994) Importance of Phenolic Glucosides in Host Selection of Shoot Galling Sawfly. *Journal of chemical ecology* 20:2455–2466.
- Kowalski SP, Domek JM, Deahl KL & Sanford LL (1999) Performance of Colorado Potato Beetle Larvae, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), Reared on Synthetic Diets Supplemented with Solanum Glycoalkaloids. *American Journal of Potato Research* 76:305–312.
- Latimer GW (Ed by) (2012) *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International*. AOAC Inc., Maryland.
- Levins R & MacArthur R (1969) An Hypothesis to Explain the Incidence of Monophagy. *Ecology* 50:910–911.
- Mayhew PJ (1997) Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79:417–428.
- Montoya JM, Pimm SL & Solé R V (2006) Ecological networks and their fragility. *Nature* 442:259–64.
- Müller C & Arand K (2007) Trade-offs in oviposition choice? Food-dependent performance and defence against predators of a herbivorous sawfly. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124:153–159.
- Müller C & Riederer M (2005) Plant surface properties in chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology* 31:2621–2651.
- Murashige T & Skoog F (1962) A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473–497.
- Nagasaka K & Ohsaki N (2002) Differences in host plant selection among three *Athalia* sawflies feeding on crucifers in Japan. *Ecological Entomology* 27:326–336.
- Nenaah GE (2011) Toxic and antifeedant activities of potato glycoalkaloids against *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research* 47:185–190.
- Van Nouhuys S, Singer MC & Nieminen M (2003) Spatial and temporal patterns of caterpillar performance and the suitability of two host plant species. *Ecological Entomology* 28:193–202.
- Ohsaki N & Sato Y (1994) Food Plant Choice of *Pieris* Butterflies as a Trade-off Between Parasitoid Avoidance and Quality of Plants. *Ecology* 75:59–68.
- Pires CSS, Price PW & Fontes EG (2000) Preference-performance linkage in the neotropical spittlebug *Deois flavopicta*, and its relation to the Phylogenetic Constraints Hypothesis. *Ecological Entomology* 25:71–80.
- Potter K a., Bronstein J & Davidowitz G (2012) Choice of oviposition sites by *Manduca sexta* and its consequences for egg and larval performance. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144:286–293.

- Price P, Roininen H & Ohgushi T (1999) Comparative plant-herbivore interactions involving willows and three gall-inducing sawfly species in the genus *Pontania* (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Écoscience* 6:41–50.
- Rausher MD (1979) Larval Habitat Suitability and Oviposition Preference in Three Related Butterflies. *Ecology* 60:503–511.
- Renwick JAA & Chew FS (1994) Oviposition Behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 39:377–400.
- Roddick JG, Rijnenberg AL & Weissenberg M (1992) Alterations to the permeability of liposome membranes by the solasodine-based glycoalkaloids solasonine and solamargine. *Phytochemistry* 31:1951–1954.
- Roininen H, Roininen H, Price PW, Price PW, Julkunen-Tiitto R, Julkunen-Tiitto R, Tahvanainen J, Tahvanainen J, Ikonen a & Ikonen a (1999) Oviposition stimulant for a gall-inducing sawfly, *Euura lasiolepis*, on willow is a phenolic glucoside. *Journal of Chemical Ecology* 25:943–953.
- Roininen H & Tahvanainen J (1989) Host Selection and Larval Performance of Two Willow-feeding Sawflies. *Ecology* 70:129–136.
- Scheirs J, Bruyn LD & Verhagen R (2000) Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267:2065–2069.
- Schmidt S & Smith DR (2006) An Annotated Systematic World Catalogue of the Pergidae (Hymenoptera). *Contributions of the American Entomological Institute* 34:972.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA & Dicke M (2005) *Insect-Plant Biology*. Oxford University Press.
- Singer MS, Rodrigues D, Stireman JO & Carriere Y (2004) Roles of Food Quality and Enemy-Free Space in Host Use by a Generalist Insect Herbivore. *Ecology* 85:2747–2753.
- Smith EL (1972) Biosystematics and morphology of symphyta—III external genitalia of *Euura* (Hymenoptera: Tenthredinidae): sclerites, sensilla, musculature, development and oviposition behavior. *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 1:321–365.
- Van Soest PJ, Robertson JB & Lewis B a. (1991) Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science* 74:3583–3597.
- Soler R, Pineda A, Li Y, Ponzio C, van Loon JJ a., Weldegergis BT & Dicke M (2012) Neonates know better than their mothers when selecting a host plant. *Oikos* 121:1923–1934.
- Staba JE (1969) Plant Tissue Culture as a Technique for the Phytochemist. *Recent Advances in Phytochemistry*. (ed by MK Seikel & VC Runcekles) Appeton-Century-Crofts, New York, pp 75–106.
- Thompson JN (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference

- and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47:3–14.
- Tingey WM (1984) Glycoalkaloids as pest resistance factors. *American Potato Journal* 61:157–167.
- Underwood DL a (1994) Intraspecific variability in host plant quality and ovipositional preferences in *Eucheira socialis* (Lepidoptera: Pieridae). *Ecological Entomology* 1994:245–256.
- Valladares G & Lawton JH (1991) Host-plant selection in the holly leaf-miner: does mother know best? *Journal of Animal Ecology* 60:227–240.
- Weltz C-E & Vilhelmsen L (2014) The saws of sawflies: exploring the morphology of the ovipositor in Tenthredinoidea (Insecta: Hymenoptera), with emphasis on Nematinae. *Journal of Natural History* 48:133–183.
- Wilson MR & Leather SR (2012) The effect of past natural enemy activity on host-plant preference of two aphid species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144:216–222.
- Wise MJ & Weinberg AM (2002) Prior flea beetle herbivory affects oviposition preference and larval performance of a potato beetle on their shared host plant. *Ecological Entomology* 27:115–122.
- Yencho GC, Kowalski SP, Kennedy GG & Sanford LL (2000) Segregation of leptine glycoalkaloids and resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) in F2 *Solanum tuberosum* (4x) x *S. chacoense* (4x) Potato progenies. *American Journal of Potato Research* 77:167–178.

CAPÍTULO III. PREFERENCIA Y PERFORMANCE DE ÁFIDOS GENERALISTAS EN PLANTAS CONGÉNERES CON DISTINTOS NIVELES DE RESISTENCIA A LA HERBIVORÍA

Introducción

El éxito de los insectos fitófagos con estados inmaduros poco móviles y sin cuidado parental depende estrechamente de que las hembras elijan la planta adecuada para oviponer (Jaenike, 1978; Thompson, 1988; Mayhew, 1997). Por lo tanto, existe una fuerte presión de selección hacia la capacidad de detectar los hospederos más adecuados. En ese marco, se espera que la elección de oviposición de las hembras refleje la performance de la descendencia, lo que se ha denominado hipótesis de preferencia y performance, o también conocida coloquialmente como “mother knows best” (Thompson, 1988; Mayhew, 1997).

Sin embargo, se ha visto que las hembras de algunas especies tienen limitada capacidad de discriminar entre hospederos con diferente idoneidad para el desarrollo de la descendencia (Rausher, 1979; Valladares & Lawton, 1991; Underwood, 1994; Mayhew, 1997; Price et al., 1999; Pires et al., 2000; Harris et al., 2001; Ferrier & Price, 2004; Digweed, 2006; Clark et al., 2011; Jiao et al., 2012; Potter et al., 2012). Este desajuste podría estar relacionado, entre otros factores, con la capacidad de los adultos de alimentarse, con la distribución agrupada o aislada de los huevos, con la predictibilidad temporal del hospedero o con la amplitud de dieta (Thompson, 1988; Mayhew, 1997; Foster & Howard, 1999; Scheirs et al., 2000; Gripenberg et al., 2010; Soler et al., 2012). Un trabajo reciente que analiza la correlación de los posibles factores con los resultados de preferencia y performance, encontró que sólo la amplitud de dieta explicaría la ausencia de correlación, ya que los polífagos y monófagos tuvieron un menor ajuste que oligófagos en su elección de oviposición (Gripenberg et al., 2010).

La menor capacidad de los polífagos se explicaría por la hipótesis de restricción neuronal. Esta hipótesis plantea que, si el procesamiento de información es un problema para los insectos dada su limitada capacidad neuronal, los polífagos (también denominados generalistas) tendrán mayores dificultades que los oligófagos y monófagos (también denominados especialistas) al estar enfrentados a una mayor diversidad de estímulos provenientes de sus plantas hospederas (Levins & MacArthur, 1969; Bernays, 1998). Siendo que menos del 10 % de los insectos fitófagos son generalistas, la ventaja que otorga un rango alimenticio más amplio, tanto por la

mayor disponibilidad de hospederos como por el acceso a una dieta mixta, estaría opacada en gran medida por una tasa mayor de errores o una demora en la elección del hospedero adecuado. La consecuencia de elegir un hospedero inadecuado puede significar en forma extrema la muerte de toda la progenie, y la demora en el tiempo de elección, una mayor exposición a enemigos naturales por encontrarse “distráido” en la elección del hospedero (Bernays & Graham, 1988; Bernays, 1998, 2001; Bernays & Funk, 1999; Janz, 2003).

En cuanto a los monófagos, la menor correlación entre preferencia y performance podría estar relacionada con la dificultad de discriminar entre hospederos del mismo género, por ser muy similares (Gripenberg et al., 2010). Sin embargo, esta hipótesis no resulta muy convincente ya que existe amplia evidencia de que los insectos especialistas son capaces de discriminar a nivel especie-específico (Renwick & Chew, 1994; Honda, 1995; Schoonhoven et al., 2005). Una explicación plausible es que en varios de los trabajos se midió la performance sólo de la etapa larval, sin considerar el desarrollo hasta el adulto, lo que puede llevar a resultados erróneos (ver Capítulo II). A su vez, habría que aumentar el número de trabajos en este grupo, ya que se encuentran menos representados en relación a oligófagos y polífagos.

También dentro de los polífagos podría existir un sesgo en los resultados debido a que la mayoría de los estudios se ha realizado en lepidópteros (Gripenberg et al., 2010). El meta-análisis de Gripenberg et al. (2010) demuestra esta tendencia, con escasa o nula representación de otros grupos de insectos, como es el caso de los áfidos (ver material suplementario S3 de ese meta-análisis). Los áfidos (Hemiptera: Aphididae) se caracterizan por estar cerca del extremo especialista en el continuo entre generalistas y especialistas, con sólo el 1 % de las especies polífagas (Margaritopoulos et al., 2005; Peccoud et al., 2010). Incluso dentro de los áfidos polífagos se han identificado razas o biotipos especializados en determinados hospederos, lo que sugiere procesos de especiación por adaptación a determinadas plantas (Peccoud et al., 2010), y posiblemente también una ventaja adaptativa de la especialización por sobre una mayor amplitud de dieta. Los estudios de correlación entre preferencia y performance en áfidos polífagos han sido variables, indicando tanto una baja eficiencia para discriminar entre hospederos (medida como la exactitud o el tiempo de respuesta en la

elección) (Bernays & Funk, 1999; Powell & Hardie, 2000; Vargas et al., 2005) como igual capacidad entre generalistas y especialistas (Nikolakakis et al., 2003; Tosh et al., 2003; Margaritopoulos et al., 2005; Gorur et al., 2007).

En la discriminación de hospederos, los áfidos utilizan características de la superficie de la planta como los exudados de tricomas glandulares, ceras epicuticulares y textura de las hojas; subcuticulares provenientes de la epidermis, mesófilo y parénquima que contactan durante la inserción del estilete; y nutricionales del floema (Powell et al., 2006). Específicamente, el rol de los tricomas en la resistencia a los áfidos ha sido ampliamente estudiado, estando muy bien documentado en las solanáceas formadoras de tubérculos (Gibson, 1971; Tingey & Laubengayer, 1981; Tingey & Sinden, 1982; Gregory *et al.*, 1986; Avé *et al.*, 1987; Flanders *et al.*, 1992; Alvarez *et al.*, 2006; Pelletier *et al.*, 2013). Sobre los metabolitos secundarios de la planta, si bien su actividad deterrente ha sido probada frente a áfidos (Schoonhoven & Derksen-Koppers, 1976; Guntner et al., 1997, 2000; Fragoyiannis et al., 1998; Altesor et al., 2014), su rol es menos evidente que para los masticadores, debido a la forma de alimentación de los áfidos. Los metabolitos secundarios son producidos en células del mesófilo, y aunque puedan ser translocados al floema, sólo algunos son móviles en su forma activa, de forma que, salvo breves contactos de prueba en el mesófilo en la fase inicial de alimentación, en la mayoría de los casos los áfidos no están expuestos a los metabolitos secundarios de las plantas (Peccoud et al., 2010; Züst & Agrawal, 2016). No obstante, sólo el contacto con estos compuestos durante la inserción del estilete en las células del mesófilo, es suficiente para provocar una respuesta deterrente de alimentación en los áfidos (Powell et al., 2006). Finalmente, la calidad nutricional del floema es fundamental en el éxito reproductivo de los áfidos, particularmente el contenido de nitrógeno soluble, disponible en los aminoácidos (Awmack & Leather, 2002).

Los áfidos generalistas *Myzus persicae* (Sulzer) y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) tienen gran importancia económica en cultivos hortícolas. En Uruguay se reproducen sólo partenogénicamente, por lo que existen sólo hembras que dan lugar a hembras genotípicamente idénticas (Bentancourt et al., 2009). Tanto las ninfas como las hembras adultas son ápteras, pero en condiciones desfavorables como superpoblación o reducción de la

calidad del alimento, se producen hembras adultas aladas, que pueden migrar en busca de nuevos hospederos (Fig. 1). Además, debido a que los áfidos reproduciéndose asexualmente no ponen huevos sino directamente ninfas (viviparidad), poseen una capacidad de crecimiento poblacional muy rápida y por tanto pueden resultar muy perjudiciales en los cultivos (Saguez et al., 2013). En la papa cultivada *Solanum tuberosum* (Solanaceae), son considerados plagas de mayor relevancia, especialmente por la transmisión de virus patógenos (Radcliffe & Ragsdale, 2002).

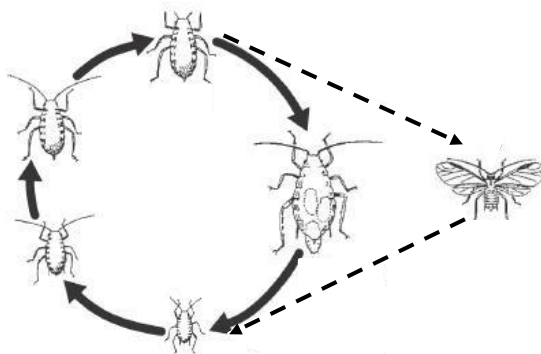


Figura 1. Ciclo de vida de los áfidos que se reproducen únicamente por partenogénesis. Las hembras son vivíparas, depositan directamente ninfas que pasan por diferentes estadios ninfales hasta alcanzar la adultez. Eventualmente se pueden producir hembras aladas en respuesta a condiciones desfavorables para el desarrollo, teniendo capacidad para migrar en busca de nuevos hospederos.

En relación a la susceptibilidad de *S. tuberosum*, se han estudiado especies congéneres silvestres que resultan más resistentes a la herbivoría, fundamentalmente por los glicoalcaloides y los tricomas que poseen, estos últimos más efectivos frente a insectos pequeños (Tingey et al., 1981; Flanders et al., 1992; Vargas et al., 2005; Pelletier et al., 2013). En particular, la especie silvestre *S. commersonii*, cuyo centro de distribución se encuentra en Uruguay (Spooner & Hijmans, 2001) presenta glicoalcaloides deterrentes de asentamiento para *M. persicae*, aunque sin efecto para *M. euphorbiae* (Altesor et al., 2014). Estudiar de forma comparativa factores de resistencia a insectos plaga en especies cultivadas y parientes

silvestres puede contribuir a mejorar las características de resistencia de las cultivadas a través de programas de mejoramiento genético.

El objetivo de este trabajo fue (1) estudiar la correlación entre preferencia y performance de los áfidos generalistas *M. persicae* y *M. euphorbiae* frente a la papa cultivada *S. tuberosum* y la especie silvestre *S. commersonii*; (2) evaluar características morfológicas y nutricionales de ambas *Solanum* que podrían explicar los resultados de preferencia y performance y (3) explorar rasgos morfológicos de los áfidos en relación con factores de resistencia superficial de la planta. En base a la hipótesis de restricción neuronal mencionada previamente, se plantea que los áfidos generalistas de este estudio no serán capaces de discriminar entre las dos especies de plantas si éstas proveen diferente performance de la descendencia, asentándose y larviponiendo por igual en ambas especies. Por otra parte, debido a los procesos de domesticación de las plantas cultivadas, que conllevan en general una mayor asignación de recursos a desarrollo en perjuicio de la asignación de recursos a defensa, se espera que la especie cultivada presente menor desarrollo de tricomas que la especie silvestre. Para evaluar estas predicciones se estudió la performance de *M. persicae* y *M. euphorbiae* frente a *S. tuberosum* y *S. commersonii* y la preferencia de asentamiento y larviposición de estos áfidos teniendo como opciones las dos especies de papas. La resistencia a través de tricomas se midió mediante la descripción y cuantificación de los tricomas en ambas *Solanum*. Además se midió el contenido total de nitrógeno, como una medida de calidad nutricional de la planta que puede afectar la performance de los áfidos. Por último, se midió la longitud de las patas de los áfidos, lo que podría asociarse con una diferente susceptibilidad a los tricomas en las *Solanum* de este estudio.

Materiales y Métodos

Plantas e insectos

Se trabajó con clones de *S. commersonii* (accesión 05.02–6) y *S. tuberosum* (var. Iporá) obtenidos de un banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA-Las Brujas, Canelones, Uruguay). Las plantas se propagaron bajo flujo laminar a partir de

cortes internodales de tallos conteniendo una sola yema, y se mantuvieron *in vitro* por 15 días en medio con agar enriquecido en sales, vitaminas y sacarosa (Murashige & Skoog, 1962; Staba, 1969) y condiciones controladas de luz, temperatura y fotoperiodo (3000 lux, 21 ± 2 °C; 16:8 h L:O). Una vez alcanzados los cuatro nodos, se transfirieron a almáciguera con tierra y se mantuvieron en invernáculo por 15 días. Al cabo de ese tiempo se transfirieron a recipientes de mayor tamaño (6 x 7 cm, diámetro y altura) y se mantuvieron en el invernáculo por 15-30 días adicionales antes de utilizarlos en los experimentos o para el mantenimiento de los insectos. Las plantas se utilizaron en su fase vegetativa previo a la floración, conteniendo de 8 a 16 hojas completamente desarrolladas, cada una con 5-7 folíolos.

Los áfidos fueron obtenidos de campo en el sur de Uruguay, *M. persicae* sobre un cultivo de papa (*S. tuberosum*), y *M. euphorbiae* sobre tomate (*Lycopersicon esculentum*). En laboratorio se mantuvieron por más de 1 año por reproducción partenogenética sobre morrón (*Capsicum annuum*) en el caso de *M. persicae* y sobre *S. tuberosum* y *S. commersonii* (clones descritos anteriormente) en el caso de *M. euphorbiae*. Ambas crías de áfidos fueron mantenidas en una incubadora bajo condiciones controladas (19 ± 1 °C, 60 ± 10 % HR, 14:10 h L:O).

Performance

Se realizaron ensayos de performance para *M. persicae* y *M. euphorbiae* en plantas de *S. tuberosum* y *S. commersonii*. Para ello se colocaron 10 hembras ápteras (1-5 días de edad) por planta con ayuda de un pincel humedecido, individualizando las plantas dentro de recipientes de plástico (20 x 20 x 24 cm) cerrados con voile (Fig. 2). En el caso de *M. persicae* se contabilizó cada día durante 5 días el número de áfidos presentes por planta (N = 20 plantas de cada especie) mientras que para *M. euphorbiae* se contabilizaron cada 2-3 días durante 12 días. De esta forma se registró como performance de forma conjunta la capacidad reproductiva de las hembras y la supervivencia de las hembras y sus crías en cada *Solanum*. En el caso de *M. euphorbiae* se evaluó el efecto de la planta de cría en su performance sobre ambas especies de plantas, por lo que se realizaron ensayos tanto para áfidos mantenidos en *S. tuberosum* como en *S. commersonii* (N = 18 plantas de cada especie para cada planta hospedera de cría). Tanto

los experimentos de performance como los siguientes de preferencia se llevaron a cabo en una habitación con condiciones controladas (21 ± 3 °C, 50 ± 10 % HR, 14:10 h L:O).

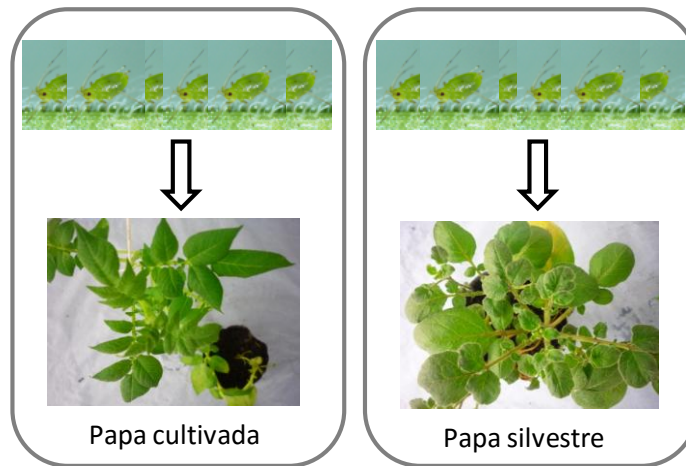


Figura 2. Esquema del experimento de performance de los áfidos *M. persicae* y *M. euphorbiae*, en el que se colocaron 10 hembras ápteras de la misma especie por planta de *S. tuberosum* y *S. commersonii*, individualizadas dentro de recipientes cerrados. Según la especie de áfido, se contabilizó el número de áfidos presentes por planta en días consecutivos o alternados, para evaluar la capacidad reproductiva y supervivencia de las hembras y su descendencia, en forma conjunta.

Preferencia

Se evaluó la preferencia de asentamiento y larviposición de *M. persicae* y *M. euphorbiae* frente a *S. tuberosum* y *S. commersonii* en ensayos de elección dual con ambas plantas. Para ello se obtuvieron áfidos alados (1-5 días de edad) a partir de generar superpoblación en las plantas de cría, seleccionando preferentemente aquellos que se encontraron afuera de las plantas en las paredes y la parte superior del recipiente de cría, ya que esto indicaría una mayor disposición a la búsqueda de un nuevo hospedero. Los áfidos alados se colectaron con un aspirador manual y se colocaron en la base de un recipiente de plástico (20 x 20 x 24 cm) cerrado con voile, conteniendo una planta de *S. tuberosum* y otra de *S. commersonii* en macetas plásticas individuales (Fig. 3). A las 24 y 48 h se registró la ubicación de los alados y el número de ninfas

larvipuestas en cada especie de planta. En el caso de *M. persicae* (N = 18 réplicas) se colocaron de 3-5 alados por recipiente. En el caso de *M. euphorbiae* se colocaron 5 alados por recipiente, y se evaluó el efecto de la planta de cría en la preferencia de asentamiento y larviposición, realizando pruebas tanto para alados criados en *S. tuberosum* como en *S. commersonii* (N = 20 réplicas para cada planta hospedera de cría).

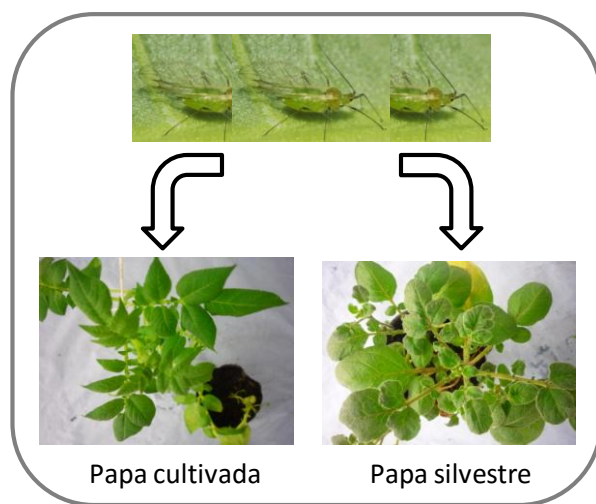


Figura 3. Esquema del ensayo de preferencia de asentamiento y larviposición de los áfidos alados *M. persicae* (3-5 alados por recipiente) y *M. euphorbiae* (5 por recipiente), realizado por separado para cada especie y teniendo como opciones una planta de *S. tuberosum* y una de *S. commersonii* en un recipiente cerrado. Se registró a las 24 h y 48 h el porcentaje de alados asentados en cada especie de planta y el número de ninfas larvipuestas por alado por planta.

Densidad de tricomas, nitrógeno total de las plantas y longitud de patas

La pilosidad foliar (tricomas simples y glandulares) se midió en plantas de *S. tuberosum* y *S. commersonii* de la misma edad, mantenidas en las mismas condiciones sobre tierra. De cada planta se muestreó el foliolo apical de tres hojas completamente desarrolladas, cada una representativa de la parte inferior, media y superior de la planta (N = 10 plantas por especie). Los folíolos se colocaron en una mezcla 1:1 de etanol 70 % y glicerina para su diafanización y

conservación. Se realizaron preparados con glicerina de la región central de cada folíolo, eliminando la nervadura principal para una mejor preparación. Los tricomas se describieron y cuantificaron mediante observación al microscopio óptico (400X y 100X, respectivamente) sobre la cara abaxial de cinco campos elegidos al azar dentro de cada folíolo ($0,64 \text{ mm}^2 \times$ campo, $9,6 \text{ mm}^2$ en total por planta). En particular, se midió la longitud de los tricomas simples de tamaño intermedio (tricomas de 3 células en serie) con la escala micrométrica del microscopio (N = 20 y N = 16 tricomas para *S. tuberosum* y *S. commersonii*, respectivamente). Los diferentes tipos de tricomas fueron fotografiados para su registro, utilizando una cámara externa.

El contenido de nitrógeno total (%) de la parte aérea de *S. tuberosum* y *S. commersonii* se determinó por combustión en un Analizador Elemental CHNS Thermo Scientific Flash 2000, utilizando 2-3 mg de materia seca molida (secada en estufa a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta que su peso no varió) (N = 6 plantas/especie) (servicio realizado por el Departamento de Química Inorgánica de Facultad de Química).

Para medir la longitud de las patas (fémur y tibia) de *M. persicae* y *M. euphorbiae*, se extrajo una pata correspondiente al primer par en hembras ápteras de cada especie, colectadas de las plantas de cría y mantenidas en alcohol 70 %. Las medidas del largo del fémur y la tibia se realizaron mediante fotografía en una lupa calibrada (N = 10 patas de cada especie).

Análisis estadístico

Los datos de performance fueron analizados mediante ANOVA de medidas repetidas en el tiempo, previa transformación del número de individuos a \sqrt{x} . En el caso de la preferencia, la proporción de alados asentado en cada especie de planta fue analizada mediante el test de Student para muestras apareadas, previa transformación a $\arcseno(x)$. Por su parte, mediante el test de Student para muestras independientes se comparó el número de ninfas larvipuestas por alado presente en cada especie de planta (previa transformación a $\sqrt{(x+1)}$), la densidad de tricomas (previa transformación a \sqrt{x}) y el contenido de N total en las dos especies, así como el largo de las patas en *M. persicae* y *M. euphorbiae*. Los datos están expresados en promedio \pm EE. Se consideraron diferencias significativas cuando $P < 0.05$.

Resultados

Performance

Los resultados de la performance de *M. persicae* y *M. euphorbiae* en *S. tuberosum* y *S. commersonii* mostraron diferencias importantes entre ambas especies de áfidos. *M. persicae* sobrevivió y se reprodujo en *S. tuberosum* mientras que en *S. commersonii* prácticamente no sobrevivió al cabo de los 5 días de observación (ANOVA de medidas repetidas: $F_{(1,38)} = 183.52$, $P < 0.001$) (Fig. 4A). En cambio, *M. euphorbiae* no tuvo diferencias en su performance sobre las dos plantas de estudio, independientemente de la planta en la que fueron criados previo al experimento (ANOVA de medidas repetidas: $F_{(3,68)} = 1.82$, $P = 0.15$) (Fig 4B).

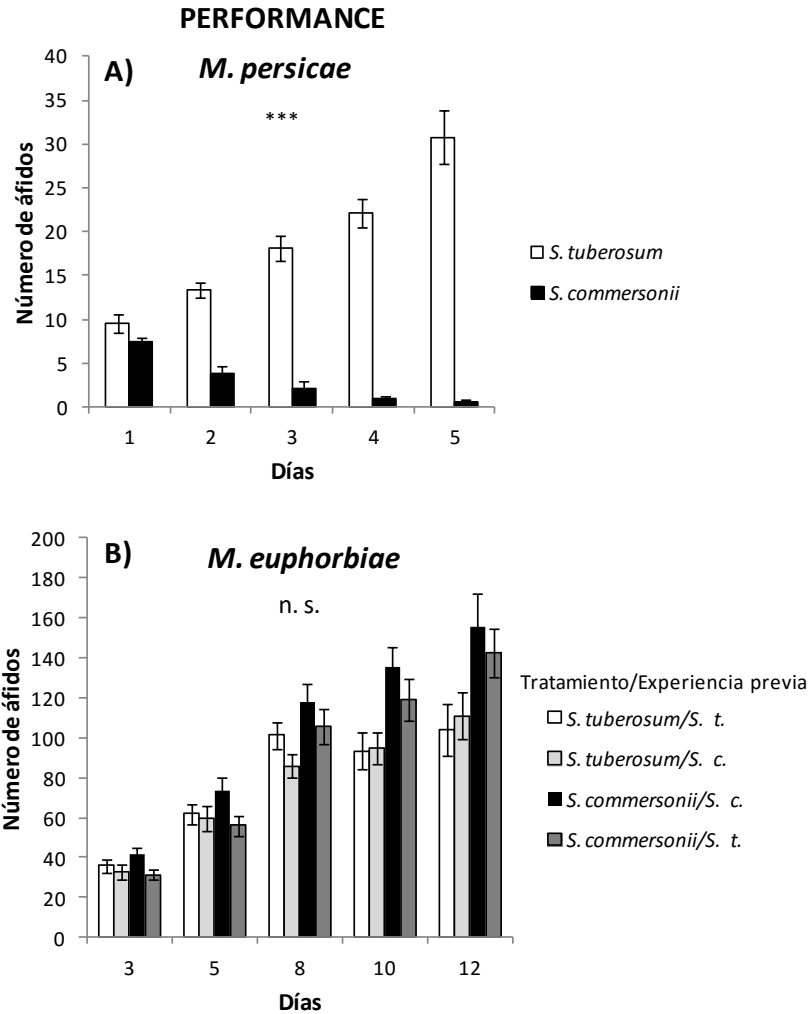


Figura 4. Performance de *M. persicae* (A) durante 5 días consecutivos y de *M. euphorbiae* (B) durante 12 días (observaciones cada 2-3 días) en *S. tuberosum* y *S. commersonii*. Para *M. euphorbiae* se evaluaron las dos condiciones de cría (*S. tuberosum*: *S. t.*, *S. commersonii*: *S. c.*) para ambos tratamientos. *** = $P < 0.001$; n. s. = no significativo.

Preferencia

En cuanto a la preferencia de asentamiento de los áfidos alados en *S. tuberosum* y *S. commersonii*, para *M. persicae* no se encontraron diferencias significativas a las 24 h de iniciado el experimento, ya que se asentaron por igual en ambas especies de plantas (test de Student: $t = -1.75$, $P = 0.1$). Sin embargo a las 48 h se encontró una mayor cantidad de alados en *S.*

tuberosum (test de Student: $t = -3.65$, $P = 0.002$) (Fig 5A1). Esto se debió fundamentalmente a una mayor mortalidad de alados en *S. commersonii* (25 % vs. 5 % en *S. tuberosum*) ya que en menor medida ocurrió el pasaje de *S. commersonii* a *S. tuberosum* (8 % pasaron a *S. tuberosum*, ninguno a *S. commersonii*). Respecto a las ninfas larvipuestas por adulto de *M. persicae* presente en cada planta, a las 24 h no hubo diferencias significativas pero sí a las 48 h, encontrándose un mayor número en *S. tuberosum* (test de Student para muestras independientes: $t = -1.95$, $P = 0.062$ (24 h), $t = -2.14$, $P = 0.042$ (48 h)) (Fig. 5A2).

En el caso de *M. euphorbiae* no hubo diferencias en el porcentaje de alados asentados entre las dos *Solanum* para ninguna de las observaciones realizadas (24 y 48 h) ni respecto a la planta en la que fueron criados (test de Student para los áfidos criados en *S. tuberosum*: $t = -0.82$, $P = 0.42$ (24 h), $t = -0.52$, $P = 0.61$ (48 h); criados en *S. commersonii*: $t = -1.73$, $P = 0.1$ (24 h), $t = -1.57$, $P = 0.13$ (48 h)). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el número de ninfas larvipuestas por adulto presente en cada planta, para ninguna de las observaciones realizadas (24 y 48 h), ni en relación a la planta en la que los alados fueron criados (test de Student para las ninfas provenientes de alados criados en *S. tuberosum*: $t = 0.72$, $P = 0.48$ (24h), $t = 1.52$, $P = 1.14$ (48 h); provenientes de alados criados en *S. commersonii*: $t = 0.59$, $P = 0.56$ (24 h), $t = 1.68$, $P = 0.10$ (48 h) (Fig. 5B,C).

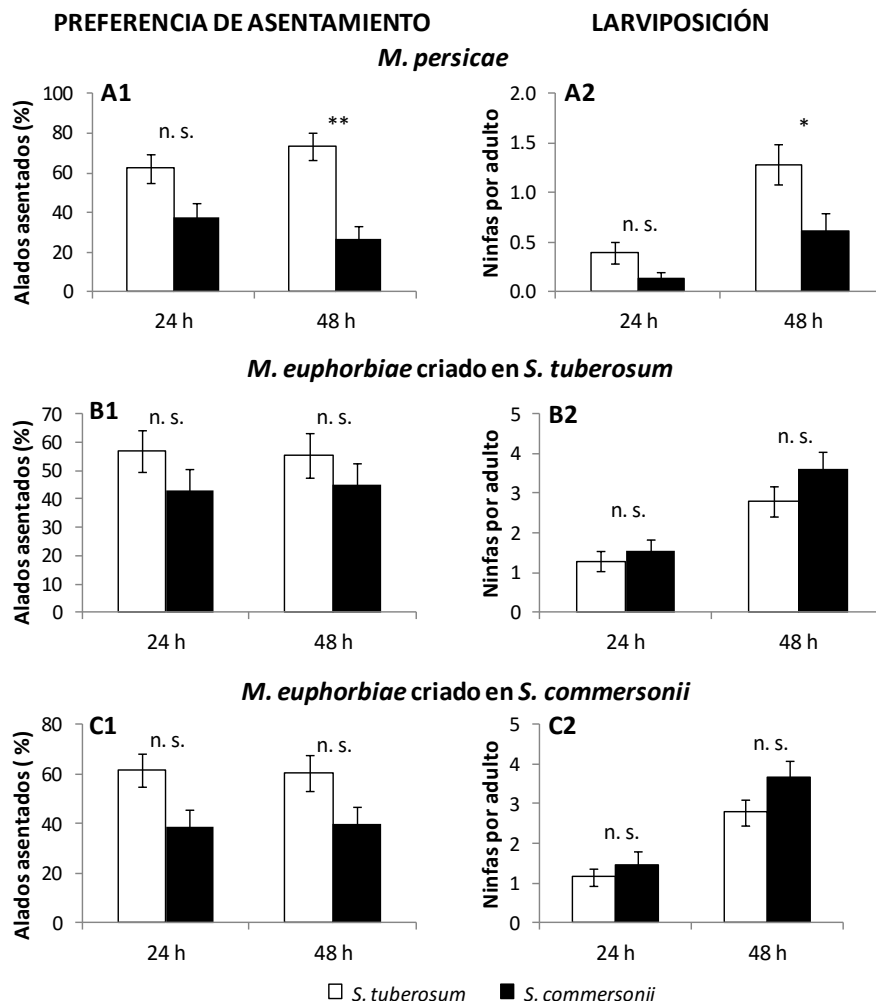


Figura 5. Preferencia de asentamiento y larviposición de *M. persicae* (A) y de *M. euphorbiae* criados en *S. tuberosum* (B) y *S. commersonii* (C), a las 24 y 48 h en ensayos de elección dual con plantas de *S. tuberosum* y *S. commersonii*. * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; n. s. = no significativo.

Densidad de tricomas, nitrógeno total de las plantas y longitud de patas

Morfológicamente, las dos especies de papa presentaron los mismos tipos de tricomas simples y glandulares, ya descritos para el género *Solanum*, siendo más abundantes en *S. commersonii* que en *S. tuberosum* (Tabla I). Los tricomas simples fueron de tipo pluricelular uniseriado lanceolado y con porción basal uni- y bi-celular, denominados “finger hairs” (Seithe & Anderson, 1982; Mentz et al., 2000) (fig. 6A). Se encontraron tricomas simples con 1 a 5 células

en serie, existiendo diferencias en su longitud (medido para los de 3 células) entre las dos *Solanum* (Tabla I). Los tricomas glandulares fueron de dos tipos: el primero formado por un pedicelo con una cabezuela de 4 células en el mismo plano, denominados tipo A (Tingey et al., 1981; Flanders et al., 1992; Pelletier et al., 2013) o también “square glands” (Seithe & Anderson, 1982) (fig. 6B); el otro tipo, de menor tamaño, estuvo formado por un pedicelo con una cabezuela multicelular (Mentz et al., 2000), denominado “storied glands” (Seithe & Anderson, 1982), o también “club-shaped”, mucho menos estudiado por su menor tamaño y abundancia en relación a otros tricomas glandulares presentes en las especies de papas (Pelletier et al., 2013) (fig. 6C).

Por su parte, no se encontraron diferencias significativas entre el contenido total de nitrógeno de la parte aérea de las dos *Solanum* (Tabla I).

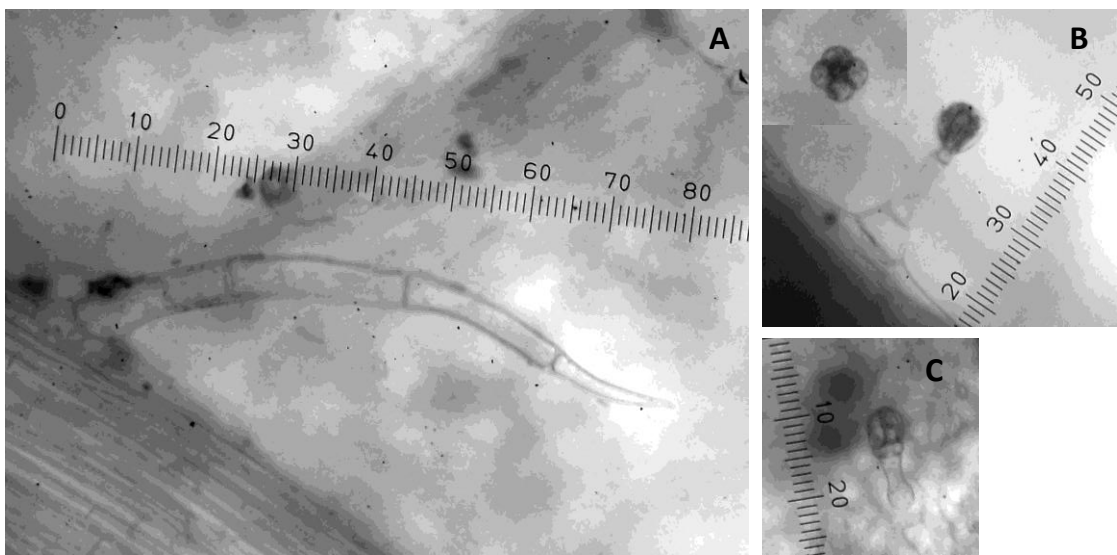


Figura 6. Tipos de tricomas simples y glandulares presentes en *S. tuberosum* y *S. commersonii*: **A)** Tricoma simple “finger hair”. **B)** Tricoma glandular tipo A y detalle de la cabezuela de 4 células en el mismo plano. **C)** Tricoma glandular “storied glands”. Escala = 8 μm (unidad menor).

Tabla I. Densidad de tricomas simples y glandulares (por mm²), longitud de los tricomas simples de 3 células en serie (mm) y contenido total de N (%) de la parte aérea de *S. tuberosum* y *S. commersonii*.

	<i>S. tuberosum</i>	<i>S. commersonii</i>	t de Student
Densidad de tricomas simples (x mm ²)	3.3 ± 0.2	20.4 ± 1.1	T = -19.7; P < 0.0001
Densidad de tricomas glandulares (x mm ²)	1.6 ± 0.2	10.3 ± 0.8	T = -12.43; P < 0.0001
Longitud de tricomas simples de 3 células (mm)	0.29 ± 0.02	0.36 ± 0.01	T = -2.46; P = 0.0193
N total (%)	6.0 ± 0.2	5.5 ± 0.1	T = -2.2; P = 0.0524

Respecto a la longitud de las patas anteriores de ambos áfidos, en *M. persicae* tanto el fémur como la tibia fueron más pequeños que en *M. euphorbiae*, por lo que el contacto corporal con los tricomas de la superficie de las hojas sería mayor para *M. persicae* (Tabla II) (Fig. 7).

Tabla II. Longitud de las patas anteriores (fémur y tibia) de *M. persicae* y *M. euphorbiae*.

	<i>M. persicae</i>	<i>M. euphorbiae</i>	t de Student
Longitud del fémur (mm)	0.44 ± 0.02	0.85 ± 0.02	T = 15.78; P < 0.0001
Longitud de la tibia (mm)	0.68 ± 0.03	1.34 ± 0.04	T = 14.42; P < 0.0001

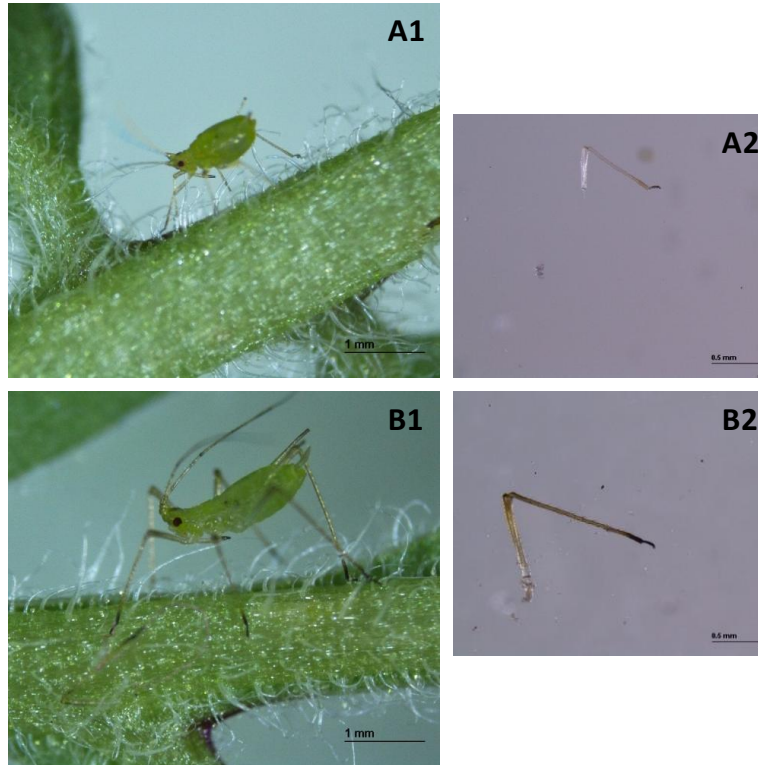


Figura 7. *M. persicae* (A1) y *M. euphorbiae* (B1) en una hoja de *S. commersonii* (escala 1 mm) y detalle de sus patas anteriores (A2 y B2 respectivamente, escala 0.5 mm).

Discusión

En este trabajo, dos especies de áfidos generalistas mostraron marcadas diferencias en su preferencia y performance frente a dos plantas hospederas estrechamente relacionadas. En el caso de *M. euphorbiae*, no mostró diferencias en su performance sobre las dos especies de *Solanum*, y tampoco los alados mostraron preferencia por alguna de las dos plantas, asentándose y larviponiendo por igual en ambas especies. Por su parte, aunque *M. persicae* prácticamente no sobrevivió en *S. commersonii*, los alados de esta especie no fueron capaces de discriminar entre ambas *Solanum* en las primeras 24 h, al asentarse por igual en *S. tuberosum* y *S. commersonii*. En el siguiente registro (a las 48 h), si bien fue mayor el porcentaje de alados en *S. tuberosum*, se debió principalmente a una mayor mortalidad en *S. commersonii*, ya que el cambio de hospedero fue comparativamente menor. En cuanto a la larvposición,

tampoco hubo diferencias en el número de ninfas por alado presente entre las dos *Solanum* a las 24 h, aunque sí a las 48 h, probablemente como consecuencia de la menor performance en *S. commersonii*. En resumen, los resultados muestran que *M. persicae* no es capaz de discriminar entre las dos *Solanum* para asentarse y larviponer, a pesar de que *S. commersonii* no es un hospedero viable para este áfido.

La ausencia de discriminación de *M. persicae* apoya la hipótesis de restricción neuronal, que plantea una menor eficiencia en la elección de hospederos para los generalistas, dado por la dificultad de procesar una mayor amplitud de estímulos provenientes de la diversidad de plantas que consumen (Levins & MacArthur, 1969; Bernays, 1998). En su elección, los generalistas evalúan no solo la presencia de metabolitos secundarios sino también otros factores de resistencia, así como factores nutricionales. Esto determina una elección más compleja, ya que tienen que evaluar una combinación de características de una especie de planta y compararlas con combinaciones distintas de características en otras especies, lo que aumenta las posibilidades de equivocarse al elegir el mejor hospedero (Bernays, 1998). Por el contrario, la elección en los especialistas es más simple ya que se basan en unas pocas características específicas de sus plantas hospederas, como son los metabolitos secundarios (Bernays & Chapman, 1994; Renwick & Chew, 1994; Honda, 1995; Schoonhoven et al., 2005), por lo que serían más eficientes en seleccionar la especie de planta más adecuada para el desarrollo de la progenie (Bernays, 1998).

La diferente performance de *M. persicae* en *S. commersonii* y *S. tuberosum* puede atribuirse a diversos factores. El éxito reproductivo de los áfidos depende de la calidad nutricional y de las propiedades defensivas de la planta, que limitan la capacidad de los áfidos de obtener suficientes nutrientes (Powell et al., 2006). La calidad nutricional está determinada fundamentalmente por el contenido de nitrógeno soluble, fundamentalmente en forma de aminoácidos (Awmack & Leather, 2002). En este trabajo no se encontraron diferencias en el contenido total de nitrógeno de la parte aérea de las dos *Solanum*. Si bien ésta es una medida indirecta del nitrógeno soluble del floema, en plantas jóvenes como las utilizadas en este estudio, estas medidas correlacionan positivamente (Awmack & Leather, 2002). Por tanto, la

baja performance de *M. persicae* en *S. commersonii* probablemente esté determinada por las propiedades defensivas de las plantas.

En ese sentido, las dos *Solanum* de este estudio presentan glicoalcaloides, compuestos tóxicos característicos de las solanáceas, que confieren resistencia a la herbivoría (Tingey, 1984; Flanders et al., 1992; Guntner et al., 1997, 2000; Kowalski et al., 1999; Yencho et al., 2000; Friedman, 2002; Jansky et al., 2009; Nenaah, 2011). Como demostramos anteriormente, *S. commersonii* presenta una mayor concentración y diversidad de glicoalcaloides que *S. tuberosum*, los que resultaron deterrentes para *M. persicae* en un ensayo de dos opciones (Altesor et al., 2014). Los glicoalcaloides se producen en células del mesófilo y un estudio previo encontró que también se encuentran en el floema de *S. tuberosum* y *S. commersonii* (Soulé et al., 2011), aunque no se traslocarían a mayores distancias, entre la parte aérea y subterránea de la papa (Roddick, 1982). Por tanto, los áfidos tendrían contacto con estos metabolitos secundarios tanto durante la inserción del estilete en las células del mesófilo como en la alimentación posterior del floema. De todas formas, tal como se ha encontrado en otros áfidos, sólo el contacto con los metabolitos secundarios presentes en el mesófilo de las plantas es suficiente para provocar el rechazo a alimentarse y larviponer en la planta evaluada (Powell et al., 2006). Sin embargo, un estudio previo con *M. persicae* encontró que diferentes metabolitos secundarios que fueron deterrentes en un ensayo de dos opciones, no tuvieron efecto en la performance al evaluarlos en un ensayo sin opción, indicando capacidad para tolerarlos (Schoonhoven & Derksen-Koppers, 1976). Por tanto, se precisan estudios para conocer el rol de los glicoalcaloides de *S. commersonii* en la performance de *M. persicae*.

Además de los glicoalcaloides, pudiera ser que alguna característica de la superficie de *S. commersonii* esté implicada en la resistencia a *M. persicae*, aunque sin efecto sobre *M. euphorbiae*. En este trabajo se evaluaron los tricomas en ambas *Solanum*, que se diferenciaron no en el tipo sino en su densidad, ya que *S. commersonii* presentó una mayor densidad tanto de tricomas simples como glandulares. Los tricomas simples fueron de tipo pluricelular uniseriado lanceolado y los glandulares, de tipo A y “storied glands”, siendo los glandulares tipo A ampliamente estudiados en las papas formadoras de tubérculos por su resistencia a la

herbivoría (Pelletier et al., 2013). El exudado de este tipo de tricomas se caracteriza por la presencia de sustratos fenólicos y enzimas de tipo polifenol oxidasa. Cuando la cabezuela de 4 células del tricoma se rompe, ocurre la reacción de polimerización oxidativa, resultando en la formación de una sustancia endurecida. Generalmente los tarsos y las piezas bucales de los insectos quedan atrapadas, impidiendo su movimiento y alimentación y por tanto provocando su muerte (Gibson, 1971; Ryan et al., 1982; Avé & Tingey, 1986; Yu et al., 1992; Kowalski et al., 1992; Pelletier et al., 2013). Además, una mayor densidad de estos tricomas tiene un mayor efecto en la resistencia de la planta porque aumenta la probabilidad de contacto con sus exudados (Kowalski et al., 1992).

Por su parte, una mayor densidad de tricomas simples también se relaciona con una mayor resistencia a la herbivoría (Flanders et al., 1992). En *S. commersonii*, además de encontrarse en mayor densidad, los tricomas simples son más largos que los de *S. tuberosum*, lo que podría dificultar aun más el desplazamiento de los insectos, sobre todo los de menor tamaño. Y una mayor dificultad de movimiento puede resultar en una mayor ruptura de los tricomas glandulares tipo A, lo que en conjunto convierte a la superficie de las hojas de *S. commersonii* en un territorio más hostil para la supervivencia de los insectos. En ese sentido, por tener *M. persicae* patas más cortas que *M. euphorbiae*, probablemente sufra más los efectos de los tricomas de *S. commersonii*. En esa línea, los tricomas glandulares de *Solanum berthaultii* tienen un efecto mayor sobre las ninfas de *M. persicae* que sobre los adultos, al encontrarse en un contacto más íntimo con los tricomas (Tingey & Laubengayer, 1981). También, en relación a *M. persicae sensu stricto*, la subespecie de *M. persicae nicotianae* presenta mayor capacidad de evitar los exudados de los tricomas glandulares de su planta hospedera debido a sus patas más largas (Vargas et al., 2005). Por su parte, en varias especies silvestres de papa, una mayor densidad de tricomas simples se relaciona con una mayor resistencia a *M. persicae*, no así a *M. euphorbiae* (Flanders et al., 1992).

Además del posible efecto de los tricomas de *S. commersonii* en la performance de *M. persicae*, éstos podrían estar afectando el proceso de elección de esta especie. En los áfidos existe una tendencia generalizada a arribar a una planta e insertar el estilete independientemente de las

características de la superficie, de forma que la elección de hospederos en los áfidos estaría determinada no por sus tasas de arribo a las plantas sino por sus tasas de partida (Powell et al., 2006). Pudiera ser que las tasas de partida de los alados de *M. persicae* se vieran afectadas por los tricomas presentes en *S. commersonii* si éstos tienen un efecto relevante en la captura de los áfidos que contactan la superficie de las hojas. En un estudio con *M. persicae sensu stricto* frente a plantas de tabaco y morrón, sus menores tasas de partida del tabaco, a pesar de no ser una planta hospedera, se asoció con los exudados de los tricomas de esta especie (Troncoso et al., 2005). En ese sentido, sería interesante evaluar el efecto de los tricomas de *S. commersonii* tanto en la preferencia de asentamiento y larviposición como en la performance de *M. persicae*, a través de su remoción de la superficie de las hojas, tal como se ha realizado en otros trabajos (Yencho & Tingey, 1994; Alvarez et al., 2006). Si los tricomas de *S. commersonii* afectan las tasas de partida de los alados de *M. persicae*, habría que re-evaluar la capacidad de discriminar hospederos para este herbívoro generalista.

Las diferencias en la susceptibilidad de *M. persicae* y *M. euphorbiae* a distintas fuentes de resistencia de las *Solanum* formadoras de tubérculos puede estar relacionado con el distinto origen de estos áfidos y por tanto con el tiempo de asociación con estas especies de plantas (Flanders et al., 1992; Pelletier et al., 2013; Saguez et al., 2013). Mientras *M. persicae* es originaria de China, *M. euphorbiae* proviene de Norteamérica (van Emden & Harrington, 2007), teniendo probablemente una más larga asociación con las *Solanum* formadoras de tubérculos, especies originarias de América y que crecen de forma silvestre desde el suroeste de Estados Unidos hasta el centro de Argentina y Chile (Hijmans & Spooner, 2001).

Respecto al efecto de la planta de cría en los resultados de preferencia y performance de *M. euphorbiae*, no se obtuvo un cambio como consecuencia de haberlo criado en *S. tuberosum* y *S. commersonii*. Otros trabajos han mostrado resultados variables en la capacidad de los áfidos de modificar su preferencia y performance como consecuencia de la experiencia en otras especies de plantas. Por ejemplo, en clones de *Sitobion avenae* que mostraron una mayor preferencia y performance por ciertas especies de plantas, cuando fueron mantenidos durante varias generaciones en hospederos alternativos dicha asociación se debilitó (De Barro et al., 1995;

Lushai et al., 1997). En cambio, el áfido *Acyrtosiphon pisum* no modificó su preferencia ni su performance como consecuencia de ser mantenido en una especie alternativa (Via, 1991; McLean et al., 2009). Es posible que la experiencia previa de alimentación resulte ventajosa al facilitar explotar el mismo recurso más adelante en el tiempo (McLean et al., 2009). Desde la óptica de la amplitud de dieta, es factible que la experiencia previa en una planta alternativa no modifique la preferencia de los especialistas por su planta hospedera. Sin embargo, para los generalistas, que presentan una amplitud de dieta mayor y probablemente una mayor dificultad en la elección de hospedero, puede resultar ventajoso modular la preferencia hacia determinado hospedero en relación al resultado de su asociación previa.

En conclusión, en este trabajo se encontró que el áfido generalista *M. persicae* se asentó y larvipuso por igual en *S. tuberosum* y *S. commersonii*, a pesar de que en *S. commersonii* su performance fue muy pobre. Por su parte, el áfido generalista *M. euphorbiae* no mostró diferencias entre *S. tuberosum* y *S. commersonii* en su preferencia y performance y esto no se vio afectado por la experiencia previa en dichas plantas. El resultado de preferencia y performance de *M. persicae* apoya la hipótesis de restricción neuronal, que plantea para los generalistas la dificultad de elegir entre hospederos que provean distinta performance de la descendencia. De todas maneras, habría que evaluar el efecto de los tricomas ya que podrían estar afectando la capacidad de seleccionar hospedero para *M. persicae*. En ese sentido, *S. commersonii* presentó una mayor densidad de tricomas simples y glandulares, los que podría afectar en mayor medida a *M. persicae* por su menor tamaño. Este trabajo aporta al estudio de la preferencia y performance en áfidos, grupo poco representado en este tipo de estudios en relación a otros grupos de insectos, y en particular a evaluar en áfidos generalistas la elección de hospederos enmarcado en la hipótesis de restricción neuronal. Asimismo, explora los factores que determinan la performance diferencial de los áfidos en plantas hospederas congéneres, lo que podría ser utilizado en planes de mejoramiento de la papa cultivada.

Referencias

Altesor P, García Á, Font E, Rodríguez-Haralambides A, Vilaró F, Oesterheld M, Soler R & González A (2014) Glycoalkaloids of Wild and Cultivated Solanum: Effects on Specialist and

- Generalist Insect Herbivores. *Journal of Chemical Ecology* 40:599–608.
- Alvarez AE, Tjallingii WF, Garzo E, Vleeshouwers V, Dicke M & Vosman B (2006) Location of resistance factors in the leaves of potato and wild tuber-bearing *Solanum* species to the aphid *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 121:145–157.
- Avé DA, Gregory P & Tingey WM (1987) Aphid repellent sesquiterpenes in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* and *S. tuberosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 44:131–138.
- Avé DA & Tingey WM (1986) Phenolic Constituents of Glandular Trichomes on *Solanum berthaultii* and *S. polyadenium*. *American Potato Journal* 63:473–480.
- Awmack CS & Leather SR (2002) Host Plant Quality and Fecundity in Herbivorous Insects. *Annual Review of Entomology* 47:817–844.
- De Barro PJ, Sherratt TN, David O & Maclean N (1995) An Investigation of the Differential Performance of Clones of the Aphid *Sitobion avenae* on Two Host Species. *Oecologia* 104:379–385.
- Bentancourt CM, Scatoni IB & Morelli E (2009) *Insectos del Uruguay*. Hemisferio Sur S.R.L., Montevideo.
- Bernays EA (1998) The value of being a resource specialist: behavioral support for a neural hypothesis. *The American naturalist* 151:451–464.
- Bernays EA (2001) Neural Limitations in Phytophagous Insects: Implications for Diet Breadth and Evolution of Host Affiliation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 46:703–727.
- Bernays EA & Chapman RF (1994) *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects*. Chapman & Hall, New York.
- Bernays E a. & Funk DJ (1999) Specialists make faster decisions than generalists: experiments with aphids. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 266:151–156.
- Bernays E & Graham M (1988) On the Evolution of Host Specificity in Phytophagous Arthropods Author. *Ecology* 69:886–892.
- Clark KE, Hartley SE & Johnson SN (2011) Does mother know best? The preference-performance hypothesis and parent-offspring conflict in aboveground-belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology* 36:117–124.
- Digweed S (2006) Oviposition preference and larval performance in the exotic birch-leafmining sawfly *Profenusa thomsoni*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 120:41–49.
- van Emden HF & Harrington R (Ed by) (2007) *Aphids as Crop Pests*. CABI, London.

- Ferrier SM & Price PW (2004) Oviposition Preference and Larval Performance of a Rare Bud-Galling Sawfly (Hymenoptera: Tenthredinidae) on Willow in Northern Arizona. *Environmental Entomology* 33:700–708.
- Flanders KL, Hawkes JG, Radcliffe EB & Lauer FI (1992) Insect resistance in potatoes: sources, evolutionary relationships, morphological and chemical defenses, and ecogeographical associations. *Euphytica* 61:83–111.
- Foster SP & Howard AJ (1999) Adult female and neonate larval plant preferences of the generalist herbivore, *Epiphyas postvittana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 92:53–62.
- Fragoyiannis DA, Mckinlay RG & Mello JPDF (1998) Studies of the growth, development and reproductive performance of the aphid *Myzus persicae* on artificial diets containing potato glycoalkaloids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88:59–66.
- Friedman M (2002) Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. *Journal of agricultural and food chemistry* 50:5751–80.
- Gibson RW (1971) Glandular hairs providing resistance to aphids in certain wild potato species. *Annals of Applied Biology* 68:113–119.
- Gorur G, Lomonaco C & Mackenzie A (2007) Phenotypic plasticity in host choice behavior in black bean aphid, *Aphis fabae* (Homoptera: Aphididae). *Arthropod-Plant Interactions* 1:187–194.
- Gregory P, Tingey WM, Ave DA & Bouthyette P (1986) Potato glandular trichomes: a physicochemical defense mechanisms against insects. *ACS symposium series* 296:160–167.
- Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M & Roslin T (2010) A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13:383–393.
- Guntner C, Gonzalez A, Dos Reis R, Gonzalez G, Vazquez A, Ferreira F & Moyna P (1997) Effect of Solanum Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *Journal of chemical ecology* 23:1651–1659.
- Guntner C, Vázquez A, González G, Usubillaga A, Ferreira F & Moyna P (2000) Effect of Solanum Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*: Part II. *Journal of Chemical Ecology* 26:1113–1121.
- Harris MO, Sandanayaka M & Griffine W (2001) Oviposition preferences of the Hessian fly and their consequences for the survival and reproductive potential of offspring. *Ecological Entomology* 26:473–486.
- Hijmans RJ & Spooner DM (2001) Geographic Distribution of Wild Potato Species. *American Journal of Botany* 88:2101–2112.
- Honda K (1995) Chemical Basis of Differential Oviposition by Lepidopterous Insects. *Archives of*

Insect Biochemistry and Physiology 30:1–23.

- Jaenike J (1978) On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical population biology* 14:350–356.
- Jansky SH, Simon R & Spooner DM (2009) A Test of Taxonomic Predictivity: Resistance to the Colorado Potato Beetle in Wild Relatives of Cultivated Potato. *Journal of Economic Entomology* 102:422–431.
- Janz N (2003) The cost of polyphagy: oviposition decision time vs error rate in a butterfly. *Oikos* 100:493–496.
- Jiao X, Xie W, Wang S, Wu Q, Zhou L, Pan H, Liu B & Zhang Y (2012) Host preference and nymph performance of B and Q putative species of *Bemisia tabaci* on three host plants. *Journal of Pest Science* 85:423–430.
- Kowalski SP, Domek JM, Deahl KL & Sanford LL (1999) Performance of Colorado Potato Beetle Larvae, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), Reared on Synthetic Diets Supplemented with Solanum Glycoalkaloids. *American Journal of Potato Research* 76:305–312.
- Kowalski SP, Eannetta NT, Hirzel a T & Steffens JC (1992) Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase from Glandular Trichomes of *Solanum berthaultii*. *Plant physiology* 100:677–84.
- Levins R & MacArthur R (1969) An Hypothesis to Explain the Incidence of Monophagy. *Ecology* 50:910–911.
- Lushai G, Sherratt TN, David O, De Barro PJ & Maclean N (1997) Host selection by winged summer females of the aphid *Sitobion avenae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 85:199–209.
- Margaritopoulos JT, Tsourapas C, Tzortzi M, Kanavaki OM & Tsitsipis J a. (2005) Host selection by winged colonisers within the *Myzus persicae* group: A contribution towards understanding host specialisation. *Ecological Entomology* 30:406–418.
- Mayhew PJ (1997) Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79:417–428.
- McLean AHC, Ferrari J & Godfray HCJ (2009) Effects of the maternal and pre-adult host plant on adult performance and preference in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Ecological Entomology* 34:330–338.
- Mentz LA, Olivera PL de & Silva MV da (2000) Tipologia dos tricomas das espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae) na Região Sul do Brasil. *Iheringia Serie Botanica* 54:75–106.
- Murashige T & Skoog F (1962) A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473–497.

- Nenaah GE (2011) Toxic and antifeedant activities of potato glycoalkaloids against *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research* 47:185–190.
- Nikolakakis NN, Margaritopoulos JT & Tsitsipis J a (2003) Performance of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) clones on different host-plants and their host preference. *Bulletin of entomological research* 93:235–42.
- Peccoud J, Simon JC, Von Dohlen C, Coeur d’acier A, Plantegenest M, Vanlerberghe-Masutti F & Jouselin E (2010) Evolutionary history of aphid-plant associations and their role in aphid diversification. *Comptes Rendus - Biologies* 333:474–487.
- Pelletier Y, Horgan FG & Pompon J (2013) Potato Resistance Against Insect Herbivores: Resources and Opportunities. *Insect Pests of Potato*. (ed by Alyokhin, Vincent & Giordanengo) 1st edn. Academic Press, Inc., pp 439–462.
- Pires CSS, Price PW & Fontes EG (2000) Preference-performance linkage in the neotropical spittlebug *Deois flavopicta*, and its relation to the Phylogenetic Constraints Hypothesis. *Ecological Entomology* 25:71–80.
- Potter K a., Bronstein J & Davidowitz G (2012) Choice of oviposition sites by *Manduca sexta* and its consequences for egg and larval performance. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144:286–293.
- Powell G & Hardie J (2000) Host-selection behaviour by genetically identical aphids with different plant preferences. *Physiological Entomology* 25:54–62.
- Powell G, Tosh CR & Hardie J (2006) Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Annual review of entomology* 51:309–30.
- Price P, Roininen H & Ohgushi T (1999) Comparative plant-herbivore interactions involving willows and three gall-inducing sawfly species in the genus *Pontania* (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Écoscience* 6:41–50.
- Radcliffe EB & Ragsdale DW (2002) Aphid-transmitted Potato Viruses: The Importance of Understanding Vector Biology. *American Journal of Potato Research* 79:353–386.
- Rausher MD (1979) Larval Habitat Suitability and Oviposition Preference in Three Related Butterflies. *Ecology* 60:503–511.
- Renwick JAA & Chew FS (1994) Oviposition Behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 39:377–400.
- Roddick JG (1982) Distribution of steroidal glycoalkaloids in reciprocal grafts of *Solanum tuberosum* L. and *Lycopersicon esculentum* Mill. *Experientia* 38:460–462.
- Ryan JD, Gregory P & Tingey WM (1982) Phenolic oxidase activities in glandular trichomes of *Solanum berthaultii*. *Phytochemistry* 21:1885–1887.

- Saguez J, Giordanengo P & Vincent C (2013) Aphids as major potato pests. *Insect Pests of Potato*. (ed by G Alyokhin, Vincent) 1st edn. Elsevier Inc., pp 31–63.
- Scheirs J, Bruyn LD & Verhagen R (2000) Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267:2065–2069.
- Schoonhoven LM & Derksen-Koppers I (1976) Effects of Some Allelochemicals on Food Uptake and Survival of a Polyphagous Aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 19:52–56.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA & Dicke M (2005) *Insect-Plant Biology*. Oxford University Press.
- Seithe A & Anderson GJ (1982) Hair Morphology and the Relationships of Species in *Solanum* sect. *Basarthrum*. *Plant Systematics and Evolution* 139:229–256.
- Simmons AT & Gurr GM (2005) Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. *Agricultural and Forest Entomology* 7:265–276.
- Soler R, Pineda A, Li Y, Ponzio C, van Loon JJ a., Weldegergis BT & Dicke M (2012) Neonates know better than their mothers when selecting a host plant. *Oikos* 121:1923–1934.
- Soulé S, Güntner C, Petersson C & Ferreira F (2011) Presence of glycoalkaloids in phloem of *Solanum* plants. *Ciencia* 19:181–186.
- Spooner DM & Hijmans RJ (2001) *Potato Systematics and Germplasm Collecting, 1989-2000*. *American Journal of Potato Research* 78:237–268.
- Staba JE (1969) Plant Tissue Culture as a Technique for the Phytochemist. *Recent Advances in Phytochemistry*. (ed by MK Seikel & VC Runcekles) Appeton-Century-Crofts, New York, pp 75–106.
- Thompson JN (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47:3–14.
- Tingey WM (1984) Glycoalkaloids as pest resistance factors. *American Potato Journal* 61:157–167.
- Tingey WM & Laubengayer JE (1981) Defense Against the Green Peach Aphid and Potato Leafhopper by Glandular Trichomes of *Solanum berthaultii*. *Journal of Economic Entomology* 74:721–725.
- Tingey WM, Mehlenbacher SA & Laubengayer JE (1981) Occurrence of glandular trichomes in wild *Solanum* species. *American Potato Journal* 58:81–83.
- Tingey WM & Sinden SL (1982) Glandular Pubescence, Glycoalkaloid Composition, and Resistance to the Green Peach Aphid, Potato Leafhopper, and Potato Fleabeetle in

- Solanum berthaultii*. American Potato Journal 59:95–106.
- Tosh CR, Powell G & Hardie J (2003) Decision making by generalist and specialist aphids with the same genotype. Journal of Insect Physiology 49:659–669.
- Troncoso AJ, Vargas RR, Tapia DH, Olivares-Donoso R & Niemeyer HM (2005) Host selection by the generalist aphid *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) and its subspecies specialized on tobacco, after being reared on the same host. Bulletin of entomological research 95:23–28.
- Underwood DL a (1994) Intraspecific variability in host plant quality and ovipositional preferences in *Eucheira socialis* (Lepidoptera: Pieridae). Ecological Entomology 1994:245–256.
- Valladares G & Lawton JH (1991) Host-plant selection in the holly leaf-miner: does mother know best? Journal of Animal Ecology 60:227–240.
- Vargas RR, Troncoso AJ, Tapia DH, Olivares-Donoso R & Niemeyer HM (2005) Behavioural differences during host selection between alate virginoparae of generalist and tobacco-specialist *Myzus persicae*. Entomologia Experimentalis et Applicata 116:43–53.
- Via S (1991) Specialized Host Plant Performance of Pea Aphid Clones is not Altered by Experience. Ecology 72:1420–1427.
- Yencho GC, Kowalski SP, Kennedy GG & Sanford LL (2000) Segregation of leptine glycoalkaloids and resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) in F2 *Solanum tuberosum* (4x) x *S. chacoense* (4x) Potato progenies. American Journal of Potato Research 77:167–178.
- Yencho GC & Tingey WM (1994) Glandular trichomes of *Solanum berthaultii* alter host preference of the Colorado potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Entomologia Experimentalis et Applicata 70:217–225.
- Yu H, Kowalski SP & Steffens JC (1992) Comparison of Polyphenol Oxidase Expression in Glandular Trichomes of *Solanum* and *Lycopersicon* Species. Plant physiology 100:1885–1890.
- Züst T & Agrawal AA (2016) Mechanisms and evolution of plant resistance to aphids. Nature Plant 2:1–9.

DISCUSIÓN GENERAL Y PERSPECTIVAS

El estudio de las interacciones antagonistas entre plantas e insectos puede ser enfocado desde la óptica de la planta y sus mecanismos de defensa, o desde el punto de vista del insecto y sus estrategias de alimentación (Ali & Agrawal, 2012). En esta tesis se analizaron las dos perspectivas, utilizando como modelos a la papa cultivada *Solanum tuberosum* y la congénere silvestre *S. commersonii*, así como cuatro especies de insectos herbívoros asociados a estas plantas, dos de los cuales son considerados las plagas más relevantes de la papa cultivada (Radcliffe & Ragsdale, 2002). Desde la perspectiva de la planta, se evaluó el efecto de la domesticación en dos de sus principales caracteres defensivos, el contenido de glicoalcaloides y la densidad de tricomas, y se comparó su resistencia a la herbivoría en ensayos de campo y de laboratorio. Desde la perspectiva del insecto, se evaluó la capacidad de dos especies generalistas y una especialista de discriminar entre estas plantas hospederas para dejar descendencia, y se correlacionó esta preferencia con la performance de la progenie.

Los resultados obtenidos en campo y laboratorio al evaluar la susceptibilidad a la herbivoría en la papa cultivada *S. tuberosum* y la especie silvestre *S. commersonii* fueron que la especie cultivada fue más atacada por el áfido generalista *Myzus persicae* y el coleóptero oligófago *Epitrix argentinensis*, mientras que la papa silvestre *S. commersonii* fue más atacada por la avispa sierra *Tequus schrottkyi*, un insecto especialista monófago. Estos resultados indican que la especie cultivada es más susceptible a la herbivoría de insectos con mayor amplitud de dieta, mientras que la especie silvestre es más susceptible a insectos con dietas más restringidas. Esta diferencia puede deberse a los distintos procesos selectivos a los que están sujetas especies cultivadas y silvestres (selección artificial vs. natural, respectivamente), y al efecto de dichos procesos sobre la capacidad defensiva de las plantas y su interacción con insectos herbívoros.

Al analizar específicamente el rol de los glicoalcaloides en la resistencia a la herbivoría, se encontró que los glicoalcaloides de la papa silvestre *S. commersonii* fueron responsables, al menos en parte, de la deterrencia ante *M. persicae* y la preferencia de *T. schrottkyi* por esta especie. El análisis químico del extracto de glicoalcaloides permitió identificar en *S.*

commersonii cuatro glicoalcaloides: dehidro-tomatina, dehidro-commersonina, dehidro-demissina, y demissina, mientras que en *S. tuberosum* se identificaron los glicoalcaloides típicos de esta especie: α -solanina y α -chaconina. Estos últimos comparten la aglicona solanidina con el compuesto mayoritario de *S. commersonii*, dehidro-demissina, y con uno de los minoritarios (dehidro-commersonina), y se diferencian en la porción glicosídica, estando glicosilados por trisacáridos los glicoalcaloides de *S. tuberosum* mientras que por tetrasacáridos los glicoalcaloides de *S. commersonii*. La importancia de la porción glicosídica en la modulación de la actividad biológica de los glicoalcaloides ya ha sido reportada (Roddick et al., 1992; Guntner et al., 1997, 2000), aunque no se descarta en la preferencia de hospedero el efecto aditivo del conjunto de glicoalcaloides de *S. commersonii*.

Respecto a los otros herbívoros, los glicoalcaloides no tuvieron efecto sobre su preferencia de alimentación. En el caso de *E. argentinensis*, es un herbívoro que se alimenta de solanáceas (Bentancourt & Scatoni, 2010), plantas productoras de glicoalcaloides (Eich, 2008), por lo que sería esperable una adaptación a estos metabolitos secundarios. En el caso del generalista *M. euphorbiae*, este resultado podría estar relacionado con su origen americano (van Emden & Harrington, 2007), y por tanto con una asociación evolutiva más íntima con especies de *Solanum* formadoras de tubérculos, también de origen americano (Hijmans & Spooner, 2001). Este resultado muestra la importancia de contemplar no sólo la amplitud de dieta de los insectos en un estudio de patrones de herbivoría, sino también la historia evolutiva de sus asociaciones con la planta hospedera.

Si bien los metabolitos secundarios de las plantas cumplen un papel fundamental en la resistencia a la herbivoría, las plantas poseen otras estrategias para defenderse, las que pueden actuar en concierto (Schoonhoven et al., 2005; Agrawal & Fishbein, 2006; Dicke, 2009). En particular, en especies de *Solanum* formadoras de tubérculo, los tricomas son caracteres defensivos importantes, y junto con los glicoalcaloides explican mayormente la resistencia de estas plantas a la herbivoría (Pelletier et al., 2013). Por ese motivo, en esta tesis también describimos y cuantificamos los tricomas de la papa cultivada y su congénere silvestre, encontrando una mayor densidad tanto de tricomas simples como glandulares en la especie

silvestre *S. commersonii*. Si bien no se evaluó su efecto en la resistencia a *M. persicae*, proponemos que podría estar incidiendo, dado el pequeño tamaño de estos insectos, aspecto que sería interesante evaluar a futuro.

Además de estudiar la preferencia de alimentación y el rol de los glicoalcaloides en dicha preferencia, evaluamos la performance de *M. persicae*, *M. euphorbiae* y *T. schrottkyi* en ambas especies de *Solanum*. A su vez, y a la luz de los resultados de performance diferencial obtenidos, evaluamos la capacidad de estos insectos de discriminar ambos hospederos para dejar su descendencia, capacidad que puede ser determinante del éxito reproductivo de los mismos. Los resultados de performance mantuvieron la tendencia obtenida en la preferencia de alimentación: *M. persicae* prácticamente no sobrevivió en *S. commersonii*, *M. euphorbiae* no mostró diferencias en su performance frente a las dos especies, y *T. schrottkyi* tuvo una mejor performance en su planta hospedera preferida, *S. commersonii*. En cuanto a la capacidad de discriminar hospederos para la reproducción, el generalista *M. persicae* se asentó y larvipuso por igual en las dos especies de *Solanum* a las 24 h de observación, a pesar de que claramente mostró una pobre performance en *S. commersonii*. Por su parte, las hembras del especialista *T. schrottkyi* sí discriminaron, oviponiendo exclusivamente en su planta hospedera *S. commersonii*, donde la descendencia tuvo una mayor supervivencia.

Estos resultados aportan al estudio de la preferencia de oviposición y la performance de la descendencia en herbívoros con diferente amplitud de dieta. Si bien son innumerables los trabajos que correlacionan estas dos variables, la mayoría se ha realizado en lepidópteros, con escasa representación de otros grupos de insectos como los utilizados en esta tesis (Gripenberg et al., 2010). Asimismo, los resultados apoyan la hipótesis de restricción neuronal, que plantea una mayor dificultad en la elección de hospederos para los generalistas, dado que tienen que procesar una mayor cantidad de estímulos de sus potenciales plantas hospederas (Levins & MacArthur, 1969; Bernays, 1998). En su elección, los generalistas evalúan tanto factores defensivos como nutricionales de una gran diversidad de plantas, mientras que los especialistas basan su elección en características específicas de la familia o el género de plantas que consumen, como son los metabolitos secundarios que comparten (Bernays & Chapman, 1994;

Renwick & Chew, 1994; Honda, 1995; Schoonhoven et al., 2005). Esto determina que generalistas y especialistas posean diferente capacidad para seleccionar eficientemente el hospedero que provee mejor performance de la descendencia (Bernays, 1998).

Sumado a una mayor eficiencia en la discriminación de hospederos para oviponer, los especialistas poseen otras ventajas asociadas con sus hábitos alimenticios como son la adaptación a las defensas de las plantas que consumen, el acceso a un recurso menos disponible para otros herbívoros, y también la localización de pareja si ésta se restringe a la planta hospedera (Bernays & Graham, 1988; Schowalter, 2006). En el caso de los generalistas, evidentemente el alto costo en el éxito reproductivo que implica una elección errónea de hospedero, como mostramos aquí para *M. persicae*, debe ser compensado para mantener esta estrategia de alimentación (Janz, 2003). Esta compensación puede provenir de la ventaja asociada a una mayor disponibilidad y diversidad de alimento, en combinación con características poblacionales como tasas altas de crecimiento o factores ecológicos.

En conclusión, en esta tesis encontramos que la especie cultivada *S. tuberosum* fue más susceptible a la herbivoría de insectos más generalistas, mientras que la pariente silvestre *S. commersonii* fue más susceptible a herbívoros más especializados. La mayor susceptibilidad de *S. tuberosum* correlacionó con su menor capacidad defensiva, tanto química como morfológica. Estos resultados apoyan la hipótesis del efecto negativo de la domesticación de plantas en cuanto a su potencial de resistencia a herbívoros, debido posiblemente a una menor asignación de recursos a defensa, aumentando su susceptibilidad frente a herbívoros con amplitud de dieta mayor. A su vez, estos herbívoros tendrían mayores dificultades que los especialistas para discriminar hospederos que proveen una mejor performance a la descendencia, tal como fue evaluado en forma comparativa para el generalista *M. persicae* y el especialista *T. schrottkyi*.

En su conjunto, los resultados obtenidos aportan a la comprensión de un aspecto complejo de las interacciones planta-insecto: el rol diferencial de las defensas de plantas contra herbívoros cuando éstos presentan diferente amplitud de dieta, y su efecto en las preferencias y performance de estos herbívoros. Claramente, las plantas en su entorno natural se enfrentan a una diversidad de herbívoros con características diferentes, por lo que un estudio holístico de

sistemas que incluyan interacciones diversas, aún dentro de un mismo nivel trófico, es un enfoque necesario al tema. Asimismo, el estudio de la interacción planta-insecto desde un abordaje comparativo puede proporcionar herramientas para el diseño de sistemas de producción sostenible, y constituye un excelente acercamiento para abordar preguntas generales sobre la ecología de estos dos grupos de organismos, posiblemente los más importantes en ecosistemas terrestres.

Perspectivas

A partir de los resultados de esta tesis surgen varias interrogantes que sería interesante evaluar a futuro. En primer lugar, con respecto a la producción de glicoalcaloides de *S. commersonii* se plantea si puede existir una inducción de estos metabolitos secundarios como consecuencia de la herbivoría y cómo varía dicha inducción en relación con la amplitud de dieta de los insectos. Esto tiene su base en que muchas plantas son capaces de percibir y reconocer el daño específico del herbívoro y producir una respuesta acorde para reducir la herbivoría. Esta respuesta debería contemplar que insectos con diferente amplitud de dieta tienen distinta capacidad de lidiar con los metabolitos secundarios de las plantas, por lo que la producción de estos compuestos tendría que ser de distinta magnitud según el herbívoro atacante, de modo de ser efectiva. En ese sentido, si bien no formaron parte de los resultados de esta tesis, se exploró de forma preliminar el efecto de herbívoros con diferente amplitud de dieta en la inducción de glicoalcaloides, encontrando que la herbivoría alteró la concentración de estos compuestos en las hojas de *S. commersonii* y que varió según el tipo de herbívoro. Además, se hicieron pruebas para evaluar en estos insectos la tolerancia a distintas concentraciones de glicoalcaloides (x2 y x10 la concentración presente en la planta sin herbivoría), mediante ensayos de preferencia de alimentación.

En segundo lugar, como resultado de esta tesis surgen interrogantes acerca de la incidencia de los glicoalcaloides en la elección de oviposición y en la performance del especialista monófago *T. schrottkyi*. Los herbívoros con dietas muy restringidas basan el reconocimiento de su planta hospedera en características específicas como son los metabolitos secundarios, siendo los glicoalcaloides de *S. commersonii*, candidatos posibles para el reconocimiento de esta planta

hospedera. Además, en base a los resultados de performance de *T. schrottkyi* sobre las dos *Solanum*, habría que determinar si los glicoalcaloides de estas plantas tienen un efecto diferencial; en particular, si *T. schrottkyi* es capaz de tolerar los glicoalcaloides de *S. tuberosum* y si los glicoalcaloides de *S. commersonii* tienen un efecto positivo en la performance, en específicamente por la protección frente a depredadores. En ese sentido, de forma preliminar se estudió la incorporación de glicoalcaloides en las larvas de *T. schrottkyi*, y si bien queda por determinar su incorporación y el rol defensivo, las larvas están protegidas contra depredadores, ya que fueron rechazadas por el depredador generalista *Schizocosa malitiosa* (Lycosidae: Aranae).

En tercer lugar, en base a los resultados obtenidos con el áfido *M. persicae* sobre las dos *Solanum* de este estudio, resulta interesante evaluar el efecto de los tricomas simples y glandulares y los glicoalcaloides de *S. commersonii* en la preferencia de asentamiento y larviposición y en la performance de este herbívoro generalista. Esto contribuiría por un lado a entender el rol de los factores de resistencia anti-herbívoro en la papa silvestre *S. commersonii*, y por otro, a determinar su incidencia en la capacidad de discriminar hospedero por parte de *M. persicae*. Además, podría tener implicancias en el manejo de este insecto plaga en la papa cultivada *S. tuberosum*, si los factores de resistencia probados pudieran ser incorporados en *S. tuberosum* mediante hibridación con *S. commersonii*, contribuyendo de esta forma disminuir la aplicación externa de insecticidas convencionales en los cultivos.

Referencias

- Agrawal AA & Fishbein M (2006) Plant defense syndromes. *Ecology* 87:S132–49.
- Ali JG & Agrawal A a (2012) Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in plant science* 17:293–302.
- Bentancourt CM & Scatoni IB (2010) Guía de Insectos y Ácaros de Importancia Agrícola y Forestal en Uruguay. Hemisferio Sur S.R.L., Montevideo.
- Bernays EA (1998) The value of being a resource specialist: behavioral support for a neural hypothesis. *The American naturalist* 151:451–464.

- Bernays EA & Chapman RF (1994) *Host-Plant Selection by Phytofagous Insects*. Chapman & Hall, New York.
- Bernays E & Graham M (1988) On the Evolution of Host Specificity in Phytophagous Arthropods Author. *Ecology* 69:886–892.
- Dicke M (2009) Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Plant, cell & environment* 32:654–65.
- Eich E (2008) *Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites*. Berlin, Heidelberg.
- van Emden HF & Harrington R (Ed by) (2007) *Aphids as Crop Pests*. CABI, London.
- Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M & Roslin T (2010) A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13:383–393.
- Guntner C, Gonzalez A, Dos Reis R, Gonzalez G, Vazquez A, Ferreira F & Moyna P (1997) Effect of Solanum Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *Journal of chemical ecology* 23:1651–1659.
- Guntner C, Vázquez A, González G, Usubillaga A, Ferreira F & Moyna P (2000) Effect of Solanum Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae*: Part II. *Journal of Chemical Ecology* 26:1113–1121.
- Hijmans RJ & Spooner DM (2001) Geographic Distribution of Wild Potato Species. *American Journal of Botany* 88:2101–2112.
- Honda K (1995) Chemical Basis of Differential Oviposition by Lepidopterous Insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 30:1–23.
- Janz N (2003) The cost of polyphagy: oviposition decision time vs error rate in a butterfly. *Oikos* 100:493–496.
- Levins R & MacArthur R (1969) An Hypothesis to Explain the Incidence of Monophagy. *Ecology* 50:910–911.
- Pelletier Y, Horgan FG & Pompon J (2013) Potato Resistance Against Insect Herbivores: Resources and Opportunities. *Insect Pests of Potato*. (ed by Alyokhin, Vincent & Giordanengo) 1st edn. Academic Press, Inc., pp 439–462.
- Radcliffe EB & Ragsdale DW (2002) Aphid-transmitted Potato Viruses: The Importance of Understanding Vector Biology. *American Journal of Potato Research* 79:353–386.
- Renwick JAA & Chew FS (1994) Oviposition Behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 39:377–400.
- Roddick JG, Rijnenberg AL & Weissenberg M (1992) Alterations to the permeability of liposome membranes by the solasodine-based glycoalkaloids solasonine and solamargine.

Phytochemistry 31:1951–1954.

Schoonhoven LM, van Loon JJA & Dicke M (2005) *Insect-Plant Biology*. Oxford University Press.

Schowalter TD (2006) *Insect Ecology: An Ecosystem Approach*. Academic Press, Elsevier, California.

ANEXOS

Glycoalkaloids of Wild and Cultivated *Solanum*: Effects on Specialist and Generalist Insect Herbivores

Paula Altesor · Álvaro García · Elizabeth Font ·
Alejandra Rodríguez-Haralambides · Francisco Vilaró ·
Martín Oesterheld · Roxina Soler · Andrés González

Received: 25 March 2014 / Revised: 5 May 2014 / Accepted: 9 May 2014
© Springer Science+Business Media New York 2014

Abstract Plant domestication by selective breeding may reduce plant chemical defense in favor of growth. However, few studies have simultaneously studied the defensive chemistry of cultivated plants and their wild congeners in connection to herbivore susceptibility. We compared the constitutive glycoalkaloids (GAs) of cultivated potato, *Solanum tuberosum*, and a wild congener, *S. commersonii*, by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. We also determined the major herbivores present on the two species in field plots, and tested their preference for the plants and their isolated GAs in two-choice bioassays. *Solanum commersonii* had a different GA profile and higher concentrations than *S. tuberosum*. In the field, *S. tuberosum* was mostly attacked by the generalist aphids *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae*, and by the specialist flea beetle *Epitrix argentinensis*. In contrast, the most common herbivore on *S. commersonii* was the specialist sawfly *Tequus* sp. Defolia-

tion levels were higher on the wild species, probably due to the chewing feeding behavior of *Tequus* sp. As seen in the field, *M. persicae* and *E. argentinensis* preferred leaf disks of the cultivated plant, while *Tequus* sp. preferred those of the wild one. Congruently, GAs from *S. commersonii* were avoided by *M. persicae* and preferred by *Tequus* sp. The potato aphid performed well on both species and was not deterred by *S. commersonii* GAs. These observations suggest that different GA profiles explain the feeding preferences of the different herbivores, and that domestication has altered the defensive capacity of *S. tuberosum*. However, the wild relative is still subject to severe defoliation by a specialist herbivore that may cue on the GAs.

Keywords Plant defense · *Solanum* · Glycoalkaloids · Herbivore specialization · Plant domestication

P. Altesor · Á. García · E. Font · A. Rodríguez-Haralambides ·
A. González (✉)
Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo,
Uruguay
e-mail: agonzal@fq.edu.uy

F. Vilaró
Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)-Las Brujas,
Canelones, Uruguay

M. Oesterheld
Ifeva, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires/
Conicet, Buenos Aires, Argentina

R. Soler
Department of Terrestrial Ecology, Netherlands Institute of Ecology
(NIOO-KNAW), Wageningen, The Netherlands

Introduction

Plant domestication for human consumption has involved centuries of selective breeding, in which certain traits have been favored. As a result, herbivore resistance in cultivated plants may have been debilitated, since human-selected genotypes allocate more resources to the growth of edible parts and photosynthetic tissue, and less to defensive traits (Bazzaz et al. 2009; Herms and Mattson 1992; Rosenthal and Dirzo 1997). In particular, certain chemical defenses have been selected against by humans to avoid intoxication (Bautista et al. 2012; Gepts 2004), and chemical protection has been applied externally, at least during the past century, in the form of pesticides. It may hence be expected that cultivated plants should be more susceptible to herbivory than their wild

relatives, and this has been shown for a few species (Bellota et al. 2013; Cole 1997; Dávila-Flores et al. 2013; Gols et al. 2008a,b; Massei and Hartley 2000; Poelman et al. 2008; Rosenthal and Dirzo 1997; Small 1996; Wise et al. 2001). Wild species related to cultivated crops often have been studied by plant breeders searching for favorable traits, usually linked to resistance against biotic or environmental factors. However, few studies have compared simultaneously the defensive chemistry of cultivated plants and their wild congeners, their herbivore susceptibility, and the causal link between these factors (Cole 1997; Gols et al. 2008a,b; Poelman et al. 2008). Besides furthering our fundamental knowledge about the actual role and relative importance of plant defensive chemicals against insect herbivores, these comparative studies also provide valuable insight that can be used by crop scientists and agro-ecologists to design crop-management practices that enhance the efficacy of pest control.

Insect herbivores have evolved strategies for counteracting plant chemical defenses, and diet breadth is a major part of those strategies (Schoonhoven et al. 2005). Generalist (polyphagous) species feed on plants from different families, while specialists utilize one or a few plant species, usually within a single genus (monophagous) or a single family (oligophagous) (Schoonhoven et al. 2005). Specialist herbivores usually tolerate the defensive metabolites of their host plants, or even benefit from them for their own development or as anti-predatory defenses (Ali and Agrawal 2012; Schowalter 2006). Specialization is the norm among herbivorous insects, with generalists only accounting for about 10 % of the species (Bernays and Graham 1988). Specialization implies for a plant a higher risk that at least some insect species will be adapted to its chemical defense. Chemically defended species, therefore, while protected against generalists, are still attacked by a narrow spectrum of specialist herbivores. Domesticated relatives, in turn, may be at greater risk of attack by a broader spectrum of herbivores, if they produce a smaller amount or less diverse defensive chemicals. Therefore, a comparison of wild and cultivated plant species regarding their chemical defensive capacities should incorporate, as a relevant factor, the degree of dietary specialization of the herbivores involved.

The genus *Solanum* (Solanaceae) is characterized by the production of steroidal glycoalkaloids (GAs) (Eich 2008). Chemically, these metabolites possess interesting structural and electronic features as a result of combining a rigid steroidal skeleton, a basic heterocyclic nitrogen, and a polar sugar moiety. GAs are indeed bioactive, and usually have been associated with plant defense against herbivorous insects (Flanders et al. 1992; Fragoyiannis et al. 1998; Friedman 2002; Jansky et al. 2009; Kowalski et al. 1999; Lorenzen et al. 2001; Mulatu et al. 2006; Nenaah 2011a; Nenaah 2011b; Rangarajan et al. 2000; Tingey 1984; Yencho et al. 2000). In

the cultivated potato, *Solanum tuberosum*, the GAs have been selectively reduced by breeding, since they have a bitter taste and are potentially toxic to humans in concentrations higher than 200 mg/kg of fresh tuber (Gregory et al. 1981; van Gelder et al. 1988). The most common GAs in *S. tuberosum* are α -solanine and α -chaconine, which usually make up for more than 95 % of the GA mixture (Friedman et al. 1997). These are glycosides of the same steroidal aglycone solanidine, varying in their trisaccharide sugar moiety. GAs from several wild *Solanum* species that occur in South America have been studied. Among these, *S. commersonii*, a wild and native species that grows as a weed in Southern South America, has been shown to produce mostly tetrasaccharide GAs, including tomatine, commersonine, demissine, dehydro-commersonine, and dehydro-demissine (Vázquez et al. 1997). Different populations of *S. commersonii* show great variability in their GA contents, both qualitatively and quantitatively (from 30 to 40000 mg/kg of fresh leaf biomass) (Pianzola et al. 2005). While *S. commersonii* and its hybrids with *S. tuberosum* have been studied for pathogen resistance, there have been no reports on natural insect herbivory on *S. commersonii*, its connection to their GA contents, or its comparison with the cultivated congener.

We used these domesticated and wild *Solanum* species as a model for a comparative study of the role of plant chemical defenses on herbivore resistance, and their differential effects on generalist and specialist herbivores. Our objective was to correlate plant domestication with herbivore diversity and abundance, defensive chemistry, and chemically-mediated host plant preference. Specifically, we assessed field herbivory levels in the cultivated *S. tuberosum* and its wild congener *S. commersonii*, we characterized their constitutive GA chemistry and quantified their GA concentration, and we evaluated the preference of the main generalist and specialist insect herbivores for both, the plant leaves and their isolated GAs.

Methods and Materials

Plants and Insects Cloned accessions of *S. tuberosum* (var. Iporá) and *S. commersonii* (accession 05.02–6) were obtained from a *Solanum* germoplasm bank located at the National Institute of Agricultural Research (INIA, Las Brujas field station, Canelones, Uruguay). Plants were propagated under laminar flow conditions, from internodal stem cuts with a single bud. Cut stems were first cultured *in vitro* for 15 days (3000 lux; 21±2 °C; 16:8 h L:D regime), on enriched agar medium containing salts, vitamins, and sucrose (Murashige and Skoog 1962; Staba 1969). Once the plants reached four nodes, they were transferred to seedbeds and placed in a greenhouse for promoting vegetative growth. After 2 weeks, plants were either transplanted in the field for the field-plot experiment, or transferred to plastic pots and allowed to grow

for 15 additional days before taking them to the laboratory for experimentation, GA extraction, or maintenance of insect cultures. Plants hence were used during the vegetative phase.

Aphids (Hemiptera: Aphididae) were cultured in an environmental chamber (19 ± 1 °C, 60 ± 10 % RH, 14:10 h L:D regime). *Myzus persicae* were reared on pepper plants (*Capsicum annuum*) grown from seeds, while *Macrosiphum euphorbiae* were maintained either on *S. tuberosum* or *S. commersonii* plants obtained as described above. Larvae of *Tequus* sp. (Hymenoptera: Pergidae) and adults of *Epitrix argentinensis* (Coleoptera: Chrysomelidae) were used within a few days after field collection on *S. commersonii* or tomato, respectively. They were maintained in the laboratory under controlled conditions (5000 lux, 23 ± 2 °C, 50 ± 10 % RH, 14:10 h L:D), on these same plants (tomato grown from seeds), until experimental use.

Field-plot Experiment The experiment was conducted in an organic (pesticide-free) research farm located at the National Institute of Agricultural Research (INIA, Las Brujas field station, Canelones, Uruguay), from February to June of 2011. To compare the diversity and abundance of herbivores in *S. tuberosum* and *S. commersonii*, cloned plants were transferred to alternate plots (3×3 m) separated 3 m from each other. The experiment consisted of 7 plots per *Solanum* species, and 48 plants distributed evenly in each plot. Oat seeds (*Avena sativa*) were sown in between plots to prevent the growth of weeds. Insects were sampled weekly by thorough inspection of the aerial parts of three randomly-chosen plants in each plot. Plants were sampled without repetition, and the experiment was conducted for 6 wk, hence sampling a total of 126 plants per species, and covering the entire plant cycle (vegetative growth, flowering and tuberization).

When the experiment ended, 15 plants of each species were harvested and taken to the laboratory to estimate leaf area consumption. Plants were selected from all plots, at random within the plot, without including those sampled for insects. For each plant, alternate leaves were clipped off from the entire plant, and their remaining area was measured. Measurements were done by setting each leaf flat on a paper sheet, along with a flat reference object of known area. Digital images of the leaves were then analyzed using the software ImageJ (v1.43, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). The complete leaf area (expected with no herbivory) was then estimated by digitally reconstructing the leaf margins and measuring the enclosed area. Thus, the missing leaf area, presumably lost to herbivory, was calculated and expressed as a percentage. All leaves (either measured or not) were then dried at 50 °C until constant leaf weight. Therefore, the leaves actually measured and weighted allowed for a calculation of a factor (leaf area/dry biomass) for each plant, which was used to estimate the total leaf area of the plant. These calculations indicated that 44 ± 2 % and 43 ± 3 % of the leaf area was actually measured for *S. tuberosum* and *S. commersonii*, respectively.

Preference Bioassays Two-choice preference bioassays were performed to compare herbivore resistance in both *Solanum* species, and the defensive role of GAs. The bioassays were conducted with the main herbivore species found in the field-plot experiment: the aphids *M. persicae* and *M. euphorbiae*, *E. argentinensis* adult beetles, and hymenopteran larvae *Tequus* sp. Leaf disks (1.2 cm diam.) were cut from healthy plants, and set flat over a layer of 2 % agar, equidistant from the center and the margins of a Petri dish (6.1 cm diam). Two experiments were performed with each herbivore, one in which the insects were offered a choice between leaf disks of both *Solanum* species, and one to evaluate the effect of GAs. For the latter, leaf disks of *S. tuberosum* were treated with topical addition of GAs from *S. commersonii*, using solvent-treated disks as controls. The extract ($0.8 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) was added in 10 μl MeOH to obtain a dosage of 8 μg , which corresponds to the average amount of GAs extracted from a mass equivalent to one 1.2-cm leaf disk of *S. commersonii* (22 ± 1 mg, $N=10$; GAs in plant: 0.36 ± 0.09 mg/g fr.wt., $N=5$).

Aphid preference was evaluated as the percentage of aphids settled on each leaf disk after 24 h. Fifteen *M. persicae* or ten *M. euphorbiae* (adult and late instar nymphs) were placed in the center of the Petri dish using a soft paint brush, and the dish was left upside down for 24 h. Replicates were considered valid if more than 50 % of the aphids were alive after 24 h, and if at least half of these had settled on a leaf disk. An additional experiment was done for *M. persicae* to test if the preference for *S. tuberosum* was due to the lower amount of GAs present in this plant, as opposed to the type of GAs. To increase the amount of GAs, an extract of GAs from *S. tuberosum* was added to *S. tuberosum* leaf disks (10 μl ; 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ MeOH), and tested against control *S. tuberosum* disks (10 μl MeOH). The dosage of GAs applied corresponded to a 1.7-fold increase, given the average amount of GAs extracted from a mass equivalent to one 1.2-cm leaf disk of *S. tuberosum* (21 ± 1 mg, $N=10$; GAs in plant: 0.28 ± 0.04 mg/g fr.wt., $N=5$). The preference of *E. argentinensis* adults and *Tequus* sp. larvae (2nd – 5th instar) was evaluated as the percentage of leaf disk consumed (assessed visually and categorized as 0, 25, 50, 75, or 100 %). One *E. argentinensis* adult or larva of *Tequus* sp. was placed in the center of the Petri dish, and the percentage of area consumed was recorded visually every 30 min for 3 h, or until 100 % of one disk had been consumed. An additional measurement was done for *E. argentinensis* at 24 h since they fed at a slower pace. Insects that had not begun feeding in the first two observations were replaced.

Glycoalkaloid Analysis All leaves of individual plants were extracted to analyze their GA contents. Leaves were cut, weighed, and dried at 50 °C until no difference in weight was observed (0.42 ± 0.01 g, 0.45 ± 0.06 g for *S. tuberosum* and *S. commersonii*, respectively, $N=5$ plants/species). Dried leaves were grounded in a mortar with 5 ml of 1 % acetic acid, and the solution and plant tissue then were transferred to a

glass centrifuge tube for sonication (5 min) and subsequent centrifugation (5 min). The mortar was washed with 1 ml of 1 % acetic acid, and both solutions were joined before sonication and centrifugation. The supernatant solution was separated, and the plant tissue was re-extracted with 5 ml of 1 % acetic acid. The joined extracts were filtered under vacuum, and purified by solid phase extraction using a Sep-Pak C18 cartridge (1000 mg). The cartridge was conditioned with 3 × 3 ml MeOH, 3 × 3 ml water and 3 × 3 ml 1 % acetic acid; the extract then was applied to the cartridge, washed with 40 % MeOH (10 ml), and the GAs were eluted with MeOH (10 ml). The methanolic GA extract was evaporated to dryness under vacuum, weighed, and stored at -20 °C for chemical analysis or bioassays (Ferreira et al. 1993).

Liquid chromatography-mass spectrometry (including tandem MS-MS) was performed using a HPLC instrument (Agilent 1200, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) coupled to an ion trap mass spectrometer (Esquire 6000, Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany). Samples were analyzed using a reversed-phase Luna C18 analytical column with 100 mm length, 3 mm internal diam and 3 µm particle size (Phenomenex, Torrance, CA, USA), maintained at 40 °C. Extracts (1 mg/ml) were injected in MeOH (5 µl) and the GAs were separated using a linear gradient of 20 % to 30 % of acetonitrile in formic acid (10 mM) in 15 min. The flow rate was 0.35 ml/min and the split ratio before introduction to the mass spectrometer was 1:1. Mass spectrometry was performed in positive-ion mode, using the following conditions: electrospray source endplate offset voltage=-500 V; capillary voltage=-4000 V; nebulizer=40 psi; dry gas flow=9.0 L/min; dry gas temperature=365 °C. Nitrogen was used as the drying and nebulizing gas. Acquisition and data analysis were performed with Bruker Compass Data Analysis 4.0 SP 1 (version 1.2 SR1, BrukerDaltonik GmbH). The relative and absolute quantification of GAs in the extracts was based on the peak areas of the $[M + H]^+$ ions. Absolute quantification was done by extrapolation from a calibration curve obtained from standard solutions of α -solanine (Sigma-Aldrich; 10, 100, 1000 ppm; $r^2 > 0.999$). Hence, the net quantitative values are expressed as α -solanine equivalents.

Statistical Analysis Insect abundance in *S. tuberosum* and *S. commersonii* was compared by a *repeated-measures ANOVA*, using sampling weeks as within-subjects factor [insect counts were transformed to $\sqrt{(x+1)}$]. The percentages of missing leaf area (herbivory) in the field-plot experiment, and the effects of plant rearing in the choice bioassays with *M. euphorbiae*, were analyzed by the *Mann-Whitney U test*. Insect preference in choice bioassays was analyzed by the *Wilcoxon signed-rank test* for paired samples. Differences were considered significant at $P < 0.05$. Data are expressed as mean \pm SEM throughout.

Results

Field-plot Experiment The main herbivorous insect species found throughout the experiment were the aphids *M. persicae* and *M. euphorbiae*, adult leaf beetles of *E. argentinensis*, and sawfly larvae *Tequus* sp. In addition, a few adults of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) were sporadically observed in both plant species, and will not be considered any further. The aphids and *E. argentinensis*, both regarded as potato pests, were more abundant on *S. tuberosum* (Figs. 1a, b), whereas larvae of *Tequus* sp. were found almost exclusively on *S. commersonii* (Fig. 1c) (see figure legend for statistical details). The wild *S. commersonii* showed lower total leaf area but a significantly higher relative missing leaf area than the cultivated potato *S. tuberosum* (Table 1). The lower leaf area of *S. commersonii* was accounted for by its lower specific leaf area, since foliage biomass, either fresh or dry, was not significantly different between species (Table 1).

Preference Bioassays In agreement with its behavior in the field, *M. persicae* preferred to settle on leaf disks of *S. tuberosum* when tested against *S. commersonii* ($P = 0.002$) (Fig. 2a1). This preference was partially explained by the GAs present in *S. commersonii*, since *S. tuberosum* leaf disks treated with GAs from the wild species were less preferred than disks treated with solvent ($P = 0.02$) (Fig. 2a). This differential behavior was a result of the particular GA composition of *S. commersonii* because the addition of extra GAs extracted from *S. tuberosum* to *S. tuberosum* leaf disks had no effect on the preference of *M. persicae*, with 48.8 ± 2.3 % and 51.2 ± 2.3 % of the aphids settled on control or GA-supplemented leaf disks, respectively (*Wilcoxon signed-rank test*, $P = 0.61$, $N = 41$). In disagreement with its behavior in the field, *M. euphorbiae* showed no preference for settling on leaf disks of either species (*Wilcoxon signed-rank test*, $P = 0.18$ and $P > 0.99$, for aphids grown on *S. tuberosum* or *S. commersonii*, respectively) (Fig. 2b1). As expected from these results, the addition of GAs extracted from *S. commersonii* had no effect on the preference of *M. euphorbiae* for *S. tuberosum* leaf disks (*Wilcoxon signed-rank test*, $P = 0.07$ and $P = 0.30$, for aphids grown on *S. tuberosum* or *S. commersonii*, respectively) (Fig. 2 b2).

Food choice bioassays for the chewing herbivores agreed with the behavior in the field. *E. argentinensis* beetles preferred to feed on *S. tuberosum* ($P < 0.05$) (Fig. 2c1), although this choice was not explained by a significant rejection to GAs from *S. commersonii* ($P = 0.37$) (Fig. 2c2). The larvae of *Tequus* sp., which were found in the field almost exclusively on *S. commersonii*, showed a clear preference for this species ($P < 0.001$) (Fig. 2d1), and this preference was due, at least in part, by a preference for *S. commersonii* GAs, as indicated for the higher preference for *S. tuberosum* leaf disks treated with *S. commersonii* GAs ($P < 0.001$) (Fig. 2d2).

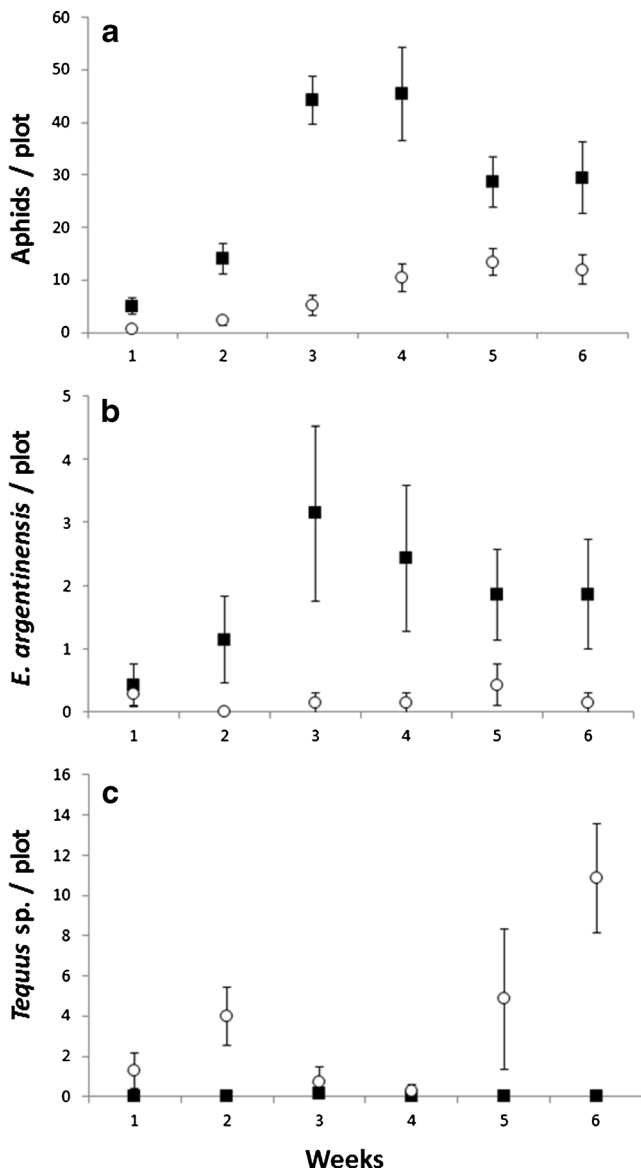


Fig. 1 Abundance of herbivorous insects in the cultivated potato *Solanum tuberosum* (black squares) and the wild congener *S. commersonii* (open circles). **a** Aphids (*Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae*); **b** adults of *Epitrix argentinensis*; **c** larvae of *Tequus* sp. Data points represent the number of insects sampled in 3 plants of a single plot. Repeated measures ANOVA: Aphids: $F_{(1,12)}=38.30$, $P<0.001$; *E. argentinensis*: $F_{(1,12)}=9.48$, $P<0.01$; *Tequus* sp.: $F_{(1,12)}=36.52$, $P<0.001$

Glycoalkaloid Analysis LC-MS analysis of GA extracts of the accession of *S. commersonii* used in this study showed 7 chromatographic peaks (Fig. 3a, Table 2). The major

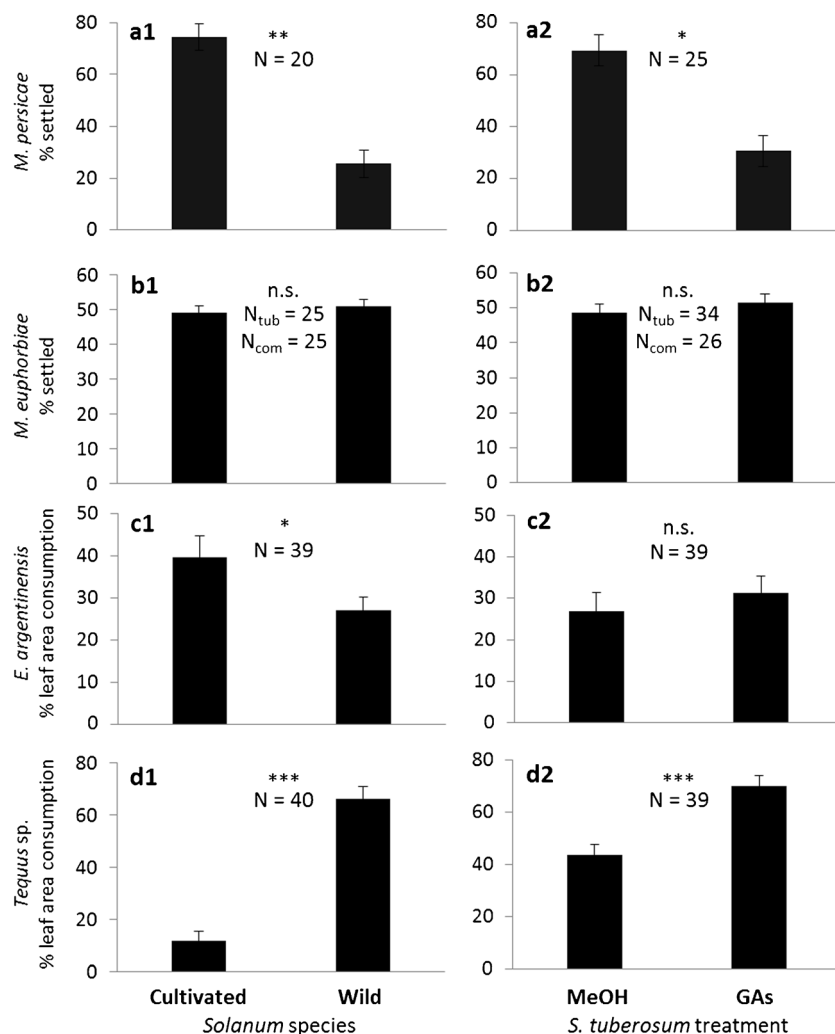
Table 1 Fresh and dry plant foliage biomass, foliar area and consumed leaf-area of *Solanum tuberosum* and *S. commersonii* after the field-plot experiment

	<i>S. tuberosum</i>	<i>S. commersonii</i>	Mann–Whitney U
Fresh biomass (g) ($N=10$ plants)	185±33	104±13	$W=128$; $P=0.08$
Dry biomass (g) ($N=10$ plants)	11.4±2.1	6.9±0.9	$W=124.5$; $P=0.14$
Foliar area (cm ²) ($N=15$ plants)	2943±415	1262±170	$W=307$; $P=0.002$
Consumed leaf-area (%) ($N=15$ plants)	1.23±0.14	2.95±0.36	$W=141$; $P<0.001$

compound (**5**), representing 80 % of the total GA mixture, showed a $[M + H]^+$ ion of m/z 1016.5, which suggested a GA with a tetrasaccharide sugar moiety (Distl and Wink 2009). In further MS-MS analysis of the $[M + H]^+$ ion, its fragment ions indicated the loss of a terminal pentose (132 mass units, m/z 884) and three hexoses (each 162 mass units). The loss of this sugar moiety (lycotetraose) resulted in a fragment of m/z 398, which corresponds to the common aglycone solanidine (Fig. 3 b, Table 2) (Distl and Wink 2009). This information, along with previous reports of GAs from *S. commersonii* (Vázquez et al. 1997), allowed for the identification of dehydro-demissine as the major GA. The next more abundant GA in *S. commersonii* (**6**) showed two additional mass units in its $[M + H]^+$ ion (Table 2), and the MS-MS fragments showed the same fragment pattern of the sugar moiety lycotetraose, with an aglycone of m/z 400 that corresponds to demissidine. Therefore, GA **6** was identified as demissine, which has also been reported as a major GA in *S. commersonii* (Vázquez et al. 1997). Two minor GAs, **3** and **4**, were identified tentatively as dehydro-tomatine and dehydro-commersonine by comparison of their mass spectra with those previously reported GAs (Distl and Wink 2009). Dehydro-tomatine showed a $[M + H]^+$ of m/z 1032, and MS-MS fragment ions that matched the loss of a lycotetraose sugar moiety, resulting in a fragment of m/z 414 that corresponds to the aglycone tomatidenol. Dehydro-commersonine showed a $[M+H]^+$ of m/z 1046, and MS-MS fragment ions that matched the loss of four hexose moieties (648 mass units, commertetraose), with the aglycone solanidine (m/z 398). Hence, four of the seven GAs from *S. commersonii* were identified, which combined represent roughly 91 % of the GA mixture. The remaining peaks (1, 2 and 7) also correspond to GAs given their mass spectra, and remain to be identified.

The glycoalkaloid extracts from *S. tuberosum* were similarly analyzed, showing 6 peaks in their LC-MS chromatograms (Table 2). The two major peaks, **8** and **9**, representing more than 95 % of the GA mixture, were identified as the common GAs α -solanine and α -chaconine, respectively. The identification was based on the eluting order, the $[M + H]^+$ ions of m/z 868 and 852, the MS-MS fragment ions corresponding to the trisaccharide sugar moieties solatriose and chacotriose, and the fragment of m/z 398 that corresponds to the aglycone solanidine (Distl and Wink 2009). The unidentified peaks 10–13 are also regarded as GAs from their mass spectra. The net concentration of GAs in the plant tissue

Fig. 2 Preference of the aphids *Myzus persicae* (a) and *Microsiphum euphorbiae* (b), *Epitrix argentinensis* beetles (c), and *Tequus* sp. larvae (d), between leaf disks of the cultivated *S. tuberosum* or the wild *S. commersonii* (left), and between leaf disks of *S. tuberosum* treated either with solvent (control) or with Glycoalkaloids (GAs) extracted from *S. commersonii* (right). Preference is shown as % settling for the aphids, and as % leaf consumed for the chewing insects. Asterisks show significant differences according to the Wilcoxon signed-rank test (*= $P<0.05$, **= $P<0.01$, ***= $P<0.001$). Error bars indicate SEM; n.s. means not significant; N is the number of replicates. Because the two populations of *M. euphorbiae*, raised on both *Solanum* species, showed no differences in the bioassays (Mann-Whitney U test, $W=596.5$, $P=0.43$ and $W=920$, $P=0.06$, for b1 and b2, respectively), and were combined for the figure (N_{tub} and N_{com} refers to the number of replicates for *M. euphorbiae* raised on *S. tuberosum* or *S. commersonii*)



(leaves) was higher in the wild species *S. commersonii*, which contained 1.46 ± 0.14 mg/g of leaf biomass (dry weight) ($N=5$), more than twice the GA concentration of *S. tuberosum* (0.65 ± 0.19 mg/g of dry leaf biomass) ($N=5$) (Mann-Whitney U test: $W=10$, $P=0.03$).

Discussion

Our field results showed that the two *Solanum* species differ in the diversity and abundance of insect herbivores. While aphids and the chrysomelid beetle *E. argentinensis* were more abundant on *S. tuberosum*, the sawfly larvae *Tequus* sp. were almost exclusively on the wild species *S. commersonii*. The chewing feeding habit of *Tequus* sp. most likely explains that *S. commersonii* lost more leaf area than *S. tuberosum*, which was in turn mostly attacked by phloem-sucking aphids. The observed host-plant associations may be, at least in part, influenced by differences in

the defensive chemistry of the plants, as shown by the chemical analyses of GA extracts from healthy plants. Not only the concentration of GAs was significantly higher in the wild species *S. commersonii*, but also the GAs differed in their chemistry, particularly in the glycosidic part of the molecule. The main GA in *S. commersonii* was dehydrodemissine, a tetraglycoside of solanidine, the same aglycone of the triglycosides α -solanine and α -chaconine, the main GAs in *S. tuberosum*.

The importance of the glycosidic portion of GAs in modulating their biological activity was not unexpected (Güntner et al. 1997; Roddick et al. 1992), and the results of our choice bioassays are consistent with this notion. In fact, GAs significantly affected host plant selection, and they did so differently for two of the herbivores included in our study. The aphid *M. persicae*, which preferred to feed on the cultivated plant, showed a negative response toward the GAs from *S. commersonii* when these were applied on *S. tuberosum* leaf disks. Such response was not due to an increase in the total GA concentration, since the aphids showed no avoidance

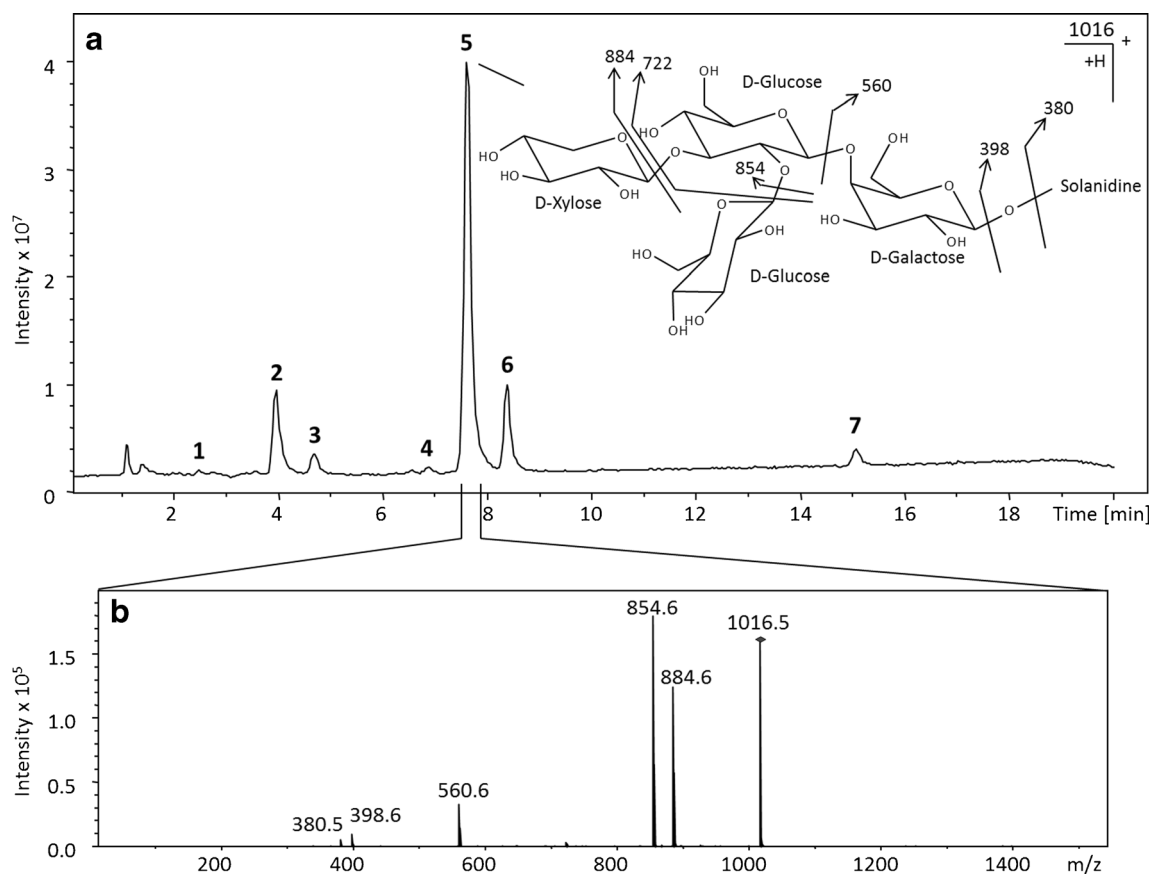


Fig. 3 **a** Typical total ion chromatogram (TIC) of glycoalkaloid (GA) extracts from *Solanum commersonii*, including the structure and fragmentation scheme of the main GA, dehydro-demissine. **b** MS-MS

fragmentation of the $[M+H]^+$ ion for the identification of dehydro-demissine. Daughter ions correspond to different losses of sugar moieties and to the aglycone solanidine (m/z 398.6)

toward leaf disks with an increased amount of *S. tuberosum* GAs. In the case of *Tequus* sp. larvae, which preferred to feed in *S. commersonii*, the GAs from the wild species were a phagostimulant when added to *S. tuberosum* leaf disks, likely explaining the clear host plant preference shown by *Tequus* sp. larvae both in the field and in the bioassays. Therefore, our results show that producing more defensive GAs, while conferring protection against generalist herbivores, does not necessarily result in less herbivory damage, due to specialized insects such as *Tequus* sp., which may be cued on these compounds. Interestingly, the sawfly genus *Tequus* is restricted to the Neotropics and reported to feed exclusively on *Solanum* species (Schmidt and Smith 2006), sharing therefore evolutionary history with GA-producing plants. Further, host plant specialization and sequestration of chemical defenses is not unusual in sawflies (Barker et al. 2002; Bowers et al. 1993; Crockett and Boevé 2011; Eisner et al. 1974; Müller et al. 2001; Opitz et al. 2010, 2012; Prieto et al. 2007; Schaffner et al. 1994; Schaffner and Boevé 1996), including members of the *Tequus* family Pergidae (Carne 1962; Tait 1962; Morrow et al. 1976; Schmidt et al. 2000, 2010). It thus is conceivable that *Tequus* sawflies are cueing on *S. commersonii* GAs to

locate their host plant, or even to obtain chemical defenses for their own protection against predators, hypotheses that deserve further investigation.

While no distinction was made between aphid species during field monitoring, only two common generalist species, *M. persicae* and *M. euphorbiae*, were later identified. Interestingly, these species showed different responses in their host plant preferences in choice laboratory bioassays. As already discussed, *M. persicae* preferred to settle on the cultivated *S. tuberosum*, and was deterred by GAs from the unpreferred plant *S. commersonii*. On the other hand, *M. euphorbiae* showed no preference, and it was not deterred by the defensive chemicals. The absence of preference was independent from previous experience, since *M. euphorbiae* raised on *S. tuberosum* or *S. commersonii* showed equal responses. These results show that herbivores with similar feeding habits and broad diet preferences may respond quite differently to specific plant defensive metabolites. While a general mechanism may be expected regarding the tolerance of highly polyphagous herbivores to a given type of chemical defense, our results clearly show that some generalists are significantly more capable than others for withstanding moderate amounts of plant toxins, as shown here by *M. euphorbiae*.

Table 2 Chromatographic, spectroscopic and relative abundance data for the main glycoalkaloids (GAs) from *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*

Species	GA	Rt (min)	Compound	Molecular formula	[M + H] ⁺	Main fragment ions ^a MS-MS of [M + H] ⁺	% Area [M + H] ⁺ mean ± SEM ^b
<i>S. commersonii</i>	1	2.5	n.i. ^c		1033	1014.5/900.4/882.3/870.5/ 853.5/558.3/576.1/379.6	0.44±0.12
	2	3.9	n.i.		1031	898.5/850.3/736.4/718.2/574.3/ 556.5/433.3/412.4/394.6	7.3±1.8
	3	4.7	Dehydro-tomatine	C ₅₀ H ₈₁ NO ₂₁	1032.5	900.3/870.3/576.4/567.3/ 414.4 /396.4	1.29±0.22
	4	6.9	Dehydro-commersonine	C ₅₁ H ₈₃ NO ₂₁	1046.6	1038.5/1016.4/884.4/560.5/ 398.4 /390.5	1.33±0.08
	5	7.6	Dehydro-demissine	C ₅₀ H ₈₁ NO ₂₀	1016.5	884.6/854.6/722.6/560.6/ 398.6 /380.5	80.4±1.9
	6	8.4	Demissine	C ₅₀ H ₈₃ NO ₂₀	1018.6	886.6/856.6/724.7/562.5/ 400.6 /382.6	7.84±0.63
	7	15	n.i.		1195.6	1063.6/1033.5/1016.6/739.2/709.3/ 577.3/433.2/415.4/397.4	1.43±0.12
<i>S. tuberosum</i>	8	7.9	α-Solanine	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	868.7	722.6/706.7/560.6/ 398.7	21.38±0.52
	9	8.2	α Chaconine	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₄	852.7	834/706.4/560.5/ 398.4 /380.5	75.53±0.39
	10	12.9	n.i.		1085.6	1069.3/1066.3/939.4/923.5/777.3/ 615.3/598.5/592.9/576.4/511.1/ 493.2/431.6/365.1/347.3	0.15±0.04
	11	13.9	n.i.		1069.6	965.3/923.4/777.3/597.4/432.4	0.36±0.10
	12	15.8	n.i.		1047.6	723.5/577.3/415.4/397.4/309.1	0.61±0.15
	13	16.3	n.i.		1031.7	996.3/869.5/723.4/577.4/561.4/543.4/ 415.5/397.5/379.5	1.98±0.39

^a Fragment ions in bold correspond to the aglycones. ^b Average and error based on 5 independent extracts. ^c Not identified

Previous studies have looked into the performance of *M. persicae* and *M. euphorbiae* on other wild *Solanum* species, with variable results with respect to plant resistance (Flanders et al. 1997; Fréchette et al. 2010; Le Roux et al. 2007; Pelletier et al. 2010; Pompon et al. 2010), and no clear relationship between aphid performance and GA contents in the plant (Flanders et al. 1992). Regarding the evaluation of specific GAs, the tetraglycoside tomatine has been shown to moderately decrease the performance of *M. euphorbiae*, but the two major GAs from *S. tuberosum*, α-solanine and α-chaconine, caused no effect (Güntner et al. 1997). In another study, α-solanine and α-chaconine were effective against *M. persicae*, although the experiments were conducted with higher dosages in relation to the dosages tested against *M. euphorbiae* (Fragoyiannis et al. 1998). In our study, when tested at the dosages that naturally occur in the plant, and even increasing this dosage by addition of supplementary GAs from *S. tuberosum*, we found no effects on the preference of *M. persicae*, indicating that it is the type of GAs, and not their amount, what caused the preference of *M. persicae* for *S. tuberosum*.

In the case of *E. argentinensis*, an oligophagous chrysomelid beetle that feeds on several solanaceous plants, both the field experiment and the choice bioassays showed that the beetles preferred to feed on *S. tuberosum*. However, they were not deterred by *S. commersonii* GAs. Some tolerance to these metabolites may be expected in a species that specializes at the

family level on the metabolite-rich Solanaceae. Similarly, previous studies on *E. cucumeris* found no clear trend between GAs and plant resistance to this beetle (Flanders et al. 1992; Tingey and Sinden 1982). On the other hand, these studies showed an effect of simple and glandular trichomes on *E. cucumeris* performance (Flanders et al. 1992), which may explain its preference for *S. tuberosum* in our field study, given that *S. commersonii* shows higher density of both types of trichomes (P. Altesor, unpublished).

In summary, our study provides a comparison of patterns of herbivory and constitutive chemical defenses of two closely related *Solanum* species; a cultivated one that has undergone decades of plant breeding for optimizing productivity, and a wild species that grows as a weed and that is therefore likely to be under strong natural selection. We have shown that herbivory differs both qualitatively and quantitatively between these plant species, with generalist and oligophagous insects preferring the cultivated *S. tuberosum*, and a specialist insect showing a strong preference for the wild *S. commersonii*. We also have shown that the wild plant produces more and structurally different GAs, the typical defensive metabolites of the genus *Solanum*, and established a clear relationship between these plant chemicals and the host plant preference, either positive or negative, of one specialist and one generalist insect. Therefore, plant domestication has seemingly weakened the chemical defensive capacity of the cultivated potato, but the better defended wild relative may still suffer severe damage as a

result of specialization. Finally, we have shown that the defensive role of GAs cannot be assumed equally effective against all generalist herbivores. This supports the current view regarding the improbable generalization of the impact of plant defenses on generalist and specialist herbivores (Ali and Agrawal 2012). Comparative system-approaches in plant-insect research can provide novel insights for the design of sustainable plant production systems, and an excellent study system to investigate some general but unanswered questions in ecology regarding the functioning of terrestrial communities.

Acknowledgments The authors acknowledge technical assistance by personnel of the National Institute for Agricultural Research (INIA) for processing germplasm material, and for field and greenhouse support. Glycoalkaloid standards were kindly provided by Prof. Fernando Ferreira of Universidad de la República, Uruguay. Dr. Nora Cabrera of Universidad Nacional de la Plata, Argentina, identified *Epirix argentinensis*. Prof. Jeremy McNeil of Western University, Canada, provided helpful suggestions for the manuscript. Mass spectrometry facilities were funded by the European Union Grant EU-URY 2003–5906. The National Agency for Research and Innovation (ANII) granted fellowships to P. Altosor and A. García. Support by the graduate program in Biological Sciences PEDECIBA is also acknowledged.

While in proof, *Tequus* sp. was identified as *Tequus schrottkyi* (Krnw.), by Dr. Stefan Schmidt, Curator for Hymenoptera, Zoologische Staatssammlung, Munich, Germany.

References

- Ali JG, Agrawal AA (2012) Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends Plant Sci* 17:293–302
- Barker A, Schaffner U, Boevé J-L (2002) Host specificity and host recognition in a chemically-defended herbivore, the tenthredinid sawfly *Rhadinoceraea nodicornis*. *Entomol Exp Appl* 104:61–68
- Bautista A, Parra F, Espinosa-García FJ (2012) Efectos de la domesticación de plantas en la diversidad fitoquímica. In: Rojas JC, Malo EA (eds) *Temas selectos en ecología química de insectos*. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), México, pp 253–267
- Bazzaz FA, Chiariello NR, Coley PD, Pitelka LF (2009) Allocating resources to reproduction and defenses. *Bioscience* 37:58–67
- Bellota E, Medina RF, Bernal JS (2013) Physical leaf defenses—altered by *Zea* life-history evolution, domestication, and breeding—mediate oviposition preference of a specialist leafhopper. *Entomol Exp Appl* 149:185–195. doi:10.1111/eea.12122
- Bernays E, Graham M (1988) On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology* 69:886–892
- Bowers MD, Boockvar K, Collinge SK (1993) Iridoid glycosides of *Chelone glabra* (Scrophulariaceae) and their sequestration by larvae of a sawfly, *Tenthredo grandis* (Tenthredinidae). *J Chem Ecol* 19: 815–823
- Carne PB (1962) The characteristics and behaviour of the saw-fly *Perga affinis affinis* (Hymenoptera). *Aust J Zool* 10:1–38
- Cole RA (1997) The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomol Exp Appl* 85:121–133. doi:10.1046/j.1570-7458.1997.00242.x
- Crockett SL, Boevé J-L (2011) Flavonoid glycosides and naphthodianthrones in the sawfly *Tenthredo zonula* and its host-plants, *Hypericum perforatum* and *H. hirsutum*. *J Chem Ecol* 37: 943–952. doi:10.1007/s10886-011-0001-x
- Dávila-Flores AM, DeWitt TJ, Bernal JS (2013) Facilitated by nature and agriculture: performance of a specialist herbivore improves with host-plant life history evolution, domestication, and breeding. *Oecologia* 173:1425–1437. doi:10.1007/s00442-013-2728-2
- Distl M, Wink M (2009) Identification and quantification of steroidal alkaloids from wild tuber-bearing *Solanum* species by HPLC and LC-ESI-MS. *Potato Res* 52:79–104
- Eich E (2008) *Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary metabolites*. Springer, Germany
- Eisner T, Johnessee JS, Carrel J (1974) Defensive use by an insect of a plant resin. *Science* 184:996–999
- Ferreira F, Moyna P, Soule S, Vázquez A (1993) Rapid determination of *Solanum* glycoalkaloids thin-layer chromatographic scanning. *J Chromatogr A* 653:380–384
- Flanders KL, Hawkes JG, Radcliffe EB, Lauer FI (1992) Insect resistance in potatoes: sources, evolutionary relationships, morphological and chemical defenses, and ecogeographical associations. *Euphytica* 61: 83–111
- Flanders KL, Radcliffe EB, Hawkes JG (1997) Geographic distribution of insect resistance in potatoes. *Euphytica* 93:201–221
- Fragoyannis DA, McKinlay RG, Mello JPDF (1998) Studies of the growth, development and reproductive performance of the aphid *Myzus persicae* on artificial diets containing potato glycoalkaloids. *Entomol Exp Appl* 88:59–66
- Fréchette B, Bejan M, Lucas E, Giordanengo P, Vincent C (2010) Resistance of wild *Solanum* accessions to aphids and other potato pests in Quebec field conditions. *J Insect Sci* 10(161):1–16. doi:10.1673/031.010.14121
- Friedman M (2002) Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. *J Agric Food Chem* 50:5751–5780
- Friedman M, McDonald GM, Filadelfi-keszi PM (1997) Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety, and plant physiology. *Crit Rev Plant Sci* 16:55–132
- Gepts P (2004) Crop domestication as a long-term selection experiment. *Plant Breed Rev* 24 (Part 2):1–44
- Gols R, Bukovinszky T, van Dam NM, Dicke M, Bullock JM, Harvey JA (2008a) Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild *Brassica* populations. *J Chem Ecol* 34:132–143. doi:10.1007/s10886-008-9429-z
- Gols R, Wagenaar R, Bukovinszky T, van Dam NM, Dicke M, Bullock JM, Harvey JA (2008b) Genetic variation in defense chemistry in wild cabbages affects herbivores and their endoparasitoids. *Ecology* 89:1616–1626
- Gregory P, Sinden SL, Osman SF, Tingey WM, Chessin DA (1981) Glycoalkaloids of wild, tuber-bearing *Solanum* species. *J Agric Food Chem* 29:1212–1215
- Güntner C, Gonzalez A, Dos Reis R, González G, Vázquez A, Ferreira F, Moyna P (1997) Effect of *Solanum* glycoalkaloids on potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *J Chem Ecol* 23:1651–1659
- Herms DA, Mattson WJ (1992) The dilemma of plants: to grow or defend. *Q Rev Biol* 67:283–283. doi:10.1086/417659
- Jansky SH, Simon R, Spooner DM (2009) A test of taxonomic predictivity: resistance to the Colorado potato beetle in wild relatives of cultivated potato. *J Econ Entomol* 102:422–431
- Kowalski SP, Domek JM, Deahl KL, Sanford LL (1999) Performance of Colorado potato beetle larvae, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), reared on synthetic diets supplemented with *Solanum* glycoalkaloids. *Amer J Potato Res* 76:305–312
- Le Roux V, Campan EDM, Dubois F, Vincent C, Giordanengo P (2007) Screening for resistance against *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* among wild *Solanum*. *Ann Appl Biol* 151:83–88. doi: 10.1111/j.1744-7348.2007.00155.x
- Lorenzen JH, Balbyshev NF, Lafta AM, Tian X, Sagredo B, Casper H (2001) Resistant potato selections contain leptine and inhibit development of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J Econ Entomol* 94:1260–1267

- Massei G, Hartley SE (2000) Disarmed by domestication? Induced responses to browsing in wild and cultivated olive. *Oecologia* 122: 225–231
- Morrow PA, Bellas TE, Eisner T (1976) *Eucalyptus* oils in the defensive oral discharge of Australian sawfly larvae (Hymenoptera: Pergidae). *Oecologia (Berl)* 24:193–206
- Mulatu B, Applebaum SW, Kerem Z, Coll M (2006) Tomato fruit size, maturity and α -tomatine content influence the performance of larvae of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bull Entomol Res* 96:173–178. doi:10.1079/ber2005412
- Müller C, Agerbirk N, Olsen CE, Boevé JL, Schaffner U, Brakefield PM (2001) Sequestration of host plant glucosinolates in the defensive hemolymp of the sawfly *Athalia rosae*. *J Chem Ecol* 27:2505–2516
- Murashige T, Skoog F (1962) Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15:473–497
- Nenaah G (2011a) Individual and synergistic toxicity of solanaceous glycoalkaloids against two coleopteran stored-product insects. *J Pest Sci* 84:77–86. doi:10.1007/s10340-010-0329-y
- Nenaah GE (2011b) Toxic and antifeedant activities of potato glycoalkaloids against *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae). *J Stored Prod Res* 47:185–190. doi:10.1016/j.jspr.2010.11.003
- Opitz SEW, Boevé J-L, Nagy ZT, Sonet G, Koch F, Müller C (2012) Host shifts from Lamiales to Brassicaceae in the sawfly genus *Athalia*. *PLoS One* 7:e33649–e33649. doi:10.1371/journal.pone.0033649
- Opitz SEW, Jensen SR, Müller C (2010) Sequestration of glucosinolates and iridoid glucosides in sawfly species of the genus *Athalia* and their role in defense against ants. *J Chem Ecol* 36:148–157. doi:10.1007/s10886-010-9740-3
- Pelletier Y, Pompon J, Dexter P, Quiring D (2010) Biological performance of *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphididae) on seven wild *Solanum* species. *Ann Appl Biol* 156:329–336. doi:10.1111/j.1744-7348.2010.00389.x
- Pianzola MJ, Zarantonelli L, González G, Franco Fraguas L, Vázquez A (2005) Genetic, phytochemical and biochemical analyses as tools for biodiversity evaluation of wild accessions of *Solanum commersonii*. *Biochem Syst Ecol* 33:67–78
- Poelman EH, Galiart RJFH, Raaijmakers CE, Van Loon JJA, Van Dam NM (2008) Performance of specialist and generalist herbivores feeding on cabbage cultivars is not explained by glucosinolate profiles. *Entomol Exp Appl* 127(3):218–228. doi:10.1111/j.1570-7458.2008.00700.x
- Pompon J, Quiring D, Giordanengo P, Pelletier Y (2010) Characterization of *Solanum chomatophilum* resistance to 2 aphid potato pests, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) and *Myzus persicae* (Sulzer). *Crop Prot* 29:891–897. doi:10.1016/j.cropro.2010.03.005
- Prieto JM, Schaffner U, Barker A, Braca A, Siciliano T, Boevé J-L (2007) Sequestration of furostanol saponins by *Monophadnus* sawfly larvae. *J Chem Ecol* 33(3):513–524. doi:10.1007/s10886-006-9232-7
- Rangarajan A, Miller AR, Veilleux RE (2000) Leptine glycoalkaloids reduce feeding by Colorado potato beetle in diploid *Solanum* sp. hybrids. *J Am Soc Hortic Sci* 125:689–693
- Roddick JG, Rijnenberg AL, Weissenberg M (1992) Alterations to the permeability of liposome membranes by the solasodine-based glycoalkaloids solasonine and solamargine. *Phytochemistry* 31: 1951–1954. doi:10.1016/0031-9422(92)80339-g
- Rosenthal JP, Dirzo R (1997) Effects of life history, domestication and agronomic selection on plant defence against insects: evidence from maize and wild relatives. *Evol Ecol* 11:337–355
- Schaffner U, Boevé J-L (1996) Sequestration of plant alkaloids by the sawfly *Rhadinoceraea nodicornis*: ecological relevance for different life stages and occurrence among related species. *Entomol Exp Appl* 80:283–285
- Schaffner U, Boevé J-L, Gfeller H, Schlunegger UP (1994) Sequestration of *Veratrum* alkaloids by specialist *Rhadinoceraea nodicornis* Konow (Hymenoptera, Tenthredinidae) and its ecoethological implications. *J Chem Ecol* 20(12):3233–3250
- Schmidt S, McKinnon AE, Moore CJ, Walter GH (2010) Chemical detoxification vs mechanical removal of host plant toxins in *Eucalyptus* feeding sawfly larvae (Hymenoptera: Pergidae). *J Insect Physiol* 56:1770–1776. doi:10.1016/j.jinsphys.2010.07.006
- Schmidt S, Smith DR (2006) An annotated systematic world catalogue of the Pergidae (Hymenoptera). *Contributions of the American Entomological Institute* 34:1–207
- Schmidt S, Walter GH, Moore CJ (2000) Host plant adaptations in myrtaceous-feeding pergid sawflies: essential oils and the morphology and behaviour of *Pergagraptia* larvae (Hymenoptera, Symphyta, Pergidae). *Biol J Linn Soc* 70:15–26. doi:10.1111/j.1095-8312.2000.tb00198.x
- Schoonhoven LM, van Loon JJA, Dicke M (2005) *Insect-plant biology*, 2nd edn. Oxford University Press, USA
- Schowalter TD (2006) *Insect ecology: An ecosystem approach*, 2nd edn. Press, Academic
- Small E (1996) Adaptations to herbivory in alfalfa (*Medicago sativa*). *Can J Bot* 74:807–822. doi:10.1139/b96-102
- Staba JE (1969) Plant tissue culture as a technique for the phytochemist. *Recent Adv Phytochem* 8:80
- Tait NN (1962) The anatomy of the sawfly *Perga affinis affinis* Kirby (Hymenoptera: Symphyta). *Aust J Zool* 10:652–683
- Tingey WM (1984) Glycoalkaloids as pest resistance factors. *Am Potato J* 61:157–167
- Tingey WM, Sinden SL (1982) Glandular pubescence, glycoalkaloid composition, and resistance to the green peach aphid, potato leafhopper, and potato flea beetle in *Solanum berthaultii*. *Am Potato J* 59:95–106
- van Gelder WMJ, Vinket JH, Scheffer JJC (1988) Steroidal glycoalkaloids in tubers and leaves of *Solanum* species used in potato breeding. *Euphytica* 158:147–158
- Vázquez A, González G, Ferreira F, Moyna P, Kenne L (1997) Glycoalkaloids of *Solanum commersonii* Dun. ex Poir. *Euphytica* 95:195–201
- Wise IL, Lamb RJ, Smith MAH (2001) Domestication of wheats (Gramineae) and their susceptibility to herbivory by *Sitodiplosis mosellana* (Diptera: Cecidomyiidae). *Can Entomol* 133:255–267
- Yencho GC, Kowalski SP, Kennedy GG, Sanford LL (2000) Segregation of leptine glycoalkaloids and resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) in F2 *Solanum tuberosum* (4x) x *S. chacoense* (4x) potato progenies. *Amer J Potato Res* 77(3):167–178



First report of *Tequus schrottkyi* (Konow) (Hymenoptera: Pergidae) in Uruguay, and information about its host plant and biology

Paula Altesor[‡], Andrés González[§], Stefan Schmidt[†]

[‡] Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

[§] Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

[†] SNSB-Zoologische Staatssammlung München (ZSM), Munich, Germany

Corresponding author: Paula Altesor (paltesor@gmail.com)

Academic editor: Michael Kuhlmann

Received: 16 Dec 2015 | Accepted: 08 Jan 2016 | Published: 13 Jan 2016

Citation: Altesor P, González A, Schmidt S (2016) First report of *Tequus schrottkyi* (Konow) (Hymenoptera: Pergidae) in Uruguay, and information about its host plant and biology. Biodiversity Data Journal 4: e7538. doi: [10.3897/BDJ.4.e7538](https://doi.org/10.3897/BDJ.4.e7538)

Abstract

Background

The sawfly family Pergidae is best represented in South America, and it is the third largest family in the suborder Symphyta. *Tequus* is a Neotropical genus that has been reported in association with host plants of the genus *Solanum* (Solanaceae), with little information about the life history of its members. *Tequus schrottkyi* (Konow, 1906) was described from Paraguay, without any information about its biology and host plant.

New information

We report the first record of *T. schrottkyi* from Uruguay, with information on its host plant and details of its biology. The identification was based on morphology, DNA barcode is provided to allow identification using molecular characters. This sawfly species is associated with *Solanum commersonii*, a native plant common in Uruguay. *Tequus schrottkyi* presents several generations between March and July. The larvae feed on

leaves and spin a silk cocoon in the soil in which they pupate. The adults exhibit sexual dimorphism, the female being larger than the male and with a different color pattern. The eggs are laid individually in the leaf margins into the leaf tissue. The larvae are unpalatable to a generalist predator, possibly due to defensive compounds sequestered from their host plant, known to contain toxic compounds.

Keywords

Tequus schrottkyi, sawfly, Pergidae, Symphyta, *Solanum commersonii*, potato

Introduction

The sawfly family Pergidae is distributed in North and South America and Australasia, with the majority of species occurring in South America (Schmidt and Smith 2006). It is the third largest family of the suborder Symphyta, after the Tenthredinidae and the Argidae, with currently 12 subfamilies, 60 genera, and 441 described species (Schmidt and Smith 2015). For most species there is little or no information about their biology and the plants on which they feed as larvae (Schmidt and Smith 2006).

The genus *Tequus* occurs in the Neotropical region and includes 14 species that have been recorded from the following countries: Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Nicaragua, Paraguay and Peru (Schmidt and Smith 2015). Larvae of a few *Tequus* species have been found associated with plants of the genus *Solanum* (Solanaceae) (Schmidt and Smith 2015), and some species occurring in Peru and Bolivia are economically important because they feed on the cultivated potato, *S. tuberosum* (Carrasco 1967, Munro 1954, Wille 1943, recorded as *Acordulecera* spp.). As with the family in general, there is little information about the biology of *Tequus* species. A key to species (as *Acordulecera* spp.) was given by Smith 1980 who later proposed a new genus *Tequus* for the members of the species group (Smith 1990). The genus can be separated from *Acordulecera* by the following characters: head widened behind eyes, antenna and lower interocular distance longer than in *Acordulecera*, mesoscutellum with large flangelike carina and posterior margin of metascutellum carinate (Smith 1990). In addition, the female saw of most species shows some peculiarities that are characteristic for the genus (figs 487-496 in Smith 1990).

Here we report the first record of *Tequus schrottkyi* (Konow, 1906) from Uruguay, with information about its host plant and details about its biology. This species was originally described from Paraguay, but without any information about its host plant.

Materials and methods

Tequus schrottkyi was found for the first time in a field experiment carried out in 2011 on the Experimental Station INIA - Las Brujas, Canelones, Uruguay (34°39'49.62"S; 56°20'23.23"W). This field plot experiment was carried out to compare the susceptibility of *Solanum tuberosum* and a native congener, *S. commersonii*, to insect herbivores. *Tequus schrottkyi* larvae were found almost exclusively feeding on leaves of *S. commersonii* (Altesor et al. 2014).

Between 2013 and 2015, seasonal samples were taken of *S. commersonii* plants in INIA - Las Brujas to evaluate the presence of *T. schrottkyi* (Fig. 1). Eggs and larvae were taken to the laboratory to test their feeding preferences (Altesor et al. 2014) and growth performance (P. Altesor, unpublished) on both *Solanum* species, thereby obtaining information about its biology that is included in present report.



Figure 1.

Solanum commersonii eaten by larvae of *T. schrottkyi* at INIA-Las Brujas field station.

Taxon treatment

Tequus schrottkyi (Konow 1906)

- BOLD Data http://www.boldsystems.org/index.php/Public_SearchTerms?query=DS-TEQSCH

Nomenclature

Acorduleceros Schrottkyi Konow 1906: 345-346. Type locality: Paraguay: Villa Encarnación. Lectotype female, designated by Smith 1980: 101. Type depository: Senckenberg Deutsches Entomologisches Institut, Müncheberg, Germany. Described: female.

Acordulecera schrottkyi: Smith 1978: 179.

Tequus schrottkyi: Smith 1990: 190.

Distribution

Paraguay, Uruguay

Ecology

In INIA - Las Brujas field station, *T. schrottkyi* larvae were only found feeding on *S. commersonii* in autumn and early winter between March and July. *Solanum commersonii* is a perennial plant that has its center of distribution in Uruguay, but also occurs in Paraguay, Brazil and Argentina (Spooner and Hijmans 2001). Therefore, this plant may also be the host of *T. schrottkyi* in Paraguay, where it was originally reported. Since *S. commersonii* foliage is less available during spring and summer in this area, it is assumed that *T. schrottkyi* enters diapause and/or moves to another host plant during the rest of the year.

Between March and July *T. schrottkyi* presents several generations. Field temperature range measured during the sampling months was of 25 ± 4 °C (average maximum in March) and 5 ± 4 °C (average minimum in June) (mean \pm SD) (INIA-Uruguay 2015). Under controlled laboratory conditions (21 ± 3 °C, 50 ± 10 % RH, 14:10 L:D regime), larvae collected as first and second instars (Figs 2, 3) and maintained on *S. commersonii* feeding on the leaves successfully completed their larval stage in less than 5 days and the prepupal and pupal stage to adulthood in approximately 9 days (P. Altesor, unpublished) (Fig. 4). Mature larvae form a silk cocoon in the soil in which they pupate (Fig. 5), with female pupae roughly twice as large as male pupae (20.4 ± 1.1 mg, N = 14 and males: 9.3 ± 0.5 mg, N = 12 (mean \pm SEM).



Figure 2.
First instar larvae of *T. schrottkyi*.



Figure 3.
First and second instar larvae of *T. schrottkyi* with feeding marks on *S. commersonii*.



Figure 4.
Later instar larva of *T. schrottkyi*.



Figure 5.
Cocoon of *T. schrottkyi*.

Biology

Adults are sexually dimorphic, the female being larger than the male and with a different colour pattern. Compared to females, males have the thorax more extensively orange, and the abdomen black except more or less yellow orange laterally (in the female, the abdomen is orange except basally and apically more or less black) (Figs 6, 7, 8). Sexual dimorphism is common in the Pergidae, and often is expressed by differences in the antennal structure, color, and body size (Schmidt and Smith 2006).



Figure 6.

Female of *T. schrottkyi* in lateral view (BOLD sample ID: BC-ZSM-HYM-21584-E11).



Figure 7.

Male of *T. schrottkyi* (BOLD sample ID: BC-ZSM-HYM-21584-F01).



Figure 8.
Female of *T. schrottkyi* on *S. commersonii* at INIA-Las Brujas field station.

Females lay the eggs individually in the leaf margin, into the leaf tissues as is typical of Symphyta (Smith 1990, Smith 1972, Weltz and Vilhelmsen 2014) (Fig. 9) (there are several eggs per leaf, but not clustered). In the laboratory, virgin females (24 - 48 h of age) laid eggs on *S. commersonii*, from which only male larvae emerged (arrhenotokous parthenogenesis).



Figure 9.
Egg of *T. schrottkyi* on *S. commersonii*.

Discussion

Three *Tequus* species are known to feed on *Solanum*, i.e. *Tequus munroi* (Smith) in Bolivia (Munro 1954), *Tequus willei* (Smith) in Peru (Wille 1943), and *Tequus ducra* (Smith) also in Peru (Arestegui 1976, Carrasco 1967, Ormachea and Galindo 1994). Possibly there is a fourth species, in Peru (García-Sinche and Catalán-Bazán 2011), but that species was not identified and could be one of the three described ones. Biological studies exist only for two species, i.e. *Tequus ducra* (Carrasco 1967, Ormachea and Galindo 1994) and *Tequus* sp. (García-Sinche and Catalán-Bazán 2011). Both species produce at least three generations per year, feeding on cultivated potato. The eggs are laid into the leaf tissues on the underside, near the veins. The larvae pupate in the ground. Adults are sexually dimorphic, the females being larger than the males. *Tequus* sp. enter diapause for six months, from April to October, as a prepupa in a silk cocoon. This diapausing period appears to be synchronised with the absence of the host plant and the dry season (García-Sinche and Catalán-Bazán 2011).

Among sawflies, the sequestration of defensive secondary metabolites derived from their host plants has been reported especially in Tenthredinidae and Pergidae (Opitz and Müller 2009, Morrow et al. 1976). In Pergidae, species of the Australian subfamily Perginae feed on *Eucalyptus* and related Myrtaceae. Larvae possess morphological adaptations on their mandibles to separate essential oils from nutritive plant matter, and store the oils in foregut diverticular pouches from where they are regurgitated for defensive purposes or at night without being disturbed, apparently as a mechanism to eliminate host-associated oils (Schmidt et al. 2000, Schmidt et al. 2010). In *T. schrottkyi*, preliminary tests with larvae facing the generalist predator *Schizocosa malitiosa* (Araneae, Lycosidae) resulted in the rejection of all larvae after contact, suggesting the presence of deterring substances. The host plant *S. commersonii* produces toxic glycoalkaloids, typical of some Solanaceae (Eich 2008), and ongoing studies focus on examining these plant metabolites as potential candidates for defensive substances used for defense in *T. schrottkyi*.

Acknowledgements

The authors acknowledge technical and logistic assistance by personnel of the National Institute for Agricultural Research (INIA, Uruguay). Financial aid and a doctorate fellowship were granted to PA by CSIC-UdelaR and CAP-UdelaR, respectively (Universidad de la República, Uruguay). The sequence analyses for this study were supported, in part, by Genome Canada through the Ontario Genomics Institute, while informatics support was provided through a grant from the Ontario Ministry of Research and Innovation.

References

- Altesor P, García Á, Font E, Rodríguez-Haralambides A, Vilaró F, Oesterheld M, Soler R, González A (2014) Glycoalkaloids of Wild and Cultivated Solanum: Effects on Specialist and Generalist Insect Herbivores. *Journal of Chemical Ecology* 40 (6): 599-608. DOI: [10.1007/s10886-014-0447-8](https://doi.org/10.1007/s10886-014-0447-8)
- Arestegui A (1976) Plagas de la papa en Andahuaylas. *Revista Peruana de Entomología* 19 (1): 97-98. [In Español].
- Carrasco ZF (1967) Algunas Plagas Registradas en Cusco. *Revista Peruana de Entomología* 10: 62-66.
- Eich E (2008) Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, 644 pp. DOI: [10.1007/978-3-540-74541-9](https://doi.org/10.1007/978-3-540-74541-9)
- García-Sinche SY, Catalán-Bazán W (2011) Observaciones del ciclo biológico y daño del “gusano esqueletizador de la papa” *Tequus* sp. Smith (Hymenoptera: Pergidae) en la Región de Cusco, Perú. *Revista Latinoamericana de la Papa* 16 (1): 68-84. [In Español].
- INIA-Uruguay (2015) Banco de datos agroclimático. <http://www.inia.uy/investigaci%C3%B3n-e-innovaci%C3%B3n/unidades/GRAS/Clima/Banco-datos-agroclimatico>. Accession date: 2015 11 26.
- Konow FW (1906) Neue südamerikanische Lophyrini. (Hym). *Zeitschrift für systematische Hymenopterologie und Dipterologie* 6: 337-347.
- Morrow PA, Bellas TE, Eisner T (1976) Eucalyptus Oils in the Defensive Oral Discharge of Australian Sawfly Larvae (Hymenoptera: Pergidae). *Oecologia (Berl)* 24: 193-206. DOI: [10.1007/bf00345473](https://doi.org/10.1007/bf00345473)
- Munro JA (1954) Outbreaks and new records. *FAO Plant Protection Bulletin* 2 (12): 187-189.
- Opitz SW, Müller C (2009) Plant chemistry and insect sequestration. *Chemoecology* 19 (3): 117-154. DOI: [10.1007/s00049-009-0018-6](https://doi.org/10.1007/s00049-009-0018-6)
- Ormachea E, Galindo J (1994) Ciclo biológico de *Acordulecera duca* Smith (Hymenoptera: Pergidae) en Cusco. *Revista Peruana de Entomología* 36: 49-51. [In Español].
- Schmidt S, Smith D (2006) An Annotated Systematic World Catalogue of the Pergidae (Hymenoptera). *Contributions of the American Entomological Institute* 34 (3): 1-972.
- Schmidt S, Smith D (2015) Pergidae of the World. <http://pergidae.net>. Accession date: 2015 12 01.
- Schmidt S, Walter GH, Moore CJ (2000) Host plant adaptations in myrtaceous-feeding Pergid sawflies: essential oils and the morphology and behaviour of *Pergagrapt* larvae (Hymenoptera, Symphyta, Pergidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 70 (1): 15-26. DOI: [10.1111/j.1095-8312.2000.tb00198.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2000.tb00198.x)
- Schmidt S, McKinnon AE, Moore CJ, Walter GH (2010) Chemical detoxification vs mechanical removal of host plant toxins in Eucalyptus feeding sawfly larvae (Hymenoptera: Pergidae). *Journal of Insect Physiology* 56 (12): 1770-1776. DOI: [10.1016/j.jinsphys.2010.07.006](https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.07.006)
- Smith DR (1978) Suborder Symphyta (Xyelidae, Pararchxyelidae, Parapamphiliidae, Xyelydidae, Karatavidae, Gigasiricidae, Sepulcidae, Pseudosiricidae, Anaxyelidae,

- Siricidae, Xiphydriidae, Paroryssidae, Xylotomidae, Blasticotomidae, Pergidae). In: van der Vecht J, Shenefeld RD (Eds) Hymenopterorum Catalogus, pars 14. 193 pp.
- Smith DR (1980) Identification of the *Acordulecera* "potato" sawflies of Peru and Bolivia, with descriptions of these and related species from South America (Hymenoptera; Pergidae). Journal of the Washington Academy of Sciences 70: 89-103.
 - Smith DR (1990) A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphyta) of America south of the United States: Pergidae. Revista Brasileira de Entomologia 34: 7-200.
 - Smith EL (1972) Biosystematics and Morphology of Symphyta - III. External Genitalia of *Euura* (Hymenoptera: Tenthredinidae): Sclerites, Sensilla, Musculature, Development and Oviposition Behavior. International Journal of Insect Morphology and Embryology 1 (4): 321-365.
 - Spooner D, Hijmans R (2001) Potato Systematics and Germplasm Collecting, 1989-2000. Am J Potato Res 78: 237-268.
 - Weltz C, Vilhelmsen L (2014) The saws of sawflies: exploring the morphology of the ovipositor in Tenthredinoidea (Insecta: Hymenoptera), with emphasis on Nematinae . Journal of Natural History 48 (3): 133-183. DOI: [10.1080/00222933.2013.791941](https://doi.org/10.1080/00222933.2013.791941)
 - Wille TJ (1943) Entomologia Agrícola del Peru. Estac. Exp. Agric. de la Molina, Lima, 468 pp.