



Universidad de Buenos Aires

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Carrera de Ciencias Biológicas

Efecto de la dieta y la temperatura de cría sobre el número de ovariolas en especies cactófilas de *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae)

Tesis de licenciatura

Daniela Ayelén Peluso

Director: Julián Mensch

Director Asistente: Lucas Eli Kreiman

Laboratorio de Evolución,

Departamento de Ecología, Genética y Evolución – IEGEBA

(CONICET-UBA).

Marzo 2025

Índice

Índice	2
Agradecimientos.....	4
Resumen.....	5
Title and Abstract	6
1. Introducción.....	8
1.1. Plasticidad fenotípica	8
1.1.1. Efectos térmicos y nutricionales sobre la plasticidad fenotípica durante el desarrollo.	10
1.2. Las especies cactófilas del género <i>Drosophila</i> como modelo de estudio ecológico-evolutivo	10
1.3. Plasticidad fenotípica en el número de ovaríolas.....	13
2. Objetivos e hipótesis	15
2.1. Objetivo general.....	16
2.2. Objetivos específicos	16
2.3. Hipótesis.....	16
3. Materiales y métodos	16
3.1. Colecciones de moscas y mantenimiento de <i>stock</i>	16
3.2. Dietas naturales y semi-naturales	17
3.3. Temperatura de cría	18
3.4. Medición del número de ovaríolas.....	18
3.5. Análisis estadístico	19
3.5.1. Efecto de la dieta sobre el número de ovaríolas en ambas especies	20
3.5.2. Norma de reacción del número de ovaríolas para <i>D. buzzatii</i> a diferentes temperaturas.....	20
4. Resultados	21
4.1. Efecto de la dieta sobre el número de ovaríolas en ambas especies a 25°C.....	21
4.2. Análisis comparativo entre las dietas semi-naturales y naturales.....	22
4.3. Efecto de la temperatura sobre el número de ovaríolas para <i>D. buzzatii</i>	24

5. Discusión.....	27
5.1. Comparación del número de ovaríolas de <i>D. buzzatii</i> y <i>D. koepferae</i> al ser criadas en <i>O. sulphurea</i> o <i>T. terscheckii</i> a 25 °C.....	27
5.1.2. Plasticidad fenotípica a 25 °C.....	28
5.2. Comparación del número de ovaríolas para ambas especies en individuos criados en el laboratorio vs. individuos emergidos en sustratos recolectados a campo.....	28
5.3. Normas de reacción del número de ovaríolas de <i>D. buzzatii</i> desarrolladas en ambos cactus y bajo diferentes temperaturas de cría (17, 25 y 30 °C).....	29
6. Conclusiones.....	30
7. Bibliografía	31
8. Anexo.....	38

Agradecimientos

- ★ A Julian Mensch, mi director de Tesis, por toda la paciencia y ánimo que me diste siempre. Gracias por darme la increíble oportunidad de trabajar en el laboratorio, algo que siempre digo que me enorgullece mucho.
- ★ A Lucas Kreiman, por ser un gran compañero y amigo, tanto en clases como congresos, y ahora, un gran director asistente de Tesis que puso mucho ojo a los detalles, me ayudó en los momentos en los que me bloqueaba con la escritura y me enseñó a usar el “R”.
- ★ A Esteban Hasson y al IEGEBA, por prestar los fondos, medios e instalaciones para el desarrollo de los experimentos. Durante mucho tiempo la lupa de Esteban fue mi lugar de trabajo y se lo agradezco mucho.
- ★ A la Universidad de Buenos Aires, por proveerme una educación gratuita y de calidad; y por financiar parte de la tesis mediante una beca estímulo.
- ★ A todos los que colaboraron con la recolección y mantenimiento de las moscas.
- ★ A los jurados, por prestar su tiempo, conocimiento e interés a favor de esta tesis.
- ★ A todos los profesores y amigos que hice en el transcurso de la facultad que me ayudaron a avanzar hasta donde estoy ahora.
- ★ A mis amigos de la vida que festejaron mis logros y me animaron cuando algo se me dificultaba.
- ★ A mi familia que siempre me quiso ayudar con lo que sea que pudieran hacer por mí.
- ★ A mi mamá Carmen que me bancó hasta en las que no necesitaba hacerlo. Gracias por todo.
- ★ A mi papá Daniel y mi abuela Nilda, que aunque no están más conmigo, están siempre en mi corazón.

Resumen

La plasticidad fenotípica se refiere a la capacidad de un genotipo para expresarse de diferentes maneras en respuesta a factores ambientales. La temperatura y la dieta de los organismos se encuentran entre aquellos factores que afectan a los caracteres plásticos que influyen el *fitness* individual, como es el caso del número de ovariolas en *Drosophila*. *Drosophila buzzatii* y *Drosophila koepferae* son un par de especies hermanas y sinmórficas de hábito de vida cactofílico que comparten, parcialmente, un nicho ecológico y se las conoce por poner huevos en tejidos de cactus necróticos de las especies *Opuntia sulphurea* y *Trichocereus terscheckii*; dos de sus hospedadores principales. Se evaluó y comparó el efecto de la dieta sobre el número de ovariolas al colocar isolíneas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* en cada cactus a 25 °C. Se pudo determinar que *O. sulphurea* fue el mejor medio de cría en ambos casos y cómo ésta influyó positivamente en sus respectivas normas de reacción.

Se compararon los efectos de una dieta natural y semi-natural sobre el número de ovariolas para poder determinar si hubo arrastre de la crianza en laboratorio y no se encontraron diferencias significativas.

D. buzzatii fue criada también a temperaturas de 17 y 30 °C en ambos cactus, pudiéndose observar como la dieta y la temperatura tuvieron efecto sobre la plasticidad en el desarrollo de sus ovariolas en cada caso. A 17, 25 y 30 °C, *D. buzzatii* presentó un aumento en la varianza poblacional de su número de ovariolas acorde con la temperatura, presentando a su vez, una caída en la fertilidad a los 30 °C.

Esta Tesis contribuye a ampliar nuestro entendimiento sobre las *Drosophilas* cactófilas, que son modelos excepcionales para estudios evolutivos, al analizar cómo el desarrollo del número de ovariolas varía de manera plástica frente a cambios en el ambiente, como la dieta y la temperatura. También permite entender patrones comportamentales para evitar la competencia entre especies y establecer parámetros en los cuales las poblaciones de *D. buzzatii* pueden prosperar sin perjudicar su progenie.

Title and Abstract

The effect of diet and breeding temperature over the number of ovarioles in cactophile species of *Drosophila*.

Phenotypic plasticity refers to the ability of a genotype to express itself in different ways in response to environmental factors. The temperature and diet of the organisms are among those factors that affect the plastic characters that influence individual fitness, as is the case with the number of ovarioles in *Drosophila*. *Drosophila buzzatii* and *Drosophila koepferae* are a pair of sister and sinmorphic species with a cactophilic life habit that partially share an ecological niche and are known to lay eggs in tissues of necrotic cacti of the species *Opuntia sulphurea* and *Trichocereus terscheckii*; two of its main hosts. By placing isolines of *D. buzzatii* and *D. koepferae* in each cactus at 25 °C, it was possible to evaluate and compare the number of ovarioles as a result of the diet. It was determined that *O. sulphurea* was the best breeding medium in both cases and how it positively influenced their respective reaction norms.

The effects of natural and semi-natural diets were compared so that it could be determined if there was an influence of breeding in a laboratory setting over the ovariole number, yet no significant differences were found.

D. buzzatii was also bred at 17 and 30 °C in each cactus, letting us observe the effects of the diet and temperature over the plasticity in the development of their ovarioles in each case. At 17, 25 and 30 °C, *D. buzzatii* presented an increase in the population variance of its number of ovarioles consistent with temperature, but also it presented a drop in fertility at 30 °C.

This thesis allows us to expand our knowledge about these cactophilic *Drosophilas*, which are excellent models for evolutionary studies, by analyzing how the development of the number of ovarioles varies plastically in the face of changes in the environment, such as diet and temperature. It also allows us to understand behavioral patterns to avoid competition between species, and establish parameters in which *D. buzzatii* populations can thrive without harming their progeny.

Parte de los resultados de esta Tesis se encuentran publicados en:

Peluso D., Soto E.M., Kreiman L., Hasson E. & Mensch, J. (2016) *Contrasting Plasticity in Ovariole Number Induced by A Dietary Effect of the Host Plants between Cactophilic Drosophila Species*. *Insects*, 7(2), 21.

1. Introducción

En el año 1911, Wilhelm Johansen acuñó los términos de genotipo y fenotipo para referirse a los factores internos heredados (su conjunto de genes o “genoma”) y a las cualidades físicas observables de un organismo (rasgos estructurales, bioquímicos, fisiológicos y conductuales), respectivamente (Naya, 2010). Surgida del reciente interés en la biología evolutiva del desarrollo (Evo-Devo, por sus siglas en inglés), la importancia del desarrollo en la evolución se incrementó; lo cual trajo a la luz el hecho de que un genotipo no puede generar un solo fenotipo sino un rango de fenotipos posibles, y que éstos están determinados por el ambiente (Pigliucci, et al., 2006). Este concepto ganó importancia en el campo de la biología evolutiva para poder explicar cambios producidos en los organismos durante su ciclo de vida y no solo entre generaciones. A esto se le sumó el conocimiento de que la selección natural no selecciona entre genotipos sino entre fenotipos.

La evolución requiere variación fenotípica heredable y ésta puede surgir de la diversidad genética subyacente o por efecto de la plasticidad fenotípica (que en sí misma es heredada). Un fenotipo que nunca ha aparecido no puede ser seleccionado. Por lo tanto, el ambiente viene a jugar un rol muy importante en la evolución, produciendo variación fenotípica incluso más viable que las mutaciones. (Whitman, D.W. & Ananthakrishnan, T.N., 2009).

1.1. Plasticidad fenotípica

La interacción entre el ambiente y el genotipo genera una variación en la expresión de los genes y por lo tanto influencia los procesos evolutivos de la adaptación (K. Donohue, 2016). Esto incluye la posibilidad de modificar sus propias trayectorias del desarrollo en respuesta a estímulos ambientales específicos y también habla de la habilidad de un organismo de cambiar sus estados fenotípicos (como, por ejemplo, su metabolismo) en respuesta a alteraciones en las condiciones ambientales (Garland, Jr & Kelly, 2006). A estas expresiones fenotípicas de un genotipo determinado expuesto a diferentes condiciones ambientales se las puede representar con funciones conocidas como normas de reacción.

La norma de reacción es la trayectoria desarrollada por un genotipo en el espacio bidimensional ambiente-fenotipo, mientras que la plasticidad es la desviación de dicha trayectoria con respecto a una recta de pendiente nula (Naya, 2010). En la Figura 1 se pueden ver las siguientes normas de reacción: (A) Norma de reacción paralela al eje de las abscisas (es decir, sin plasticidad fenotípica) con diferencias genéticamente consistentes entre genotipos entre ambos ambientes. (B) Pendientes paralelas indicando plasticidad y variación genética aditiva para el carácter, pero sin interacción. Ambos fenotipos son similarmente

plásticos. (C) Pendientes diferentes para ambas normas de reacción, indicando variación genética por plasticidad. Hay un efecto del ambiente porque el total de las pendientes es positivo, pero las medias marginales de los fenotipos no cambian entre genotipos, por lo que no hay un efecto genético principal. (D) Como en C, las medias marginales de los grupos son iguales, pero ambos tienen reacciones opuestas al ambiente. Por lo tanto, aquí solo se ilustra la variación de la interacción entre el genotipo y el ambiente. (Adaptado de Dewitt & Scheiner, 2004).

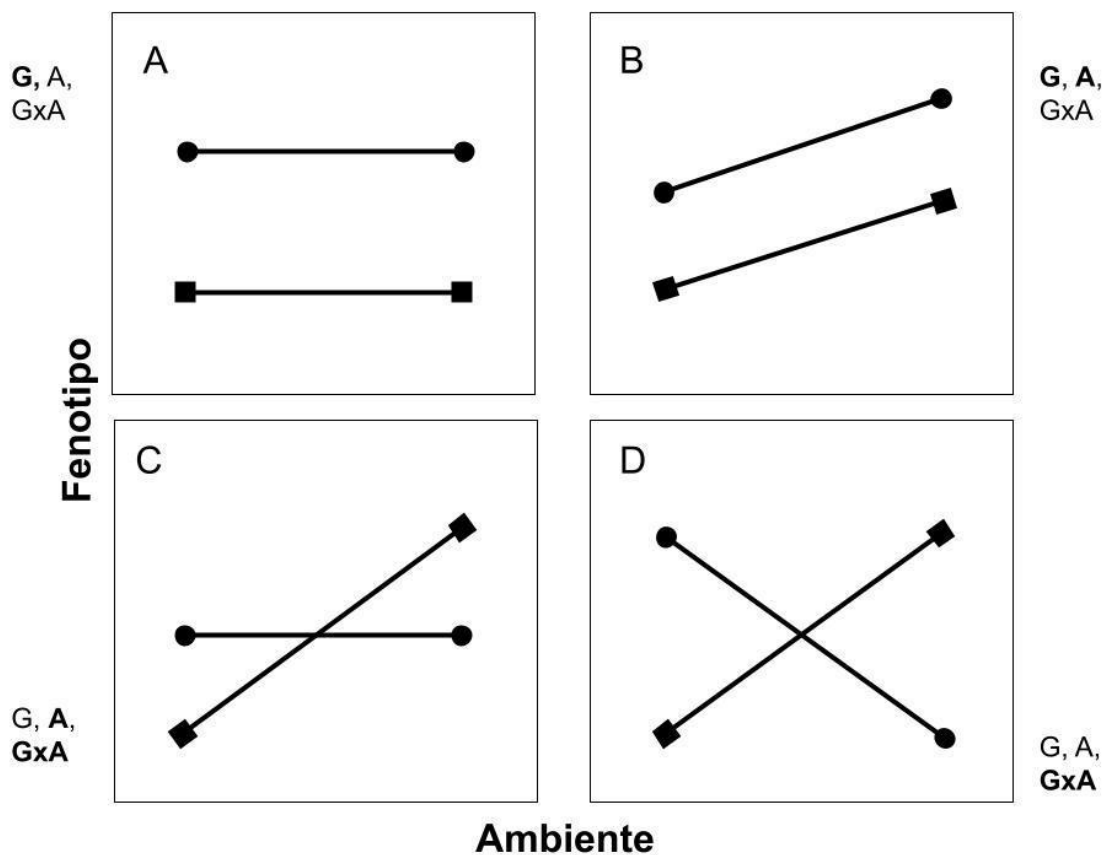


Figura 1: Las diferentes normas de reacción. El fenotipo promedio y su variante en dos ambientes para un genotipo están denotados con círculos, y los correspondientes para el otro genotipo están denotados con cuadrados. Los ítems en negrita adyacentes a los paneles (G, A, GxA) indican interacciones significativas en las varianzas a nivel genético, ambiental o genético-ambiental, respectivamente.

Las respuestas plásticas se pueden clasificar según el criterio de reversibilidad de los cambios. Es decir, aquellos cambios que no son reversibles reciben el nombre de plasticidad del desarrollo, mientras que si lo son entonces reciben el nombre de flexibilidad fenotípica. A su vez, cada una de estas categorías se subdivide respectivamente de acuerdo a si los cambios son estacionales (Polifenismos) o no (Estados del ciclo de vida) (Naya, 2010).

1.1.1. Efectos térmicos y nutricionales sobre la plasticidad fenotípica durante el desarrollo.

La temperatura es un determinante muy importante en las historias de vida: de los patrones del desarrollo durante la vida, diferenciación, crecimiento, mantenimiento de reservas, edad de madurez, patrones de fecundidad y longevidad (Atkinson 1996; Nylin & Gotthard 1998; Whitman & Ananthakrishnan, 2009). Uno de los casos más conocidos del efecto de la temperatura sobre el fenotipo son los animales que tienen un sistema de determinación sexual que depende de la temperatura del desarrollo, como ocurre en tortugas, cocodrilos y peces (Gilbert, 2000).

Un caso notable de plasticidad frente a la temperatura sucede en *Drosophila suzukii* (Matsumura), especie que frente a las arduas condiciones invernales (como lo son las bajas temperaturas, junto a la escasa comida e hidratación) desarrolla una “morfología de invierno” caracterizada por cutículas más oscuras que se suman a un estado de dormancia o inactividad (también conocido como “*overwintering*”). Esta morfología en los adultos presenta un desarrollo reducido en los ovarios (Mitsui, et al., 2010), una tolerancia mayor a la breve exposición a las bajas temperaturas que sus contrapartes morfológicas de verano (Stephens, et al., 2015), y han sido descritas estando en diapausa reproductiva (Zerulla, 2015). Sin embargo, no se ha establecido si se trata de una verdadera diapausa o una consecuencia del “*overwintering*” (Toxopeus, et al., 2016).

La dieta también puede alterar profundamente la historia de vida de un insecto, por ejemplo, modificando su tasa de desarrollo, tamaño corporal, número de ovariolas, tamaño de la puesta y de sus huevos, que a su vez alteran la historia de vida de su progenie (Whitman, & Ananthakrishnan, 2009). Caracteres plásticos que puedan influenciar el *fitness* individual y la diversidad de la dieta pueden ser encontrados en un grupo de morfologías que exhiben respuestas compensatorias a distintas dietas (Slansky & Rodriguez, 1987). Tales efectos inducidos por la dieta han sido observados, por ejemplo, en la morfología de varios insectos, peces, y taxones de mamíferos (Bernays & Barbehenn, 1987; Greene, 1989; Holbrook, 1982; Meyer, 1987; Moore, 1965).

1.2. Las especies cactófilas del género *Drosophila* como modelo de estudio ecológico-evolutivo

Las especies de las moscas del vinagre (“de la fruta”), o *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae), del grupo *repleta* constituyen un grupo monofilético de moscas neotropicales que se ha

diversificado en el hemisferio occidental, al adoptar un estilo de vida cactofílico que les permite prosperar en los desiertos americanos (Oliveira, et al., 2012; Wasserman, 1982). Las hembras ponen huevos en tejidos de cactus necróticos (Figura 2), que es el ambiente particular en el que las larvas se alimentan hasta la pupa. Esta dieta no solo consiste en carbohidratos y lípidos derivados de los tejidos del cactus en descomposición (Carreira, 2014; Padró, & Soto, 2013), sino también en proteínas de levaduras y bacterias involucradas en el proceso de descomposición (Koch, et al., 2015).

Este sistema cactus-levadura-*Drosophila* es un excelente modelo para estudiar el impacto de los hospedadores naturales en la capacidad reproductiva de las moscas. En ese sentido, las moscas cactófilas adquieren relevancia por cumplir con los requisitos necesarios para convertirse en modelos de estudios evolutivos: no son, en líneas generales, especies comensales del hombre, tienen sustratos de cría conocidos, accesibles y, además, algunas de estas moscas son relativamente fáciles de mantener en laboratorio (Ruiz & Wasserman, 1993).



Figura 2: Hospedadores naturales de las especies de *Drosophila* cactófilas. (A) *Opuntia sulphurea*; (B) *Trichocereus terscheckii*; (C) Tunas en estado de putrefacción de *O. sulphurea*; (D) Descomposición de tejidos de *T. terscheckii*; (E) Acercamiento del tejido de *T. terscheckii* en descomposición.

En América Central y América del Sur, una de las radiaciones del grupo *D. repleta* (Wollaston) dio origen al complejo *Drosophila buzzatii* (Patterson & Wheeler) que incluye los *clusters* *D.*

buzzatii, *Drosophila martensis* (Wasserman & Wilson) y *Drosophila stalker* (Wheeler) (Fontdevila, 1989). El primero es un ensamble de siete especies cactófilas cercanamente emparentadas, *D. buzzatii*, *Drosophila koepferae* (Fontdevila & Wasserman), *Drosophila antonietae* (Tidon-Sklorz & Sene), *Drosophila serido* (Vilela & Sene), *Drosophila borborema* (Vilela & Sene), *Drosophila seriema* (Tidon-Sklorz & Sene) y *Drosophila gouveai* (Tidon-Sklorz & Sene), que habitan las tierras áridas y semiáridas de América del Sur. Todas las especies son endémicas de América del Sur, excepto *D. buzzatii* que alcanzó una distribución semi-cosmopolita mediante la dispersión mediada por el hombre de las plantas del género *Opuntia* (Hasson, et al., 1992).

Los patrones del uso de las plantas hospedadoras en el *cluster D. buzzatii* son principalmente conocidos en *D. buzzatii* y su pariente *D. koepferae* (Fanara, et al., 1999; Fanara, et al., 2006; Fontdevila, et al., 1988), los cuales son un par de especies con distribución solapante en las tierras áridas del noroeste de Argentina y el sur de Bolivia (Barrios-Leal, et al., 2019; Fanara, et al., 1999), como se puede observar en la Figura 3.

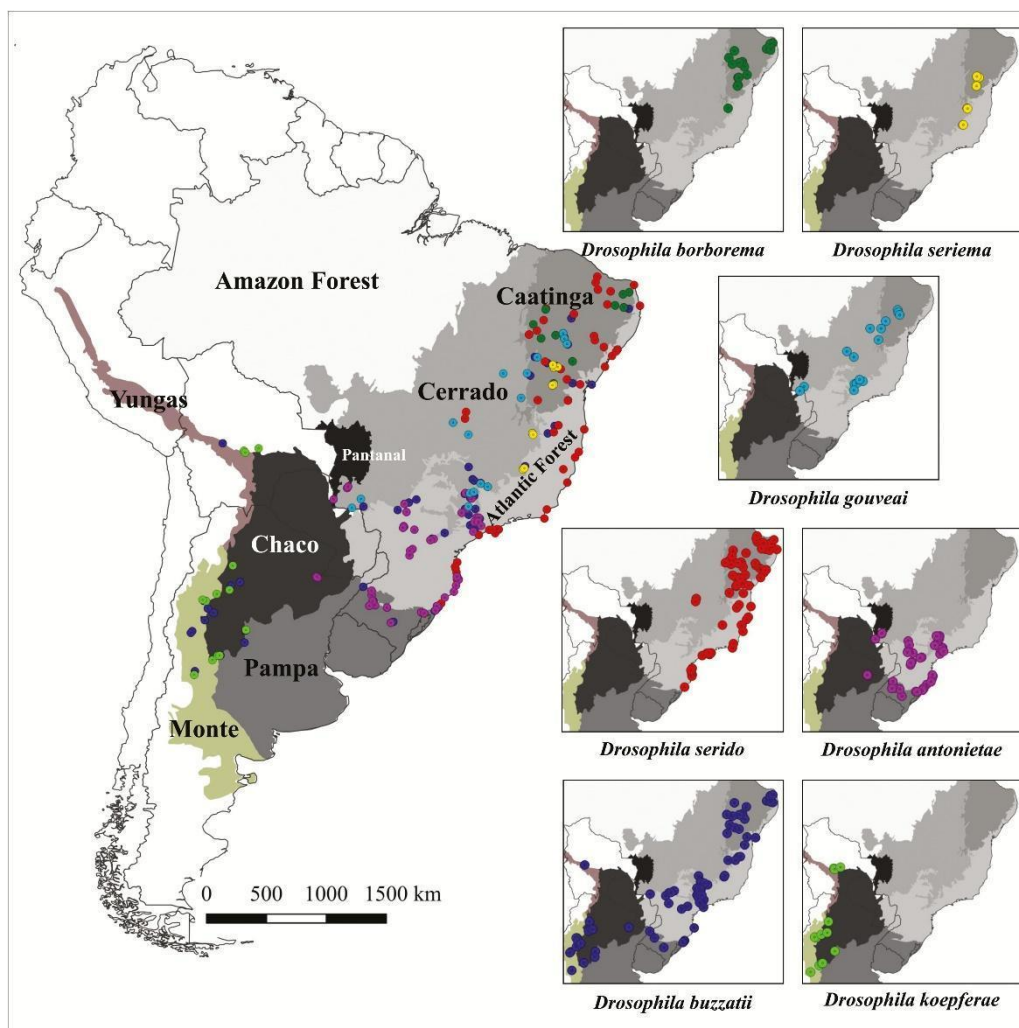


Figura 3: Mapa topológico de las distribuciones geográficas utilizadas para modelar las distribuciones del *cluster* de *Drosophila buzzatii*. Nota: Adaptado de Barrios-Leal, D. et al., 2018.

Estas dos especies son sinmórficas y sólo se pueden reconocer morfológicamente por las diferencias en la genitalia de los machos (Fontdevila, et al., 1988). Si bien el nicho ecológico de ambas especies se encuentra parcialmente solapado, *D. koepferae* se cría principalmente en necrosis de cactus columnares de los géneros *Trichocereus* y *Cereus* y solo ocasionalmente en cladodios de tunas del género *Opuntia*. A la inversa, *D. buzzatii* se cría principalmente en especies del género *Opuntia* y en menor medida en cactus columnares (Bouzas, 2021).

1.3. Plasticidad fenotípica en el número de ovariolas.

En los ovarios de los insectos se distinguen unas estructuras en formas de ramilletes de oocitos, llamadas ovariolas. Caracterizadas por Lubbock (Lubbock, 1858), las ovariolas tienen una línea de desarrollo desde su parte más apical, donde se ubican los germarios, hasta la base, donde están los huevos maduros (Figura 4). En los germarios comienza la ovogénesis, donde se dividen las células germinales y se empaquetan en unidades discretas (cámaras de huevos), y luego van desarrollándose hasta la madurez en un periodo que dura aproximadamente de 8 a 9 días (Grell & Chandley, 1965). En el caso de los dípteros, todos los estadios de ovogénesis se encuentran en los ovarios de las hembras adultas, desde células madre ováricas que se están dividiendo hasta huevos fértiles (King, 1970).

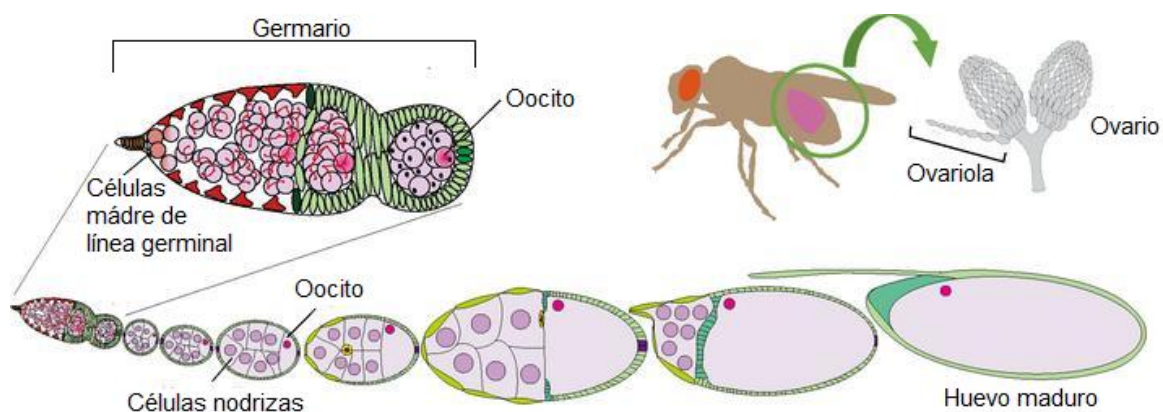


Figura 4: Desarrollo de la ovogénesis de *Drosophila*. (Figura adaptada de Suyama, R. et al., 2023)

La variación del número de ovariolas es uno de los indicadores más importantes del esfuerzo reproductivo realizado por las hembras en relación con la disponibilidad de recursos para la descendencia (Kambysellis, 1968; Kambysellis & Heed, 1971). En este sentido, estudios

previos han mostraron una correlación positiva entre el número de ovaríolas, la producción de huevos en los primeros cinco días luego de la inseminación y el número de emergidos en *D. melanogaster* a temperaturas moderadas; lo que permite considerar al número de ovaríolas como un estimador del *fitness*. (Cohet & David, 1978; Boulétreau-Merle, et al., 1982). Asimismo, se encuentra una sorprendente variación en el número de estas estructuras productoras de huevos entre especies y poblaciones como consecuencia de distintas historias evolutivas (Faille & Pluot-Sigwalt, 2015; Kambysellis, 1968; Markow, 1996; Lavista-Llanos, et al., 2014). Además, el número de ovaríolas exhibe una fuerte plasticidad fenotípica en respuesta a las condiciones ambientales cambiantes durante el desarrollo juvenil (Delpuech, et al., 1995; Hodin & Riddiford, 2000). Se trata de un tipo de plasticidad irreversible, una plasticidad del desarrollo, porque el número de ovaríolas se determina durante el periodo larval cuando un grupo específico de células llamadas células de filamento terminal (CFT) forman pilas, llamadas filamentos terminales (FT), que sirven como punto de inicio de cada ovaríola (King, 1970). La formación de los FT parece ser un mecanismo predominante que determina el número de ovaríolas entre y dentro de las especies de *Drosophila* (Green II, & Extavour, 2012; Hodin, & Riddiford, 1998; Sarikaya, et al., 2012).

Varios aspectos del entorno pre-adulto pueden influir en los números de ovaríolas en el adulto, incluyendo temperatura, calidad y abundancia de los alimentos, y hacinamiento (Delpuech, et al., 1995; Grenier & Nardon., 1994; Hodin & Riddiford. 2000a; Morin, et al., 1997; Moreteau, et al., 1997; Saviliev, 1928; Rhamhalinghan, 1986; Robertson, 1957; Tu & Tatar, 2003). En general, los alimentos de mayor calidad y abundantes asimilados en condiciones donde hay pocos individuos, conducen a un aumento en el número de ovaríolas. Sólo en las especies generalistas de *Drosophila*, como *Drosophila melanogaster* (Meigen) y *Drosophila simulans* (Sturtevant), se ha encontrado que cambian el número de ovaríolas bajo la variación de la dieta. Por el contrario, las especies especializadas, como *Drosophila sechellia* (Tsacas & Bachli) y *Drosophila erecta* (Tsacas & Lachaise), exhiben un número similar de ovaríolas con diferentes dietas. Tales respuestas plásticas adaptativas permiten que las especies generalistas expresen fenotipos ventajosos en una gama más amplia de entornos, a diferencia de las especies especialistas, que muestran una falta de sensibilidad ambiental (Green & Extavour, 2014).

El efecto de la temperatura sobre el número de ovaríolas, por el contrario, conduce a una función en forma de campana, con una cierta temperatura moderada (que varía mucho entre poblaciones y especies) que conduce a un número máximo de ovaríolas (Delpuech, et al., 1995; Gandara & Drummond-Barbosa, 2022). Es tentador considerar que los efectos de la alimentación pre-adulta sobre el número de ovaríolas son adaptativos y anticipatorios, en los cuales las hembras utilizan las condiciones actuales para predecir condiciones futuras. Se

entendería, por ejemplo, que durante una temporada reproductiva "mala", podría ser ventajoso para las hembras reducir su número de ovaríolas y, en su lugar, dirigir más recursos a simplemente mantenerse vivas. Aun así, una explicación puramente correlativa para tal patrón no puede ser excluida. Por ejemplo, el número de ovaríolas se correlaciona claramente con el tamaño corporal (Evans, 1982; Gasser, et al., 2000; Gilbert, 1984; Honek, 1993; Stewart, et al., 1991; Tu & Tatar, 2003), por lo que las diferencias en el número de ovaríolas resultantes de una alimentación diferencial de por sí no es de ninguna manera indicativa de plasticidad adaptativa.

La plasticidad fenotípica no tiene por qué ser adaptativa, ya que, la misma pudo no haber surgido como respuesta a la selección natural. Asimismo, los efectos de la temperatura sobre el número de ovaríolas también podrían ser, en esencia, una respuesta plástica biofísica no adaptativa, con la óptima temperatura simplemente representado el óptimo metabólico para las moléculas involucradas en la formación de filamentos terminales. Aun así, los estudios comparativos entre las moscas demuestran diferencias geográficas predecibles en la temperatura óptima para los números de ovaríolas, lo que sugiere que las respuestas plásticas sí pudieron ser moldeadas por la selección (Delpuech, et al., 1995; Gibert, et al., 2004; Karan, et al., 1999; Karan, et al., 2000; Morin, et al., 1997; Moreteau, et al., 1997; Wayne, et al., 2005).

Así, la forma de campana de la norma de reacción podría ser una realidad puramente fisiológica, mientras que la naturaleza particular de la norma de reacción, como la temperatura óptima y la inclinación de la curva (Gibert, et al., 2004), puede cambiar bajo diferentes condiciones de selección (Whitman & Ananthakrishnan, 2009).

2. Objetivos e hipótesis

Este trabajo se focalizará en el efecto de la dieta y la temperatura de cría sobre el número de ovaríolas de *D. koepferae* y *D. buzzatii*. Dado que las hembras de *D. buzzatii* prefieren poner sus huevos en *O. sulphurea*, ya sea en el laboratorio o en experimentos de campo, esperamos tener un mayor número de ovaríolas en las hembras criadas en este cactus. Por el contrario, dado que las hembras de *D. koepferae* tiene una preferencia de oviponer en *T. terscheckii*, esperamos un número mayor de ovaríolas en este medio como consecuencia de la reproducción en cactus alternativos. Además, dado que *D. buzzatii* tiene un nicho ecológico y una dieta más amplia que *D. koepferae*, esperamos una mayor variación genética para la plasticidad fenotípica en el número de ovaríolas en la primera especie. Asimismo, nuestra expectativa es que la temperatura de cría afecte el número de ovaríolas, disminuyendo su valor a temperaturas altas.

2.1. Objetivo general

Determinar el efecto de la temperatura y medio de cría en un carácter plástico como el número de ovariolas de *Drosophila buzzatii* y *Drosophila koepferae*.

2.2. Objetivos específicos

1. Comparar el número de ovariolas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* al ser criadas en *Opuntia sulphurea* o *Trichocereus terscheckii* a 25 °C.
2. Comparar el número de ovariolas para ambas especies en individuos criados en el laboratorio vs. individuos emergidos en sustratos recolectados a campo.
3. Determinar las normas de reacción del número de ovariolas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* desarrolladas en ambos cactus y bajo diferentes temperaturas de cría. *D. koepferae* a 25 °C y *D. buzzatii* a 17, 25 y 30 °C.

2.3. Hipótesis

1. El número de ovariolas de cada especie es mayor al criarse en su hospedador primario.
2. La especie generalista presenta mayor plasticidad fenotípica para el número de ovariolas respecto a la especie especialista.
3. El número de ovariolas presenta un máximo a temperaturas moderadas y disminuye tanto a bajas como a altas temperaturas de desarrollo.

3. Materiales y métodos

3.1. Colecciones de moscas y mantenimiento de stock

Las colectas de moscas se realizaron en la Reserva Natural San Agustín del Valle Fértil (30°3'S, 67°3'O, Provincia de San Juan, Argentina) en marzo de 2014, y en las Ruinas de Quilmes (26°3'S, 66°0'O, Provincia de Tucumán, Argentina) y Vipos (26°4'S, 65°4'O, Provincia de Tucumán, Argentina) en marzo de 2011. Dos especies de cactus, la tuna *O. sulphurea* y la columnar *T. terscheckii* son los hospedantes más abundantes en las áreas. Las moscas se recolectaron barriendo con red en cebos de banana fermentada, se sexaron al llegar al laboratorio y se usaron para establecer líneas de hembras ("isolíneas" de aquí en adelante) colocando hembras individuales en viales que contenían 5 mL de medio instantáneo de *Drosophila* (Descrito en Kreiman et al., 2023). Las isolíneas se identificaron examinando los genitales (edeago) de varios machos de cada línea, ya que las hembras de estas especies

son morfológicamente indistinguibles. Las isolíneas se criaron en el laboratorio con una dieta estándar durante varias generaciones hasta el comienzo de este estudio.

Para determinar el efecto de la variabilidad genética dentro de las especies, se evaluaron 5 isolíneas de cada especie. Ocho isolíneas (cuatro de cada especie) derivadas de la localidad de Valle Fértil, y la quinta línea *D. buzzatii* y *D. koepferae* derivadas de Ruinas de Quilmes y Vipos, respectivamente.

3.2. Dietas naturales y semi-naturales

Para evaluar los efectos de arrastre de la crianza en laboratorio sobre el número de ovariolas, se realizó el siguiente análisis: comparar el número de ovariolas de moscas alimentadas en el laboratorio con una dieta semi-natural, con el de moscas que emergieron de cactus en descomposición. Con ese fin, se recolectó material fresco de *O. sulphurea* y *T. terscheckii* en la misma localidad de muestreo (Valle Fértil, San Juan, Argentina) para ser utilizados en la preparación de dos tipos de medios “semi-naturales”. De vuelta en el laboratorio, el material se almacenó a -20 °C. Para la preparación de los dos medios de cactus, se pesaron trozos de cada especie descongelada, se molieron en una licuadora y se vertieron 10 mL del licuado más 1 g de levadura seca por 1 g de cactus en viales. Los viales se esterilizaron en autoclave y se dejaron enfriar antes de los experimentos.

Se realizó en un segundo viaje de recolección de moscas la Reserva Natural San Agustín del Valle Fértil (30°3' S, 67°3' W, Provincia de San Juan, Argentina) en marzo de 2016. En esta oportunidad, se recogieron tallos en descomposición de *T. terscheckii* y cladodios en descomposición de *O. sulphurea*. Los sustratos se envolvieron en papel en el campo y se llevaron al laboratorio donde se colocaron en recipientes de plástico a 25°C. Todas las *Drosophilas* que emergieron dentro de las siguientes dos semanas después de la recolección fueron aisladas diariamente y clasificadas por especies. Aquellas que emergieron de un mismo contenedor se mantuvieron en viales de a 20 individuos durante seis días. Este procedimiento aseguró que las moscas de ambas especies alcanzaran la madurez sexual y que todas las hembras fueran inseminadas. Posteriormente, se clasificaron por sexo y las hembras se utilizaron para establecer isolíneas. Varios machos de la descendencia de cada isolínea fueron clasificados por especies mediante la inspección de sus genitales. Finalmente, se contaron las ovariolas de todas las hembras que se pudieron identificar como pertenecientes a las especies *D. buzzatii* y *D. koepferae*. Las condiciones de temperatura, fotoperiodo y densidad larval fueron similares al ensayo anterior. Todas las hembras que emergieron de *O. sulphurea* fueron *D. buzzatii*, mientras que ambas especies emergieron de

T. terscheckii en distinta proporción. Lamentablemente, no se pudo estimar el número de ovariolas de *D. koepferae* en su hospedador secundario porque no se recuperó ninguna hembra de *O. sulphurea*.

3.3. Temperatura de cría

Para cada línea, se colocaron 300 pares de moscas sexualmente maduras en cámaras de oviposición durante 8 horas. Se permitió que los huevos eclosionaran y se transfirieron lotes de 40 larvas de primer estadio a viales de cultivo que contenían medios semi-naturales alternativos para controlar la densidad de larvas en los viales. Para el primer ensayo, los viales de *D. buzzatii* y *D. koepferae* se colocaron en una incubadora a $25 \pm 0,5$ °C, bajo un fotoperiodo de luz:oscuridad de 12:12 h y una humedad del 60 al 70% hasta la madurez. Se mantuvieron grupos de 10 hembras adultas con igual número de machos en viales a 25 °C durante 7 días. Otro grupo de viales de *D. buzzatii* se colocaron en incubadoras a 17 y $30 \pm 0,5$ °C, bajo un fotoperiodo de luz:oscuridad de 12:12 h y una humedad del 60 al 70% hasta la madurez, manteniéndose los grupos de 10 hembras adultas con igual número de machos en viales de su temperatura correspondiente durante 7 días. Luego, las hembras se almacenaron a -80 °C hasta la disección y determinación del número de ovariolas.

3.4. Medición del número de ovariolas

Para la estimación del número de ovariolas, cada hembra se colocó en una gota de solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía azul de metileno 1% (Sigma, Buenos Aires, Argentina). Se retiró la punta del abdomen en dirección posterior mientras se sujetaba el resto del cuerpo con un segundo par de pinzas. Las ovariolas se separaron suavemente unas de otras usando agujas de tungsteno. Dado que el azul de metileno tiñe diferencialmente el germario y los oocitos maduros, se pudo determinar el número de ovariolas contando los germarios en ambos ovarios de cada hembra (Figura 5). Este método mejora la estimación del número de ovariolas, ya que cada ovariola contiene un solo germario.

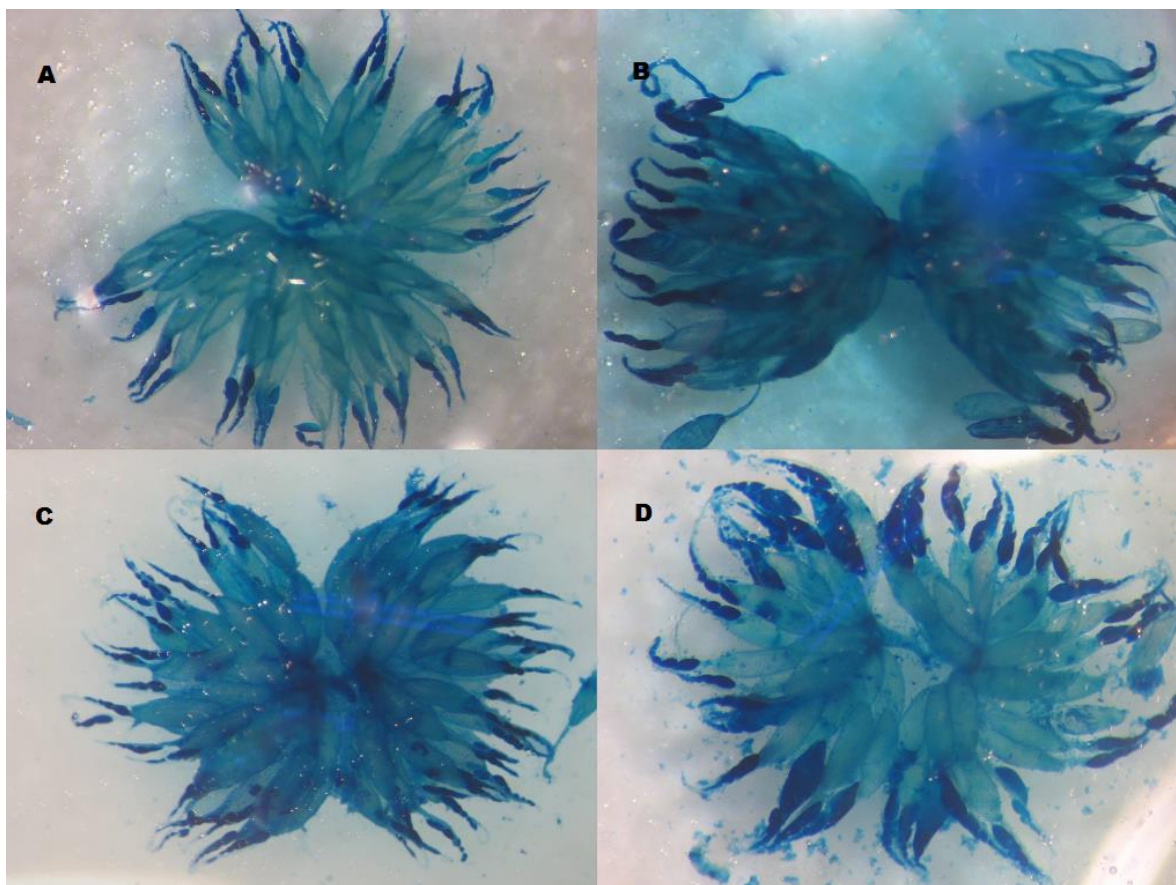


Figura 5. Ovarios teñidos con azul de metileno. A) y B) hembras de *D. buzzatii* criadas en *O. sulphurea* y *T. terscheckii*, respectivamente y C) y D) hembras de *D. koepferae* criadas en *O. sulphurea* y *T. terscheckii*, respectivamente. En todos los casos las hembras fueron criadas a 25 °C.

3.5. Análisis estadístico

Para realizar las pruebas estadísticas se utilizaron modelos lineales generalizados (GLMs) mediante el paquete “glmmTMB” (Brooks, et al., 2017) del *software* R (R Core Team, 2022) y RStudio (RStudio Team). La variable respuesta, que es el número de ovariolas, se espera que ajuste a una Distribución de Probabilidad del tipo Poisson. Se validaron los modelos por prueba de supuestos de bondad de ajuste y dispersión cercana a 1 mediante el paquete “DHARMA” (Hartig, 2022). En caso de incumplimiento del supuesto de bondad de ajuste, se realizó una transformación logarítmica de la variable respuesta. En caso de incumplimiento del supuesto de dispersión se asumió normalidad ($N = 176$) y se pusieron a prueba los supuestos de bondad de ajuste y homocedasticidad, asumiendo normalidad por el Teorema del Límite Central (Figuras Suplementarias 1-4).

Para la comparar el efecto de la cría en el laboratorio se construyeron las variables “Especie-Dieta”, con los siguientes niveles: *D. buzzatii-Opuntia*, *D. buzzatii-Trichocereus* y *D. koepferae-*

Trichocereus; y “Lugar de cría”, que contiene los niveles de Medio de Laboratorio y Medio de Campo. La combinación *D. koepferae*-*Opuntia* no se pudo estimar porque no se recuperó ninguna hembra de esta especie en *O. sulphurea*. Para los demás análisis, Especie y Cactus se tomaron como variables categóricas de un par de niveles cada una (*D. buzzatii* y *D. koepferae*, *O. sulphurea* y *T. terscheckii*, respectivamente).

Para el análisis de la norma de reacción, se tomó la Temperatura como variable continua. La unidad experimental de este estudio fue cada individuo. Se incluyó a la isolínea como variable de efecto aleatorio y su significancia se calculó comparando el modelo, mediante un análisis de la varianza, con un modelo sin la variable isolínea.

3.5.1. Efecto de la dieta sobre el número de ovariolas en ambas especies

Se construyó un modelo lineal siguiendo la siguiente expresión:

$$\log(\lambda_{ijk}) = \mu + \beta_0 + \beta_i X_i + \beta_j X_j + \beta_{ij} X_i X_j + (1|Z_k) + \varepsilon_{ijk}.$$

$$Y_{ijk} \sim \text{Poisson}(\lambda_{ijk})$$

Donde Y es el número de ovariolas para la hembra *ijk*, μ es la media general, β_0 la ordenada al origen, X_i es la variable Especie, donde *i* es cada especie, X_j el medio de cría donde *j* es cada nivel, $X_i X_j$ representa la interacción entre las variables, *Z* representa la variable de efecto aleatorio (Isolínea) y ε_{ijk} el error. En esta expresión se contempla la función de enlace logarítmico.

Se evaluó el efecto de cada variable mediante una Prueba de χ^2 de Wald tipo II, que sería el equivalente a un análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías para un modelo lineal generalizado, mediante la función `Anova()` del paquete “car” (Weisberg S.F.J., 2019). Dada una interacción, se compararon los 6 grupos resultantes mediante una Prueba *post hoc* de Tukey con el paquete “emmeans” (Lenth R., 2023).

3.5.2. Norma de reacción del número de ovariolas para *D. buzzatii* a diferentes temperaturas

Se construyó un modelo lineal siguiendo la siguiente expresión:

$$\log(\lambda_{ijk}) = \mu + \beta_0 + \beta_i X_i + \beta_j X_j + \beta_{ij} X_i X_j + (1|Z_k) + \varepsilon_{ijk}$$

$$Y_{ijk} \sim \text{Poisson}(\lambda_{ijk})$$

Donde Y es el número de ovariolas para la hembra *ijk*, μ es la media general, β_0 la ordenada al origen, X_1 es la Temperatura, X_i el cactus donde *i* es cada cactus, $X_i X_1$ representa la interacción entre las variables, *Z* representa la variable de efecto aleatorio (Isolínea) y ε_{ijk} el error. En esta expresión se contempla la función de enlace logarítmico.

4. Resultados

4.1. Efecto de la dieta sobre el número de ovariolas en ambas especies a 25°C

Como las isolíneas están anidadas por especies, se realizó un análisis por separado para cada especie. En la Tabla 1 se puede observar que hay una significancia para la variable "Cactus" pero no hubo interacción significativa entre las especies y los medios. *D. buzzatii* y *D. koepferae* presentaron en promedio un total de 44 ovariolas en *O. sulphurea* y 41 en *T. terscheckii* (Figura R1).

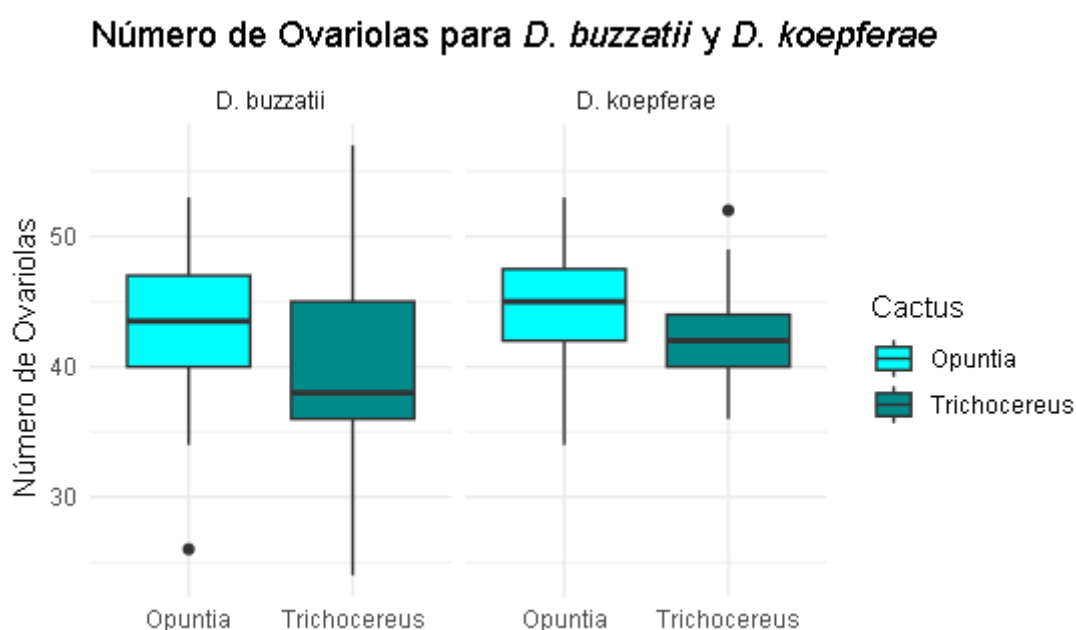


Figura R1: Gráfico de caja representando el número de ovariolas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* en ambos medios. Cada gráfico de caja muestra su mínimo, primer cuartil, mediana, tercer cuartil y valor máximo, en conjunto con su respectivo bigote (o varianza esperada).

Tabla 1: Tabla de ANOVA para un modelo que incluye una interacción entre las variables "Especie" y "Cactus", así como efectos aleatorios para las variables "Isolínea". Significancia del efecto principal "Cactus" pero no para la interacción.

Factor	χ^2	GdL	p-valor
Especie	1,257	1	0,2622

Factor	χ^2	GdL	p-valor
Cactus	23,3192	1	<0,0001
Especie:Cactus	3,0078	1	0,0829
Isolínea	-	-	<0,0001

Tanto *D. koepferae* como *D. buzzatii* presentaron un menor número de ovariolas cuando fueron criadas en *T. terscheckii* (con la excepción de las líneas DK 9, DK 44 y DB 44). Respecto a la cría en *O. sulphurea*, en *T. terscheckii* la varianza poblacional (de ahora en adelante, σ^2) de *D. koepferae* se redujo un 31,52%, mientras que hubo un aumento de 51,89% en *D. buzzatii* (Tabla Suplementaria 1). La σ^2 total fue aproximadamente 5,37 veces mayor en *D. buzzatii*, lo que indica una mayor plasticidad fenotípica (Figura R2 y Tabla Suplementaria 1).

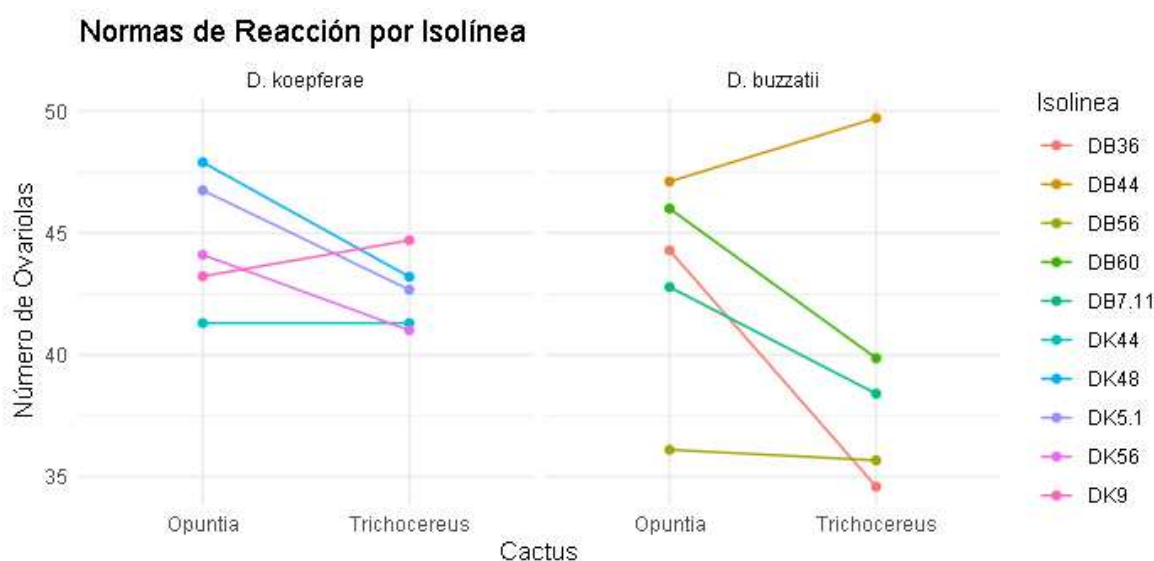


Figura R2: Normas de reacción para cada isolínea, por especie, en ambos cactus.

4.2. Análisis comparativo entre las dietas semi-naturales y naturales

No se hallaron diferencias significativas en el número de ovariolas obtenido ente Campo y Laboratorio. La media de ovariolas y el N de cada especie utilizada en el análisis, tanto sean

de sustratos naturales o criadas en una dieta estándar en el laboratorio a 25°C, se pueden observar en la Tabla suplementaria 2 y la figura R3.

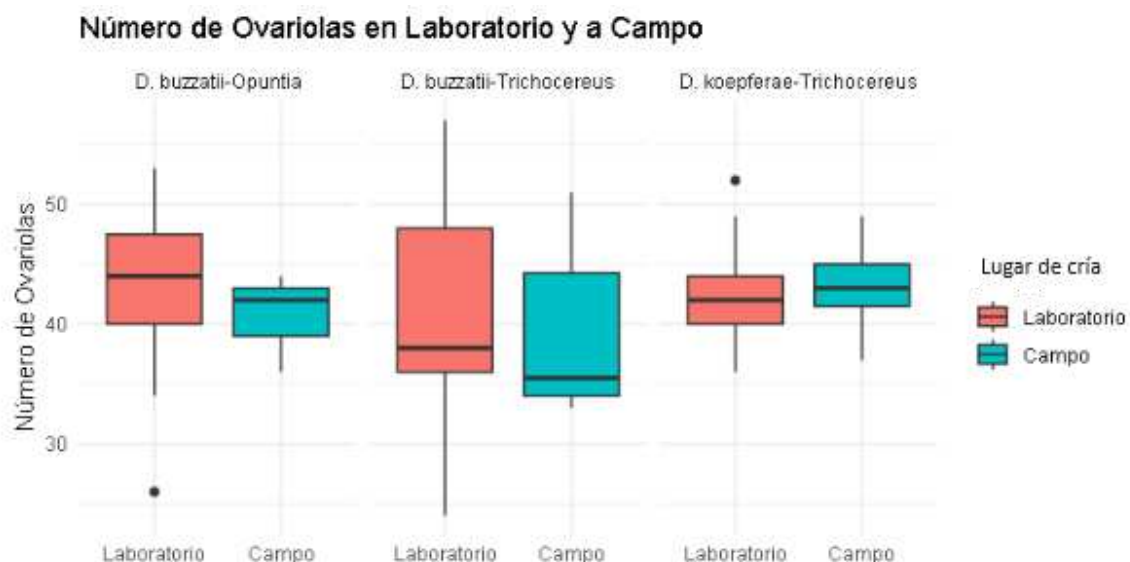


Figura R3: Gráfico de caja comparando el número de ovariolas de las hembras obtenidas en el campo o criadas en el laboratorio. Cada gráfico de caja muestra su mínimo, primer cuartil, mediana, tercer cuartil y valor máximo, en conjunto con su respectivo bigote (o varianza esperada).

Una vez determinado que no hubo diferencias significativas causadas por la cría de las aislíneas en un laboratorio a 25°C (Tabla 2), se procedió con el análisis estadístico para evaluar el efecto de diferentes temperaturas sobre el esfuerzo reproductivo en la especie *D. buzzatii*.

Tabla 2: Tabla de ANOVA para un modelo que incluye una interacción entre las variables "Especie-Dieta" y "Lugar de cría". No hay significancia de efectos principales ni para la interacción.

	χ^2	GdL	<i>p</i> -valor
Especie-Dieta	6,7475	2	0,0343

Lugar de cría	0,3203	1	0,5714
Especie-Dieta: Lugar de cría	2,3780	2	0,3045

4.3. Efecto de la temperatura sobre el número de ovariolas para *D. buzzatii*

Se encontró que la temperatura y el medio de cría tuvieron efectos significativos sobre el número de ovariolas. Al no hallarse interacción entre los factores, no hay evidencia estadística que sugiriera alguna relación sinérgica entre ellos más allá de sus efectos individuales (Figura R4 y Tabla 3).

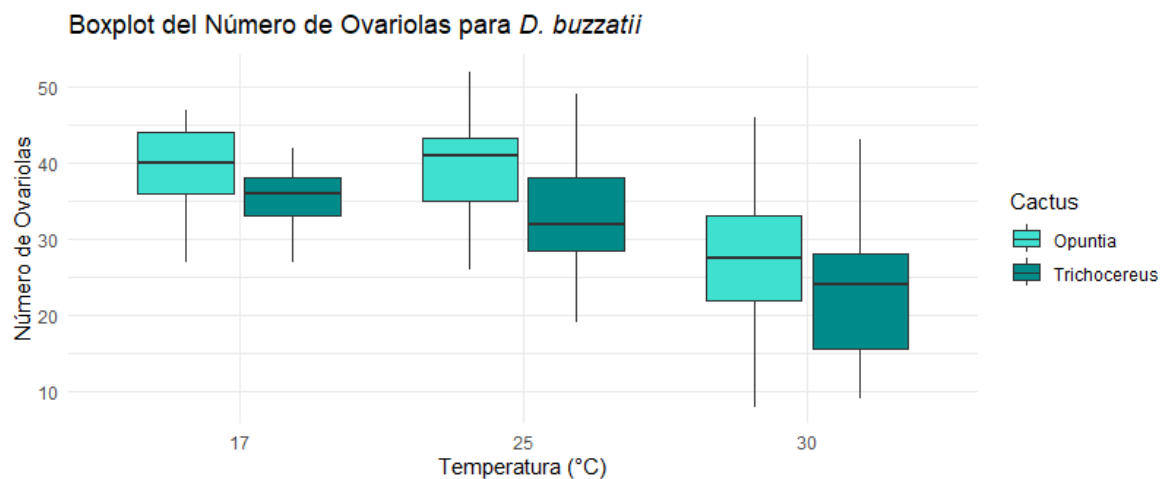


Figura R4: Gráfico de caja con los números de ovariolas obtenidos en cada cactus a cada temperatura de estudio. Cada gráfico de caja muestra su mínimo, primer cuartil, mediana, tercer cuartil y valor máximo, en conjunto con su respectivo bigote (o varianza esperada).

Tabla 3: Tabla de anova para un modelo que incluye una interacción entre las variables "Cactus" y "Temperatura", así como efectos aleatorios para las variables "Isolínea". Se pueden apreciar significancias de los efectos principales, pero no para la interacción.

Factor	χ^2	GdL	p-valor
Cactus	47,8467	1	<0,0001
Temperatura	233,9651	2	<0,0001
Cactus:Temperatura	3,3530	2	0,1870
Isolínea			<0,0001

Al realizar un análisis de comparación *a posteriori* entre las tres temperaturas vía una Prueba de Tukey, se observó que no hubo diferencia en las medias del número de ovariolas a 17 y a 25 °C, pero sí a 30°C, con valores más bajos en este último caso (Figura R5 y Tabla 4).

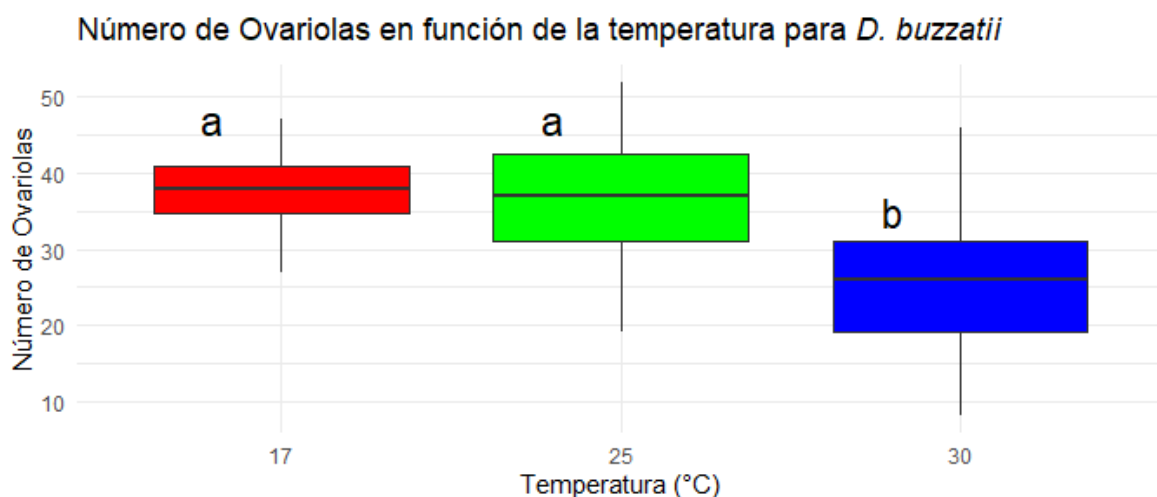


Figura R5: Gráfico de caja del número de ovariolas total obtenidos de las hembras de *D. buzzatii* criadas a 17, 25 y 30°C. Grupos con las mismas letras no son significativamente diferentes entre sí (Prueba de Tukey). Cada gráfico de caja muestra su mínimo, primer cuartil, mediana, tercer cuartil y valor máximo, en conjunto con su respectivo bigote (o varianza esperada).

Tabla 4: Comparación entre pares de niveles de un factor utilizando el método de Bonferroni como método de ajuste de p-valor.

Contraste	Estimación	Error estándar	p-valor
-----------	------------	----------------	---------

17 - 25°C	0,0388	0,0237	0,3027
17 - 30°C	0,3949	0,0277	<0,0001
25 - 30°C	0,3561	0,0275	<0,0001

El efecto de la temperatura se pudo observar en la *varianza* de las medias de las isolíneas; sin importar el cactus, este valor fue en aumento en función de la temperatura. Se corroboró a múltiples temperaturas que la σ^2 de *D. buzzatii* en *O. sulphurea* fue mayor, con la excepción del grupo criado a 30 °C, en cuyo caso fue menor que su contraparte en *T. terscheckii*. Por otro lado, el análisis de contraste de la Tabla 4 determinó que no había diferencias significativas entre el número de ovariolas producto del desarrollo a 17 y 25 °C, mientras que a los 30 °C la media se redujo un 32,5% en *O. sulphurea* y un 30% en *T. terscheckii* (Figura R6 y Tabla Suplementaria 3). La σ^2 total fue 1,36 veces mayor en *O. sulphurea*, lo que indica que se observó mayor plasticidad fenotípica en este cactus. (Tabla suplementaria 4)

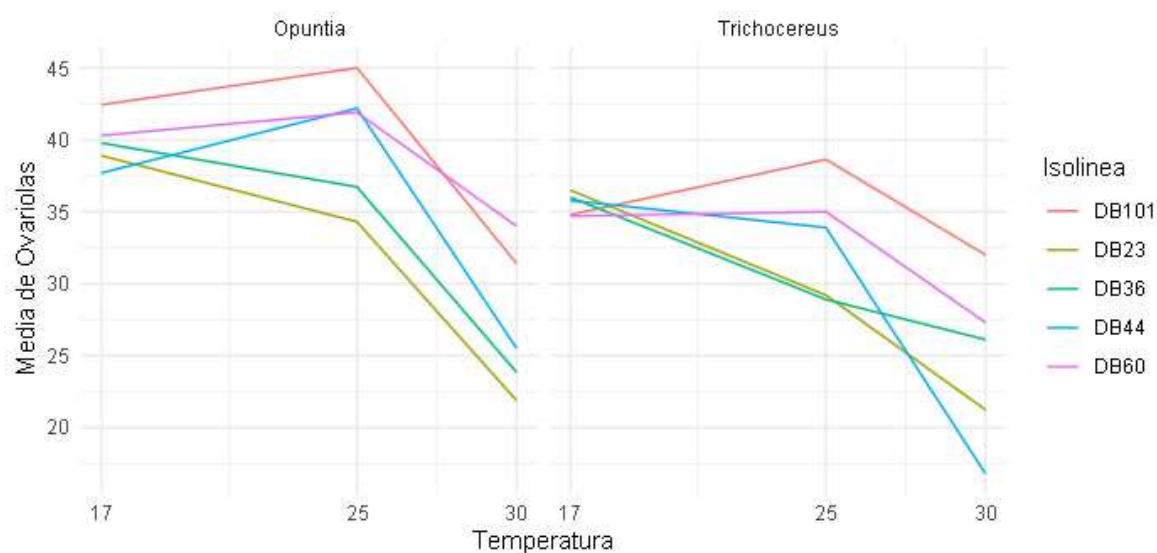


Figura R6: Gráfico de las medias del número de ovariolas de las isolíneas en cada cactus, criadas a 17, 25 y 30°C para *D. buzzatii*.

5. Discusión

El número de ovariolas es un componente del *fitness* altamente plástico en respuesta a las condiciones ambientales durante el desarrollo (Delpuech, et al. 1995). Con esto en mente, en la presente Tesis se estudiaron atributos de la plasticidad fenotípica de este carácter reproductivo de suma importancia adaptativa. Estos atributos fueron a nivel nutricional y térmico.

Una dieta amplia, característica de las especies generalistas, ha demostrado influenciar la plasticidad en el número de ovariolas, mientras que las especies especialistas suelen presentar un menor número de ovariolas y una plasticidad nutricional baja (Green & Extavour, 2014).

La temperatura de desarrollo, por su lado, impacta sobre la plasticidad del número de ovariolas, resultando en valores menores tanto a bajas como altas temperaturas. Sin embargo, hasta el día de hoy no se conocía como este mecanismo repercute en las especies cactófilas de *Drosophila*.

5.1. Comparación del número de ovariolas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* al ser criadas en *O. sulphurea* o *T. terscheckii* a 25 °C.

Los resultados mostraron que el factor ambiental fue fundamental para la variabilidad del número de sus ovariolas. El número de ovariolas de ambas especies criadas en *Opuntia* fue mayor que aquellas que se criaron en *Trichocereus*. Tiene sentido para *D. buzzatii*, siendo *O. sulphurea* su principal hospedador, que maximice su *fitness* en este cactus (Corio, et al., 2013). Sin embargo, resulta llamativo que *D. koepferae* haya presentado un número de ovariolas menor en *T. terscheckii*, su hospedador primario.

Según la hipótesis de preferencia-rendimiento, la selección natural deberá favorecer a las hembras que pongan huevos en sitios que optimicen la aptitud de sus crías (Gripenberg, S.; et al., 2010; Jaenike, 1978; Thompson, 1988). Sin embargo, el valor nutricional de la planta hospedadora no sería el único determinante para su elección; sino podrían estar presente otras cualidades atractivas, como las disuasorias para predadores o competidores. Por ejemplo: en presencia de sus parasitoides *Asobara japonica* y *Trichopria. cf. drosophilae*, *D. suzukii* prefiere oviponer en medio cargado de atropina como forma de defensa de sus huevos. La mosca puede preferir un hospedador tóxico en una circunstancia donde éste mejora su *fitness* porque aumenta la supervivencia de los huevos (Poyet, et al., 2017). En el caso de *D. koepferae*, tenemos una especie cuya dispersión territorial solapa en gran parte con la de *D. buzzatii*, por lo que es posible que la primera tuviera que oviponer en un cactus menos óptimo,

pero de esta manera pudiera evitar la competencia con su especie hermana (Fanara, et al., 1999).

5.1.2. Plasticidad fenotípica a 25 °C

Las normas de reacción correspondientes a *D. koepferae* presentaron poca plasticidad, de acuerdo con lo esperado, lo que denota que los efectos genéticos aditivos y el factor ambiente (los cactus) tuvieron efectos mínimos a la hora del desarrollo de ovariolas en los adultos de esta especie. Por el otro contrario, *D. buzzatii* si presentó gran variabilidad a lo largo de sus isolíneas, con lo cual podemos afirmar que hubo mayor efecto genético aditivo y ambiental, lo que se tradujo en una mayor plasticidad fenotípica en ciertas isolíneas en particular.

Si bien podemos catalogar a ambas especies como especialistas de sus respectivos cactus, *D. buzzatii* tiene un rango dietario más amplio que *D. koepferae*. Por ejemplo, se reportó que también ha emergido del melón (*Cucumis melo*) (Fanara, et al., 2016). Esta fruta cuenta con un contenido calórico y proteico similar al de *Opuntia* (34 Kcal y 0,84 g versus 35 Kcal y 0,7 g, respectivamente), aunque el melón está más enriquecido en carbohidratos (Carreira, et al., 2014; Agricultural Research Service, 2024). Por todo esto se podría reclasificar a *D. buzzatii* como mayormente especialista y parcialmente generalista, lo a su vez podría explicar la respuesta más plástica, en comparación con *D. koepferae*, que sería exclusivamente especialista.

5.2. Comparación del número de ovariolas para ambas especies en individuos criados en el laboratorio vs. individuos emergidos en sustratos recolectados a campo.

En la naturaleza, las moscas subsisten con una dieta dictada por el tipo de hospedador en el que habitan, basada en una combinación única de carbohidratos y lípidos derivados de los tejidos del cactus en descomposición y de proteínas de las levaduras y bacterias involucradas en el proceso de descomposición (Mongiardino Koch, et al., 2015). También están sujetas a fluctuaciones térmicas durante los periodos de día y noche, exponiendo a los organismos a temperaturas altas y bajas, pero no de una manera estresante, promoviendo la aclimatación al estrés (Manenti, et al., 2021).

Todos estos factores, en un laboratorio, se controlan. Por ejemplo, la dieta consistió exclusivamente de levadura seca hasta el momento de comenzar el experimento, donde se agregó el cactus correspondiente con levadura a cada muestra para generar las dietas semi-naturales. La temperatura, por otro lado, siempre se mantuvo constante a 25 °C. Las isolíneas,

por su lado, podrían acarrear una carga de endocría que en la naturaleza no debería ocurrir (a menos que sean poblaciones muy pequeñas y aisladas).

A pesar de estos múltiples factores que podrían haber afectado el desarrollo de las moscas, los resultados mostraron que la cría en laboratorio emuló, de manera paralela, las condiciones naturales y no generó cambios significativos. Por lo tanto, nuestras condiciones experimentales reproducen con alta fidelidad las condiciones naturales.

5.3. Normas de reacción del número de ovariolas de *D. buzzatii* desarrolladas en ambos cactus y bajo diferentes temperaturas de cría (17, 25 y 30 °C).

Los resultados establecieron que no hubo efecto aditivo entre el cactus de cría y la temperatura por lo cual las normas de reacción se proyectaron sobre la curva esperada, sin importar su dieta. Al igual que en *D. melanogaster* (Delpuech, et al., 1995), *D. buzzatii* demostró un mayor número de ovariolas a los 17 y 25 °C respecto a la cría a 30 °C. Pero a diferencia de ese estudio, en donde se obtuvo un máximo valor de ovariolas a temperaturas intermedias (21 °C-25 °C), *D. buzzatii* aparenta tener un rango de temperaturas óptimas que incluyen valores más bajos sin sacrificar su rendimiento. Debido a que no hubo diferencias significativas entre los resultados a 17 °C y 25 °C, no fue posible determinar si se halló el valor máximo del número de ovariolas ni su temperatura óptima correspondiente.

La temperatura y sus variaciones tienen un efecto muy importante en el desarrollo de las ovariolas. Estudios previos han calculado que el 30,2% de la varianza total de los efectos climáticos y geográficos se puede explicar por los efectos de la temperatura (y por eso se entiende a la temperatura de la media anual y media estacional) y cómo ésta está negativamente correlacionada con el número de ovariolas (Klepsatel, et al., 2014). En los últimos 20 años la temperatura de la zona de la distribución de *D. buzzatii* en Argentina ha presentado un promedio de las temperaturas medias anuales entre los 16 y 22 °C y máximas anuales entre los 22 y 30 °C, respectivamente (S.M.N., Atlas climático. (s.f.)). En los últimos 60 años esto ha representado un cambio insignificante en la tendencia de la temperatura media, pero al menos un aumento de 1 °C en la tendencia de la temperatura máxima en gran parte de la superficie (S.M.N., Tendencias observadas en Argentina. (s.f.)). Mientras que este aumento no parece muy significativo, existe una tendencia positiva en el valor de las temperaturas medias y máximas anómalos que presenta un escenario preocupante causado por el cambio climático (S.M.N., Tendencias observadas en Argentina, Series anuales y estacionales de anomalía de temperaturas y precipitación. (s.f.)).

Se sabe que *D. buzzatii* es capaz de sobrevivir hasta el límite de los 41-42 °C (valores intermedios implican una tasa de mortalidad mayor de las hembras que de los machos, siendo 42 °C la mortalidad total) (Krebs & Loeschcke, 1994). En este trabajo se estudió la fecundidad post estrés causado por el calor y se encontró una correlación inversa entre la exposición a las altas temperaturas y la progenie producida por día. Esto, asociado a que las altas temperaturas durante el desarrollo afectan negativamente a los caracteres asociados al *fitness* y al impacto inminente de este aumento causado por el cambio climático, plantea un escenario en el cual *D. buzzatii* deberá alterar su distribución actual si la temperatura media anual supera los 25 °C, haciendo que las poblaciones se fragmenten y haya menos flujo génico entre ellas al buscar refugio en zonas más templadas; o sufrir un descenso en su capacidad reproductiva si la población se mantiene en su nicho original.

6. Conclusiones

En esta Tesis se determinó como el efecto de la temperatura y el medio de cría impactaron en el número de ovariolas de *Drosophila buzzatii* y *Drosophila koepferae*.

1. Al comparar el número de ovariolas de *D. buzzatii* y *D. koepferae* al ser criadas en *Opuntia sulphurea* o *Trichocereus terscheckii* a 25 °C, se encontró que *O. sulphurea* representó un mejor medio de cría para ambos drosophilidos. Otro efecto que se encontró del medio de cría fue que mientras que la varianza poblacional del número de ovariolas de *D. koepferae* en *T. terscheckii* se redujo, con respecto a su valor en *O. sulphurea*, el caso de *D. buzzatii* fue el opuesto. La varianza total determinó que *D. buzzatii* fue la especie que poseía mayor plasticidad fenotípica.
2. Cuando se comparó el número de ovariolas para ambas especies en individuos criados en el laboratorio contra los individuos emergidos en sustratos recolectados a campo no se encontraron diferencias significativas en los resultados.
3. Finalmente, las normas de reacción del número de ovariolas de *D. buzzatii* desarrolladas en ambos cactus a diferentes temperaturas de cría revelaron el efecto de la temperatura al presentar un aumento general en las varianzas poblacionales. Se observó que no hubo diferencia en el número de ovariolas de *D. buzzatii* a los 17 y 25 °C pero si a los 30 °C, donde este valor descendió tanto en *O. sulphurea* como en *T. terscheckii*.

7. Bibliografía

- ★ Agricultural Research Service. (s.f) *National Nutrient Database for Standard Reference*. United States Department of Agriculture. FDC ID: 169092. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169092/nutrients>
- ★ Barrios-Leal D., Neves-da-Rocha J. & Manfrin M. (2018). *Genetics and Distribution Modeling: The Demographic History of the Cactophilic Drosophila buzzatii Species Cluster in Open Areas of South America*. The Journal of heredity. 110(1):22-33.
- ★ Bernays E. & Barbehenn R. (1987) *Nutritional ecology of grass foliage-chewing insects*. In: Slansky F, Rodriguez J (eds) *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates*. John Wiley and Sons, NY, pp 147-175.
- ★ Boulétreau-Merle J., Allemand R., Cohet Y., & David J. R. (1982). *Reproductive strategy in Drosophila melanogaster*: Significance of a genetic divergence between temperate and tropical populations. Oecologia, 53(3), 323–329.
- ★ Bouzas S. O. (2021) *"Evolución correlacionada con la adaptación a altas concentraciones de defensas anti herbivoría en el modelo cactus-Drosophila"*. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- ★ Brooks ME, et al. BM (2017). *glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling*. The R Journal, 9(2), 378-400.
- ★ Carreira V. P., Padró J., Koch N. M., Fontanarrosa P., Alonso I., & Soto I. M. (2014). *Nutritional Composition of Opuntia sulphurea G. Don Cladodes*. Haseltonia, 19, 38–45.
- ★ Cohet Y. & David J. (1978). *Control of the adult reproductive potential by preimaginal thermal conditions*. Oecologia, 36(3), 295–306.
- ★ Corio C., Soto I.M., Carreira V.P., Padro J., Betti M.I.L. & Hasson E. (2013) *An alkaloid fraction extracted from the cactus Trichocereus terscheckii affects fitness components in the cactophilic fly Drosophila buzzatii*. Biological Journal of the Linnean Society London, 109, 342–353.
- ★ Delpuech J. M., B. Moreteau J., Chiche E., Pla, J., Voudibio J. & David J. R. (1995). *Phenotypic plasticity and reaction norms in temperate and tropical populations of Drosophila melanogaster-ovarian size and developmental temperature*. Evolution, 49: 670–675.
- ★ Dewitt T. & Scheiner S. (2004). *Phenotypic plasticity: Functional and conceptual approaches*.

- ★ Evans E.W. (1982). *Consequences of body size for fecundity in the predatory stinkbug, Podisus maculiventris (Hemiptera:Pentatomidae)*. - Ann. Entomol. Soc. Am. 75: 418-420.
- ★ Faille A. & Pluot-Sigwalt D. (2015) *Convergent Reduction of Ovariole Number Associated with Subterranean Life in Beetles*. PLoS ONE, 10, e0131986.
- ★ Fanara J.J., Folguera G., Iriarte P.F., Mensch J. & Hasson E. (2006). *Genotype by environment interactions in viability and developmental time in populations of cactophilic Drosophila*. J Evol Biol, 19:900–908.
- ★ Fanara J.J., Fontdevila A. & Hasson E. (1999). *Oviposition preference and life history traits in cactophilic Drosophila koepferae and D. buzzatii in association with their natural hosts*. Evolutionary Ecology, 13(2), 173–190.
- ★ Fanara J.J., Soto I.M., Lipko P. & Hasson E. (2016) *First Record of Drosophila buzzatii (Patterson & Wheeler) (Diptera: Drosophilidae) Emerging from a Non-Cactus Host*. Neotrop. Entomol. Jun;45(3):333-5.
- ★ Fontdevila A., Pla C., Hasson E., Wasserman M., Sanchez A., Naveira H. & Ruiz A. (1988). *Drosophila koepferae, a new member of the Drosophila serido (Diptera-Drosophilidae) superspecies taxon*. Annals of the Entomological Society of America 81: 380-385.
- ★ Fontdevila A. (1989). *Founder effects in colonizing populations: the case of Drosophila buzzatii*. In: A. Fontdevila (ed). Evolutionary biology of transient unstable populations. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg. Pp. 74-95.
- ★ Gandara A.C.P. & Drummond-Barbosa D. (2022) *Warm and cold temperatures have distinct germline stem cell lineage effects during Drosophila oogenesis*. Development. Mar 1;149(5):dev200149.
- ★ Garland T. Jr. & Kelly S. A. (2006) *Phenotypic plasticity and experimental evolution*. J. Exp. Biol. 209, 2344–2361.
- ★ Gasser M, Kaiser M, Berrigan D & Stearns SC. (2000). *Life-history correlates of evolution under high and low adult mortality*. Evolution, 54: 1260–1272.
- ★ Gibert P., Capy P., Imasheva A., Moreteau B., Morin J. P., Pétavy G. & David J. R. (2004) *Comparative analysis of morphological traits among Drosophila melanogaster and D. simulans: genetic variability, clines and phenotypic plasticity*. Genetica, 120: 165–179.
- ★ Gilbert S.F. (2000) *Developmental Biology*. 6th edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; Gilbert, N. (1984). *Control of Fecundity in Pieris rapae: I. The Problem*. The Journal of Animal Ecology, 53(2), 581.

- ★ Green II D.A. & Extavour C.G. (2012). *Convergent evolution of a reproductive trait through distinct developmental mechanisms in Drosophila*. *Developmental biology*, 372(1), 120-130.
- ★ Green D.A. & Extavour C.G. (2014). *Insulin signalling underlies both plasticity and divergence of a reproductive trait in Drosophila*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1779), 20132673–20132673.
- ★ Greene E. (1989) *A diet-induced developmental polymorphism in a caterpillar*. *Science* 243: 643-646.
- ★ Grell R.F. & Chandley A.C. (1965). *Evidence Bearing on the Coincidence of Exchange and DNA Replication in the Oocyte of Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 53(6), 1340–1346.
- ★ Grenier A.M. & Nardon P. (1994) *The genetic control of ovariole number in Sitophilus oryzae L. (Coleoptera, Curculionidae) is temperature-sensitive*. *Genetics Selection Evolution*, 26: 413–430.
- ★ Gripenberg S., et al. (2010) *A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects*. *Ecol. Lett.* 13, 383–393.
- ★ Hartig F. (2022). *DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models*. R package version 0.4.6, <https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA>.
- ★ Hasson E., Naveira H. & Fontdevila A. (1992). *The breeding sites of Argentinian cactophilic species of the Drosophila mulleri complex (subgenus Drosophila-repleta group)*. *Revista Chilena de Historia Natural* 65: 319–326.
- ★ Hodin J. & Riddiford L.M. (2000a) *Different mechanisms underlie phenotypic plasticity and interspecific variation for a reproductive character in drosophilids (Insecta : Diptera)*. *Evolution*, 54: 1638–1653.
- ★ Hodin J., & Riddiford L.M. (1998). *The ecdysone receptor and ultraspiracle regulate the timing and progression of ovarian morphogenesis during Drosophila metamorphosis*. *Development genes and evolution*, 208, 304-317.
- ★ Holbrook S.J. (1982) *Ecological inferences from mandibular morphology of Peromyscus maniculatus*. *J Mamm* 63:399-408.
- ★ Honek A. (1993) *Intraspecific variation in body size and fecundity in insects—a general relationship*. *Oikos*, 66: 483–492.
- ★ Jaenike, J. (1978) *On optimal oviposition behavior in phytophagous insects*. *Theor. Popul. Biol.* 14, 350–356.
- ★ Donohue K. (2016) *Genotype-by-Environment Interaction*, Editor(s): Richard M. Kliman, *Encyclopedia of Evolutionary Biology*, Academic Press, Pages 186-194.

- ★ Kambysellis M.P. (1968) *Comparative studies of oogenesis and egg morphology among species of the genus Drosophila*. Univ. Tex. Publ. Stud. Genet. 4, 71–92.
- ★ Kambysellis M.P. & Heed W.B. (1971) *Studies of oogenesis in natural populations of Drosophilidae. I. Relation of ovarian development and ecological habitats of the Hawaiian species*. Am. Nat. 105, 31–49.
- ★ Karan D., Moreteau B. & David J.R. (1999) *Growth temperature and reaction norms of morphometrical traits in a tropical drosophilid: Zaprionus indianus*. Heredity, 83: 398–407.
- ★ Karan D., Dubey S., Moreteau B., Parkash R. & David J. R. (2000) *Geographical clines for quantitative traits in natural populations of a tropical drosophilid: Zaprionus indianus*. Genetica, 108: 91–100.
- ★ King R. C. (1970). “*Ovarian Development in Drosophila melanogaster*”. Academic Press, New York and London.
- ★ Klepsatel P., Gáliková M. Huber, C.D. & Flatt T. (2014). *Similarities and differences in altitudinal versus latitudinal variation for morphological traits in Drosophila melanogaster*. Evolution, 68(5), 1385–1398.
- ★ Koch N.M., Soto I.M., Hasson E., Galvano M. & Ianonne L. (2015) *Biodiversity of cactophilic microorganisms in western Argentina: Community structure and species composition in the necroses of two sympatric cactus hosts*. Fungal Ecol. 13, 167–180.
- ★ Krebs R. A. & Loeschcke V. (1994). *Response to environmental change: Genetic variation and fitness in Drosophila buzzatii following temperature stress*. Conservation Genetics, 309–321.
- ★ Kreiman L., Putero F., Hasson E. & Mensch J. (2023). *Extended lifespan and sex-specific fertility loss in cold-acclimated flies of the sibling species Drosophila buzzatii and Drosophila koepferae*. Journal of Thermal Biology, 113, 103504.
- ★ Lavista-Llanos S., Svatoš A., Kai M., Riemensperger T., Birman S., Stensmyr M.C. & Hansson, B.S. (2014) *Dopamine drives Drosophila sechellia adaptation to its toxic host*. Elife 3: e03785.
- ★ Lenth R. (2023). *emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means*. R package version 1.8.4-1, <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>
- ★ Lubbock J.L. (1858). *On the Ova and Pseudova of Insects*. Philosophical Transactions of the Royal Society, 149:341-369.
- ★ Manenti T., Kjærsgaard A. Schou T.M., Pertoldi C., Moghadam N.N. & Loeschcke, V. (2021) *Responses to Developmental Temperature Fluctuation in Life History Traits of Five Drosophila Species (Diptera: Drosophilidae) from Different Thermal Niches*. Insects. 12, 925.

- ★ Markow T. (1996) *Evolution of Drosophila mating systems*. *Evol. Biol.* 29, 73–106.
- ★ Meyer A. (1987) *Phenotypic plasticity and heterochrony in Cichlasoma managuense (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes*. *Evolution* 41:1357-1369.
- ★ Mitsui H., Beppu K. & Kimura, M. T. (2010). *Seasonal life cycles and resource uses of flower-and fruit-feeding drosophilid flies (Diptera: Drosophilidae) in central Japan*. *Entomol. Sci.* 13, 60-67.
- ★ Mongiardino Koch N., Soto I.M., Galvagno M., Hasson E. & Iannone, L. (2015) *Biodiversity of cactophilic microorganisms in western Argentina: Community structure and species composition in the necroses of two sympatric cactus hosts* *Fungal Ecology*. 13:167-180.
- ★ Moore W.J. (1965) *Masticatory function and skull growth*. *J Zool* 146:123-131.
- ★ Moreteau B., Morin J. P., Gibert P., Petavy G., Pla E. & David J. R. (1997) *Evolutionary changes of nonlinear reaction norms according to thermal adaptation: a comparison of two Drosophila species*. *Comptes Rendus De L Academie Des Sciences Serie Iii-Sciences De La Vie-Life Sciences*, 320: 833–841.
- ★ Morin J. P., Moreteau B., Petavy G. Parkash R. & David J. R. (1997) *Reaction norms of morphological traits in Drosophila: Adaptive shape changes in a stenotherm circumtropical species?* *Evolution*, 51: 1140–1148.
- ★ Naya D. E. (2010) *La plasticidad fenotípica en el contexto actual de cambio climático. Darwin en el sur, ayer y hoy*. Libros del Rojas. Buenos Aires. (pp. 80-89)
- ★ Oliveira D.C., Almeida F.C., O'Grady P.M., Armella M.A., DeSalle R. & Etges W.J. (2012) *Monophyly, divergence times, and evolution of host plant use inferred from a revised phylogeny of the Drosophila repleta species group*. *Mol. Phylogenet Evol.* 64, 533–544.
- ★ Padró J. & Soto I.M. (2013) *Exploration of the nutritional profile of Trichocereus terscheckii (Parmentier) Britton & Rose stems*. *J. Prof. Assoc. Cactus* 15, 1–12.
- ★ Pfeiler E. & Markow T.A. (2011) *Phylogeography of the Cactophilic Drosophila and Other Arthropods Associated with Cactus Necroses in the Sonoran Desert*. *Insects*, 2, 218–231.
- ★ Pigliucci M., Murren C.J. & Schlichting C. D. (2006) *Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation*. *J. Exp. Biol.* 209, 2362–2367.
- ★ Poyet M., Eslin P., Chabrerie O., Prud'homme S. M., Desouhant E. & Gibert, P. (2017). *The invasive pest Drosophila suzukii uses trans-generational medication to resist parasitoid attack*. *Scientific Reports*, 7(1), Article 1.

- ★ R Core Team (2022). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- ★ RStudio Team (2020). *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- ★ Robertson F. W. (1957) *Studies in quantitative inheritance. X. Genetic variation of ovary size in Drosophila*. J. Genet 55: 410–427.
- ★ Rhamhalinghan M. (1986) *Seasonal variations in ovariole numbers/ovary in Coccinella septempunctata L. (Coleoptera: Cooccinellidae)*. Proceedings of the Indian National Science Academy, Part B: Biological Sciences, 52: 619–623.
- ★ Ruiz A. & Wasserman M. (1993). *Evolutionary cytogenetics of the Drosophila buzzatii complex*, Heredity 70: 582-596.
- ★ Sarikaya D. P., Belay A.A., Ahuja A., Dorta A., Green II D. A. & Extavour, C. G. (2012). *The roles of cell size and cell number in determining ovariole number in Drosophila*. Developmental biology, 363(1), 279-289.
- ★ Saviliev V.I. (1928) *Manifold effects of the gene vestigial in Drosophila melanogaster*. Trudy Leningradskogo obshchestva estestvoispytatelei, 58: 65–88.
- ★ Servicio Meteorológico Nacional. (s.f.) *Series anuales y estacionales de anomalía de temperaturas y precipitación*. Recuperado el 27 de octubre de 2024, de <https://www.smn.gob.ar/clima/anomaliatemprec>
- ★ Servicio Meteorológico Nacional. (s.f.) *Tendencias observadas en Argentina*. Recuperado el 27 de octubre de 2024, de <https://www.smn.gob.ar/clima/tendencias>
- ★ Servicio Meteorológico Nacional. (s.f.). *Atlas climático*. Recuperado el 27 de octubre de 2024, de <https://www.smn.gob.ar/clima/atlasclimatico>
- ★ Slansky F.& Rodriguez J.G. (1987) *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates: An overview*. In: Slansky F, Rodriguez J (eds) Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. John Wiley and Sons, NY, pp 147-175.
- ★ Stephens A. R., Asplen M. K., Hutchison W. D. & Venette, R. C. (2015). *Cold hardiness of winter-acclimated Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae) adults*. Environ. Entomol. 44, 1619-1626.
- ★ Stewart L. A., Hemptinne J.L. & Dixon A.F.G. (1991) *Reproductive tactics of ladybird beetles-relationships between egg size, ovariole number and developmental time*. Functional Ecology, 5: 380–385.
- ★ Suyama R., Cetraro N., Yew J.Y. & et al. (2023) *Microbes control Drosophila germline stem cell increase and egg maturation through hormonal pathways*. Commun Biol 6,

1287 [Imágen]. Escuela de Graduados en Biociencias Fronterizas de la Universidad de Osaka. https://www.fbs.osaka-u.ac.jp/ja/research_results/papers/detail/1082

- ★ Thompson, J.N. (1988) *Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects*. Entomol. Exp. Appl. 47, 3–14.
- ★ Toxopeus J., Jakobs R., Ferguson L.V., Gariepy T.D. & Sinclair B.J. (2016). *Reproductive arrest and stress resistance in winter-acclimated Drosophila suzukii*. Journal of Insect Physiology, 89, 37–51.
- ★ Tu M. P. & Tatar M. (2003) *Juvenile diet restriction and the aging and reproduction of adult Drosophila melanogaster*. Aging Cell, 2: 327–333.
- ★ Wasserman M. (1982) *Evolution of the Replete Group*. In The Genetics and Biology of *Drosophila*; Ashburner, M., Carson, H., Thompson, J.N., Eds.; Academic Press: London, UK, pp. 61–139.
- ★ Wayne M. L., Korol A. & Mackay T.F.C. (2005) *Microclinal variation for ovariole number and body size in Drosophila melanogaster* in 'Evolution Canyon.' Genetica, 123:263–270.
- ★ Weisberg S.F.J. (2019). *An R Companion to Applied Regression*, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>.
- ★ Whitman D.W. & Ananthakrishnan, T.N. (Eds.). (2009) *Phenotypic Plasticity of Insects: Mechanisms and Consequences*, Whitman, D.W., Ananthakrishnan, T.N. (Eds.). Science Publishers, USA, 894 pp.
- ★ Zerulla F. N., Schmidt S., Streitberger M., Zebitz C.P.W. & Zelger, R. (2015). *On the overwintering ability of Drosophila suzukii* in South Tyrol. J. Berry Res. 5, 41-48.

8. Anexo

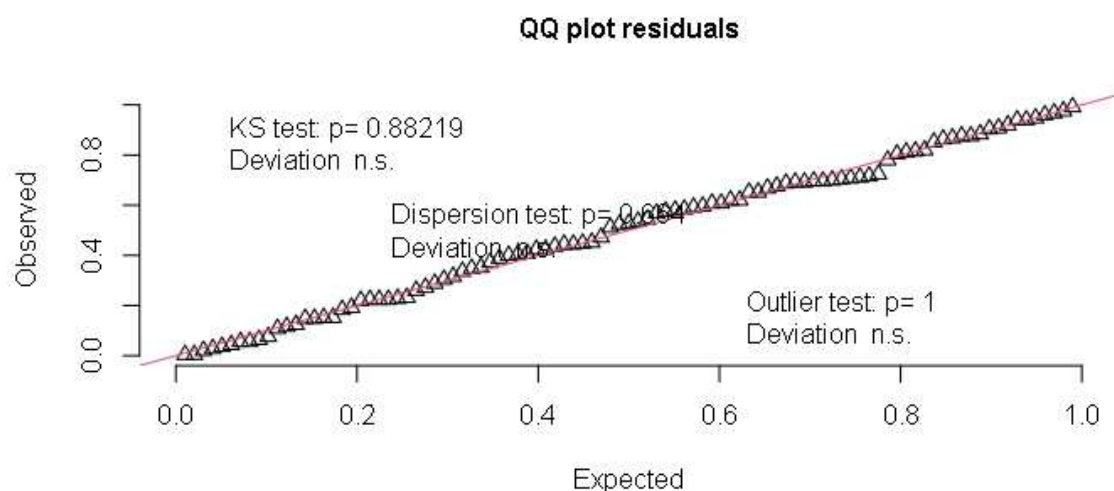


Figura Suplementaria 1.1: Gráfico de Residuos vs. Predichos para *D. koeperae*, correspondiente al modelo del efecto de la dieta sobre el número de ovariolas a 25 °C. Hay ajuste a la distribución de probabilidad.

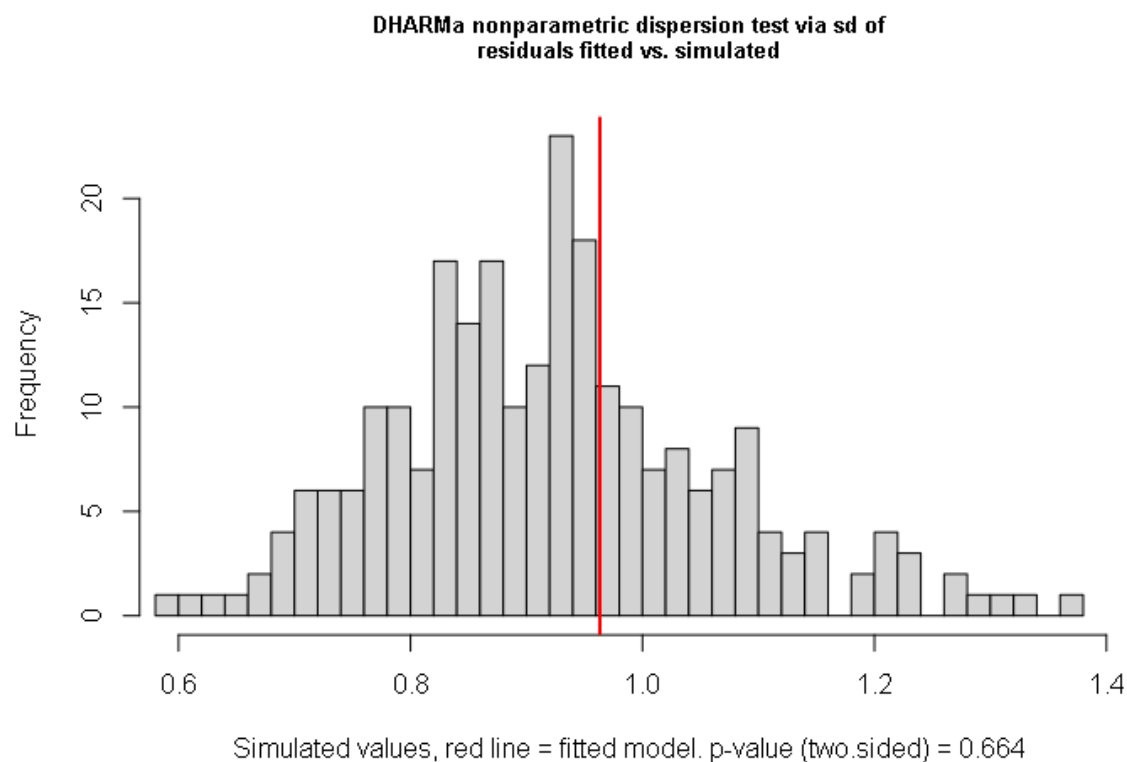


Figura Suplementaria 1.2: Prueba de dispersión no paramétrica para el modelo correspondiente a *D. koepferae* analizando el efecto de la dieta sobre el número de ovariolas a 25 °C. Dispersión = 1.04, no significativamente distinto a 1 (p-valor = 0,67).

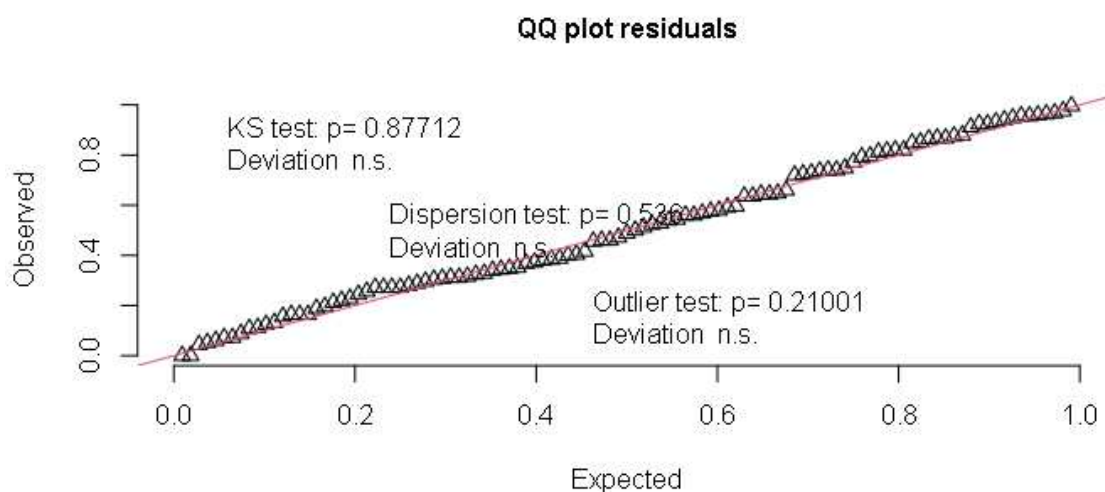


Figura Suplementaria 2.1: Gráfico de Residuos vs. Predichos para *D. buzzatii*, correspondiente al modelo del efecto de la dieta sobre el número de ovariolas a 25 °C. Hay ajuste a la distribución de probabilidad.

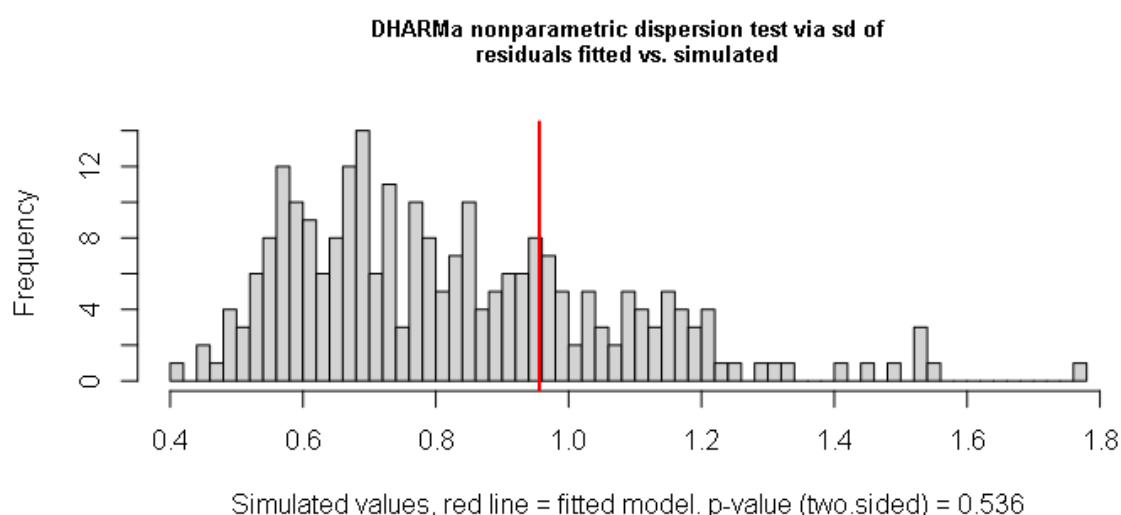


Figura Suplementaria 2.2: Prueba de dispersión no paramétrica para el modelo correspondiente a *D. koepferae* analizando el efecto de la dieta sobre el número de ovariolas a 25 °C. Dispersión = 1,15, no significativamente distinto de 1 (p-valor: 0,54).

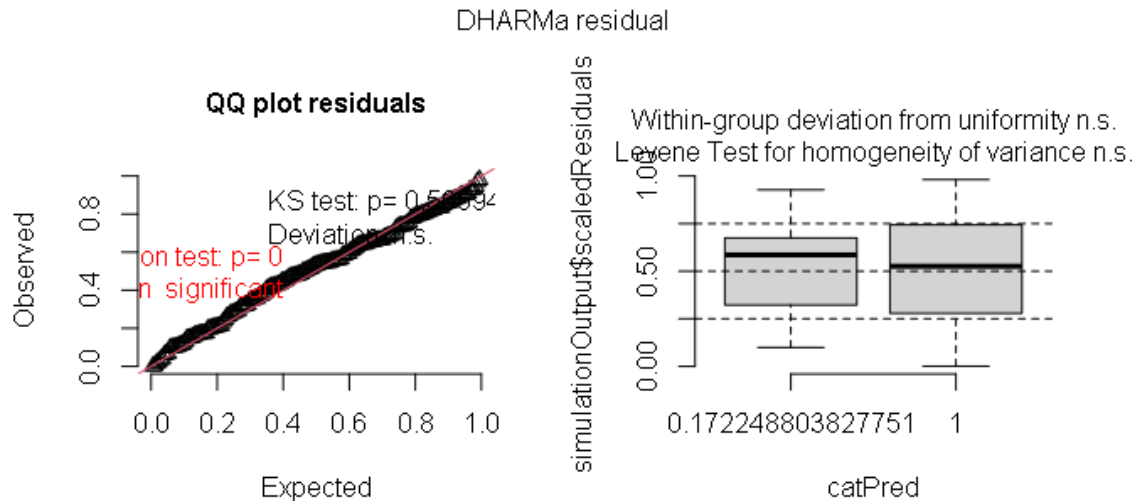


Figura Suplementaria 3: Gráficos de supuestos para el análisis comparativo entre las dietas naturales y semi-naturales. Izquierda: Bondad de ajuste. Derecha: Homogeneidad de varianza.

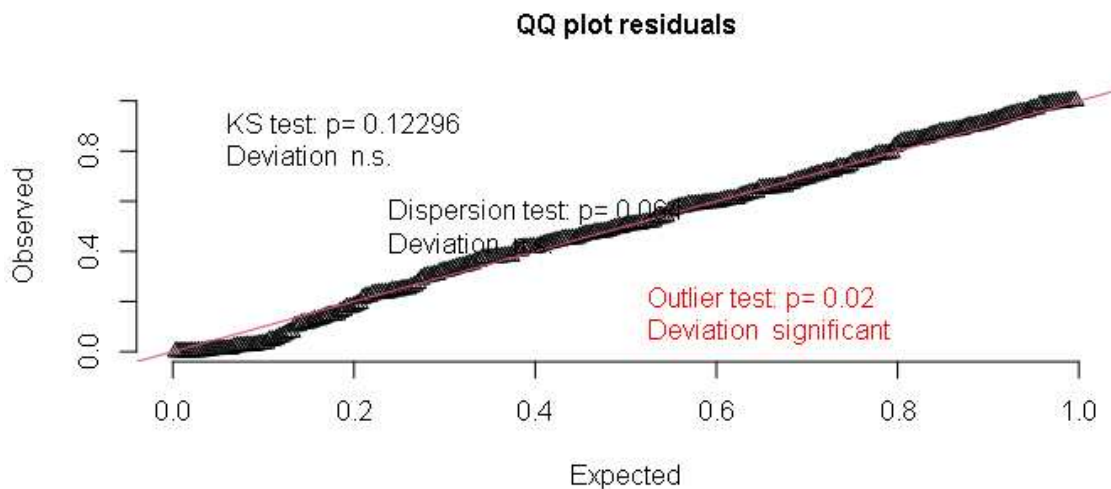


Figura Suplementaria 4.1: Gráfico de Residuos vs. Predichos para el modelo analizando el efecto de la temperatura sobre el número de ovariolas en *D. buzzatii*.

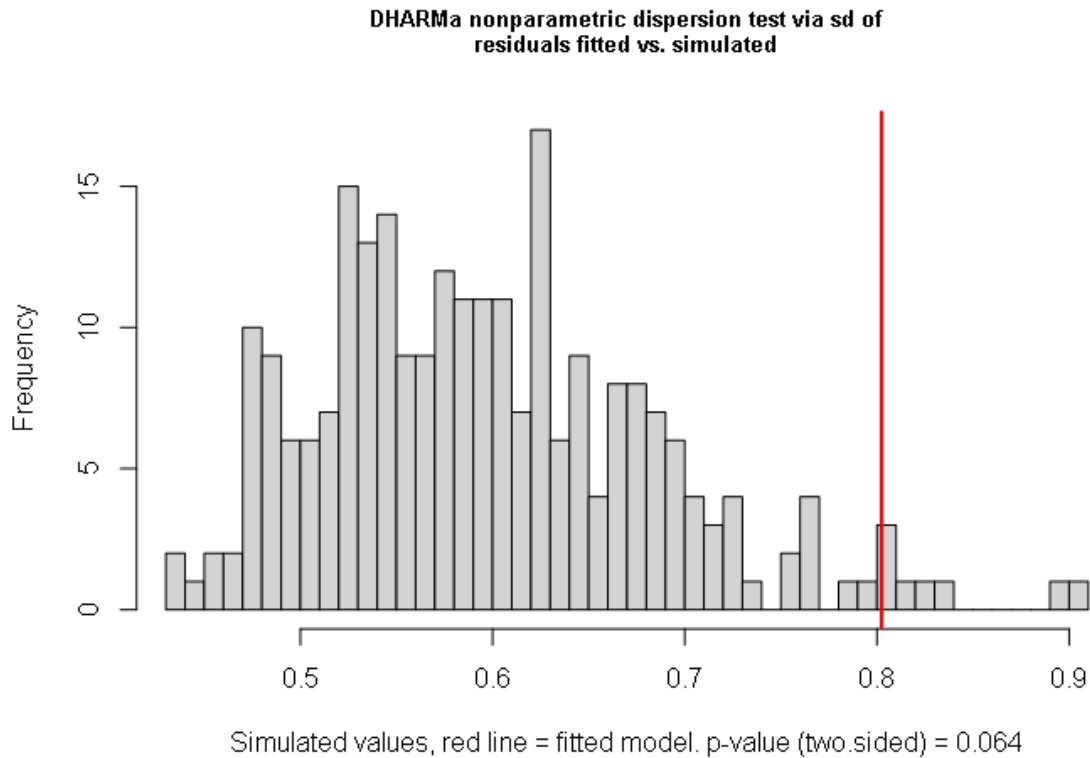


Figura Suplementaria 4.2: Prueba de dispersión no paramétrica para el modelo correspondiente al efecto de la temperatura sobre el número de ovariolas en *D. buzzatii*. Dispersión = 1.34, no significativamente distinto de 1, (p-valor = 0.06).

Tabla Suplementaria 1: Valores medios de los números de ovariolas de cada isolínea en cada cactus y sus σ^2 correspondientes.

Isolínea	DK 44	DK 48	DK 5.1	DK 56	DK 9	DB 36	DB 44	DB 56	DB 60	DB 7.11
Media OP	41,3	47,9	46,75	44,1	43,22	44,29	47,11	36,1	46	42,78
Media TT	41,3	43,2	42,67	41	44,7	34,58	49,71	35,67	39,86	38,4
σ^2 OP	5,71					14,98				

σ^2 TT	1,80	28,87
σ^2 Especie	4,84	25,19

Tabla Suplementaria 2: Media de número de ovariolas y N de hembras emergidas de los hospedadores naturales y criadas en medios semi-naturales.

Fuente	Especie	Cactus	Media	N
Laboratorio	<i>D. buzzatii</i>	<i>O. sulphurea</i>	43,40	43
Laboratorio	<i>D. buzzatii</i>	<i>T. terscheckii</i>	40,40	45
Laboratorio	<i>D. koepferae</i>	<i>T. terscheckii</i>	42,50	50
Campo	<i>D. buzzatii</i>	<i>O. sulphurea</i>	41,10	12
Campo	<i>D. buzzatii</i>	<i>T. terscheckii</i>	38,90	12
Campo	<i>D. koepferae</i>	<i>T. terscheckii</i>	43,10	11

Tabla Suplementaria 3: Medias de los cactus en función de su temperatura.

Temperatura	Cactus	Media
17	Opuntia	40
25	Opuntia	40

30	Opuntia	27
17	Trichocereus	36
25	Trichocereus	33
30	Trichocereus	23

Tabla Suplementaria 4: Valor de las medias y σ^2 de las isolíneas en cada cactus a 17, 25 y 30°C.

Isolínea	Cactus	Temperatura	Media de ovariolas	σ^2 Cactus - Temperatura	σ^2 Cactus
DB101	Opuntia	17	42,44	2,49	48,34
DB23	Opuntia	17	38,90		
DB36	Opuntia	17	39,78		
DB44	Opuntia	17	37,70		
DB60	Opuntia	17	40,30		
DB101	Opuntia	25	45,00		

DB23	Opuntia	25	34,30	15,33	
DB36	Opuntia	25	36,73		
DB44	Opuntia	25	42,20		
DB60	Opuntia	25	41,91		
DB101	Opuntia	30	31,40	21,27	
DB23	Opuntia	30	21,88		
DB36	Opuntia	30	23,83		
DB44	Opuntia	30	25,50		
DB60	Opuntia	30	34,00		
DB101	Trichocereus	17	34,80	0,49	
DB23	Trichocereus	17	36,50		
DB36	Trichocereus	17	36,00		
DB44	Trichocereus	17	35,78		
DB60	Trichocereus	17	34,70		
DB101	Trichocereus	25	38,64	13,56	
DB23	Trichocereus	25	29,20		
DB36	Trichocereus	25	28,90		
DB44	Trichocereus	25	33,90		

DB60	Trichocereus	25	35,00		
DB101	Trichocereus	30	32,00	27,37	
DB23	Trichocereus	30	21,22		
DB36	Trichocereus	30	26,11		
DB44	Trichocereus	30	16,78		
DB60	Trichocereus	30	27,30		