
**¿LA VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE BACTERIAS ENDOSIMBIÓTICAS
MODIFICA LA AGRESIVIDAD DE UN INSECTO PLAGA?: CONSECUENCIAS
PARA EL MANEJO**

**DANIELA ALEJANDRA SEPÚLVEDA SANHUEZA
DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS**

RESUMEN

Las asociaciones simbióticas entre distintos organismos e insectos son comunes en la naturaleza. Algunas de estas asociaciones pueden conferir una ventaja adaptativa para los hospederos. Uno de los casos mejor estudiados es la asociación entre los áfidos, un grupo de insectos fitófagos, que a menudo constituyen plagas agrícolas, y distintas bacterias endosimbióticas. Los áfidos se encuentran asociados a una bacteria primaria de carácter obligado, *Buchnera aphidicola*, la cual es vital para la sobrevivencia de los áfidos, ya que les aporta aquellos aminoácidos esenciales que los áfidos no son capaces de obtener a partir de su dieta basada en el floema de sus plantas hospederas. Por otro lado, también existe una serie de bacterias de carácter secundario o facultativo, las cuales, si bien no son esenciales, pueden producir importantes efectos en el fenotipo de los áfidos, incluyendo protección contra el parasitismo, tolerancia al estrés térmico, ampliación del rango de uso de plantas hospederas, entre otros, todos rasgos que favorecen que los áfidos sean una importante y difícil plaga de controlar. Una importante plaga agrícola que produjo grandes pérdidas en la agricultura en los años 1970s en Chile es el áfido de cereales *Sitobion avenae*. Este áfido fue presumiblemente introducido desde Europa y la zona Mediterránea, y tuvo un importante éxito en su establecimiento en Chile. El control de *S. avenae* se logró gracias a la introducción de enemigos naturales tales como depredadores y parasitoides. Hasta ahora, se desconoce el papel que los endosimbiontes facultativos pueden tener sobre el éxito de esta plaga, y de cómo podrían modificar el fenotipo de estos áfidos. En la actualidad se asume que los endosimbiontes facultativos juegan un papel muy importante en la capacidad de éxito de las especies plaga como los áfidos, es por ello, que el estudio de éstos es necesario para poder comprender el éxito de plagas agrícolas en distintos

ambientes, más aún, en aquellos lugares donde esta plaga ha sido introducida exitosamente como es el caso de Chile. El conocimiento del rol de los endosimbiontes sobre importantes rasgos de importancia agronómica como la protección contra el control biológico de áfidos o la tolerancia al stress térmico, podría ser usado para desarrollar nuevas estrategias de control. Esto parece relevante tanto para para la situación de nuestro país, dado que el control de *S. avenae* está sujeto al éxito del control biológico, como a nivel global, bajo un escenario de cambio climático. Esta tesis se centró en el estudio de los endosimbiontes secundarios en *S. avenae*, de forma de encontrar patrones que podrían dar cuenta del rol putativo de éstos en el éxito de *S. avenae* como plaga invasiva. De esta forma, en el capítulo 2 se estudió la actual diversidad genética de *S. avenae* en Chile, el área invadida, y Francia, el área nativa, durante la primavera de 2017 y 2018. Este tipo de estudio permitió identificar aquellos genotipos más exitosos en ambos países y así poder posteriormente asociarlo a la presencia de sus endosimbiontes secundarios. Los resultados mostraron que la diversidad genética de *S. avenae* en Chile es muy baja comparado a su área nativa; de hecho, diez genotipos representaron el 84% del total de la diversidad genética. Además, se encontró importante variación entre eso diez genotipos los años estudiados. Dado que asociaciones específicas entre genotipos de *S. avenae* y especies de endosimbiontes secundarios podrían dar cuenta del rol putativo de éstos en el éxito invasivo de *S. avenae*; en el capítulo 3 se estudió la distribución espacial y temporal de los endosimbiontes secundarios en *S. avenae* tanto en Chile como en Francia, además se estudió la existencia de posibles asociaciones entre los genotipos más frecuentes de *S. avenae* y especies de endosimbiontes en ambos países. Si bien no se detectó una clara evidencia de variación espacial en la frecuencia de endosimbiontes secundarios, se encontró una importante variación temporal entre las temporadas estudiadas en Chile, con *Hamiltonella defensa* presente solo en uno de los años estudiados. Por otra parte, la presencia de *H. defensa* estuvo ligada a la presencia de determinados genotipos, los cuales en su mayoría no estuvieron presentes en la temporada 2017, dando cuenta de una posible asociación entre genotipos de *S. avenae* y

determinadas especies de endosimbiontes, relación que no fue detectada en Francia, ya que los endosimbiontes secundarios estuvieron ampliamente distribuidos en la mayoría de los genotipos. En el capítulo 4 se estudió la diversidad genética de los endosimbiontes secundarios de diferentes genotipos de *S. avenae*, incluyendo tantos genotipos frecuentes de Chile como de Francia. Además, se evaluó el uso de diversos tratamientos basados en antibióticos para la eliminación de las distintas cepas de bacterias detectadas y cómo la ausencia de estos endosimbiontes secundarios afectan los rasgos de historia de vida. Los resultados de este capítulo mostraron que los genotipos estudiados en Chile solo poseen una cepa de la bacteria *Regiella insecticola*, mientras que los genotipos franceses poseían las cuatro cepas detectadas. Por otra parte, ciertas cepas de bacterias fueron más susceptibles a los tratamientos con antibióticos, mientras que otras, principalmente la cepa de *R. insecticola* encontrada en los genotipos de Chile, lograron ser eliminadas a mayores concentraciones de antibióticos. Por otro lado, la eliminación de los endosimbiontes secundarios no tuvo un efecto sobre los rasgos de historia de vida en ninguno de los genotipos estudiados, demostrando que probablemente el efecto de las distintas cepas detectadas solo podría ser manifestado bajo condiciones específicas. Finalmente, dado que ciertos endosimbiontes secundarios podrían otorgar protección contra el parasitismo y tolerancia térmica, en el capítulo 5 se estudió la variación temporal en la densidad de *S. avenae*, su tasa de parasitismo, la frecuencia de sus endosimbiontes secundarios y su relación a las temperaturas máximas registradas en dos zonas con diferentes temperaturas máximas durante dos temporadas. Los resultados mostraron una mayor densidad de áfidos en la zona con mayores temperaturas máximas, sin embargo, la tasa de parasitismo no mostró diferencias entre las zonas. Por otro lado, el efecto de las temperaturas máximas registradas dependió de la zona y temporada analizada. *Regiella insecticola* fue el endosimbionte más frecuente en ambas zonas y temporadas, ya que estuvo presente en el 95% del total de individuos analizados, mostrando que aparentemente no tendría un rol en conferir protección contra parasitoides o tolerancia térmica a *S. avenae* en el campo.

ABSTRACT

Symbiotic associations between different organisms and insects are common in nature. Some of these associations may confer an adaptive advantage for the hosts. One of the best-studied cases is the association between aphids, a group of phytophagous insects, which often constitute agricultural pests, and different endosymbiotic bacteria. Aphids are associated with a primary bacterium of an obligate nature, *Buchnera aphidicola*, which is vital for the survival of aphids since it provides them with those essential amino acids that aphids are not able to obtain from their diet based on the phloem of their host plants. On the other hand, there is also a series of secondary or facultative bacteria, which, although they are not essential, can produce significant effects on the aphid phenotype, including protection against parasitism, tolerance to heat stress, and widening the host plants range of their hosts, among others, all traits that make aphids an important and challenging pest to control. An important agricultural pest that caused significant losses in agriculture in the 1970s in Chile is the cereal aphid *Sitobion avenae*. This aphid was presumably introduced from Europe and the Mediterranean zone and had significant success in Chile's establishment. The control of *S. avenae* was achieved thanks to the introduction of natural enemies such as predators and parasitoids. Until now, the role that facultative endosymbionts may have on this pest's success and how they could modify the phenotype of these aphids is unknown. Nowadays, it is assumed that facultative endosymbionts play a critical role in the success of pest species such as aphids, that is why the study of secondary endosymbionts is necessary to understand the success of agricultural pests in different environments, moreover, in those places where this pest has been successfully introduced, like Chile. The knowledge of the role of endosymbionts on important traits of agronomic importance, such as protection against the biological control of aphids or tolerance to heat stress, could be used to develop new control strategies. This last seems relevant for our country's situation, given that *S. avenae* is subject to the success of biological control and, at a global level, under the climate change scenario. This thesis

focused on the study of secondary endosymbionts in *S. avenae* to find patterns that could account for the putative role of secondary endosymbionts in the success of *S. avenae* as an invasive pest. Hence, in chapter 2, the current genetic diversity of *S. avenae* in Chile, the invaded area, and France, the native area, was studied during the springs of 2017 and 2018 in both countries later to associate it with the presence of secondary endosymbionts. The results show that the diversity of *S. avenae* in Chile is exceptionally low compared to its native area; in fact, ten genotypes represented 84% of the total genetic diversity. Moreover, significant variation between years in the presence of a particular genotype was found. Because specific associations between *S. avenae* genotypes and secondary endosymbiont species could account for the putative role of endosymbionts in the invasive success of *S. avenae*; In chapter 3, the spatial and temporal distribution of secondary endosymbionts in *S. avenae* from Chile and France was studied. Furthermore, possible associations between the most frequent genotypes of *S. avenae* and endosymbiont species in both countries were also examined. Although no clear evidence of spatial variation was detected in the frequency of secondary endosymbionts, a significant temporal variation was found between Chile's studied seasons, with *Hamiltonella defensa* present only in one of the years studied. On the other hand, *H. defensa* was linked to the presence of specific genotypes, most of which were not present in the 2017 season, indicating a possible association between certain genotypes of *S. avenae* and certain species of endosymbionts. This relationship was not detected in France since secondary endosymbionts were widely distributed in most genotypes. In chapter 4, we studied the genetic diversity of the secondary endosymbionts of different genotypes of *S. avenae*, including the most frequent genotypes from Chile and France. Moreover, various antibiotic-based treatments to eliminate the different bacteria strains were tested to evaluate later how the absence of these secondary endosymbionts affected life-history traits on their hosts. This chapter's results showed that the genotypes studied in Chile only possess one strain of the bacterium *Regiella insecticola*, while the French genotypes possessed the four strains detected. On the other hand, certain bacteria strains were more susceptible to the antibiotic treatments, while others, mainly the

R. insecticola strain found in the Chilean genotypes, were eliminated at higher concentrations of antibiotics. On the other hand, eliminating the secondary endosymbionts did not affect the life-history traits in any of the studied genotypes, showing that the effect of the different strains detected could only be manifested in the phenotype of aphids under specific conditions. Because certain secondary endosymbionts could protect their hosts from parasitism and confer thermal tolerance, chapter 5 studied the temporal variation in the density of *S. avenae*, its parasitism rate, the frequency of its secondary endosymbionts, and its relationship to the maximum temperatures recorded in two zones that displayed different maximum temperatures during two consecutive seasons. The results showed a higher density of aphids in the zone with the higher maximum temperatures; however, the parasitism rate did not show differences between the zones. On the other hand, the effect of the maximum temperatures on aphid density and parasitism rate depended on the zone and season analyzed. *Regiella insecticola* was the most frequent endosymbiont in both zones and seasons since it was present in 95% of the total of individuals analyzed, showing that it apparently would not have a role conferring protection against parasitoids or thermal tolerance to *S. avenae* at field level.