

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES**



**“Comportamiento de poblaciones Argentinas de  
*Diuraphis noxia* Kurdjumov (Hemiptera: Aphididae)”**

Doctorando

**Ing. Agr. Mónica Ricci**

Directora

**Dra. Ana María Castro**

Codirector

**Msc. Ing. Agr. Jaime Ortego**

**Agosto 2012**

## INDICE

INDICE .....	2
INDICE DE TABLAS .....	5
ÍNDICE DE FIGURAS .....	7
AGRADECIMIENTOS.....	12
RESUMEN.....	17
ABSTRACT .....	22
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	26
I. Los áfidos: Características generales.....	29
I. 1.- Interacción áfido planta .....	31
I. 2. Transmisión de virus .....	33
I. 3. Simbiosis.....	34
I. 4. Comportamiento reproductivo .....	35
I. 5. <i>Diuraphis noxia</i> “Pulgón Ruso del Trigo” .....	44
HIPÓTESIS GENERAL.....	49
OBJETIVOS GENERALES .....	49
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	49
CAPÍTULO 1:.....	66
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO.....	66
INTRODUCCIÓN .....	67
HIPÓTESIS.....	69
OBJETIVO GENERAL .....	69
MATERIALES Y MÉTODOS .....	70
Obtención de las poblaciones y colonias del PRT .....	70
Mantenimiento del PRT.....	71
Procedimiento .....	73
RESULTADOS.....	74
DISCUSIÓN.....	87
CONCLUSIONES .....	90
BIBLIOGRAFÍA .....	91
CAPÍTULO 2: MECANISMOS DE RESISTENCIA A INSECTOS.....	95
INTRODUCCIÓN .....	96
2.1. NO PREFERENCIA O ANTIXENOSIS.....	102
INTRODUCCIÓN .....	103
HIPÓTESIS.....	107
OBJETIVO GENERAL .....	107
MATERIALES Y MÉTODOS .....	108
2.1. a. Material Vegetal: .....	108
2.1. b. Población de áfidos .....	108

2.1. c. Ensayo de No Preferencia (antixenosis).....	109
2. 1. d. Análisis estadístico.....	109
RESULTADOS.....	111
Trigo.....	111
Cebada.....	112
DISCUSIÓN.....	113
2.2. ANTIBIOSIS.....	116
INTRODUCCIÓN.....	117
HIPÓTESIS.....	120
OBJETIVO GENERAL.....	120
MATERIALES Y MÉTODOS.....	121
2. 2. a. Material Vegetal.....	121
2. 2. b. Población de Áfidos.....	121
2. 2. c. Ensayo de Antibiosis.....	121
2. 2. d. Análisis estadístico.....	123
RESULTADOS.....	124
Trigo.....	124
Cebada.....	130
DISCUSIÓN.....	136
Trigo.....	136
Cebada.....	139
2.3. TOLERANCIA.....	141
INTRODUCCIÓN.....	142
HIPÓTESIS.....	145
OBJETIVO GENERAL.....	145
MATERIALES Y MÉTODOS.....	146
2.3 .a. Material vegetal.....	146
2.3. b. Población de áfidos.....	146
2.3. c. Ensayos de tolerancia.....	146
2.3 .d. Análisis estadísticos.....	148
RESULTADOS.....	149
Trigo.....	149
Cebada.....	154
DISCUSIÓN.....	159
Trigo.....	159
Cebada.....	162
RESULTADOS SALIENTES MECANISMOS DE RESISTENCIA.....	164
CONCLUSIONES.....	167
BIBLIOGRAFÍA.....	168

---

CAPÍTULO 3: COMPOSICIÓN BIOTÍPICA DE <i>D. noxia</i> .....	184
INTRODUCCIÓN.....	185
HIPÓTESIS .....	191
OBJETIVO GENERAL .....	191
MATERIALES Y METODOS.....	192
Ensayos de campo .....	192
Análisis estadístico .....	193
Ensayos de laboratorio.....	194
Análisis estadístico .....	194
RESULTADOS .....	195
Ensayo de campo .....	195
Primera lectura.....	195
Segunda lectura.....	197
Evaluación de cultivares diferenciales en condiciones de laboratorio .....	198
DISCUSIÓN.....	201
CONCLUSIONES.....	203
BIBLIOGRAFÍA .....	204
CONCLUSIÓN GENERAL.....	211

## INDICE DE TABLAS

### CAPÍTULO 1: COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO

**Tabla 1.** Localidad, provincia, ubicación geográfica, altitud, precipitaciones medias anuales, planta huésped donde se realizó la colecta del áfido y número de clones del PRT que fueron obtenidos y mantenidos por dos años bajo condiciones ambientales naturales, en la localidad de La Plata.....**59**

**Tabla N° 2:** Requerimientos térmicos y fotoperiódicos para la inducción de la formación de ovíparas en las colonias (clones) de PRT provenientes de seis localidades de Argentina en 2006 y 2007.....**64**

**Tabla 3:** Temperaturas medias mensuales en la localidad de La Plata durante 2006 y 2007.....**67**

**Tabla 4:** Coeficientes de correlación entre el número de días para la aparición de la primera hembra ovípara registrada en las colonias del PRT para las seis localidades, en función de la longitud del fotoperíodo y la temperatura. Entre paréntesis valor de P. ....**74**

### CAPÍTULO 2: MECANISMOS DE RESISTENCIA A INSECTOS

**Tabla 1:** Cuadrados medios de la raíz cuadrada del número de PRT en las líneas recombinantes dihaploides de Trigo y cebada.....**100**

**Tabla 2:** Cuadrados medios de los parámetros biológicos y poblacionales de *D. noxia* en trigo.....**113**

**Tabla 3:** Cuadrados medios de los parámetros biológicos y poblacionales de *D. noxia* en ebada.....**119**

**Tabla 4:** Cuadrado medio de los genotipos de trigo y el error de los parámetros Incremento Relativo del Área Foliar de las líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRAFPR-T); Incremento Relativo del Peso Fresco líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRPFPR-T); Incremento Relativo del Peso Seco líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRPSPR-T) y el Incremento Relativo del Contenido Total de Clorofila de las líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRCTCPR-T).....**138**

**Tabla 5:** Cuadrado medio de los genotipos de cebada y el error de los parámetros Incremento Relativo del Área Foliar de las líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRAFPR-T); Incremento Relativo del Peso Fresco líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRPFPR-T); Incremento Relativo del Peso Seco líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRPSPR-T) y el Incremento Relativo del Contenido Total de Clorofila de las líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRCTCPR-T).....144

### **CAPÍTULO 3: COMPOSICIÓN BIOTÍPICA DE *D. noxia***

**Tabla 1.** Genes y fuentes de resistencia a *D. noxia*.....176

**Tabla 2:** Diferenciales de trigo utilizados para la determinación de la composición biotípica de *D. noxia* en Argentina.....185

**Tabla 3:** Respuesta de los distintos genes de resistencia a los 5 biotipos identificados en EE.UU.....186

**Tabla 4.** Evaluación de los cultivares diferenciales y fuentes de resistencia en condiciones de laboratorio.....189

## ÍNDICE DE FIGURAS

### INTRODUCCIÓN GENERAL

**Figura 1.** Regiones trigueras de la República Argentina.....18

**Figura 2.** Zonas de producción de cebada cervecera en la República Argentina... ..19

**Figura 3.** Punciones intercelulares de los áfidos, en el tejido vegetal.....21

**Figura 4.** Composición del aparato bucal de los áfidos.....23

**Figura 5:** Tipos de morfos presentes en un áfido holocíclico.....32

**Figura 6:** a) Vista dorsal del PRT; b) Vista lateral donde se observan la cauda y supracauda características del PRT.....37

**Figura 7:** a) Daños producidos por el PRT: a) Enrollamiento y clorosis foliar. b) Deformación de espiga.....38

### CAPÍTULO 1: COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO

**Figura 1.** Tipos de recipientes de crianza protegidos por un cobertor plástico y voile para ventilación. a) Cría de poblaciones del PRT; b) plantas de trigo sin infestación utilizadas para reponer las plantas dañadas por el pulgón; c) colonias (clones) de las poblaciones de PRT sobre las cuales se registró la presencia de formas sexuales.  
.....63

**Figura 2:** Hembra ovípara caracterizada por el engrosamiento de las tibias del tercer par de patas.....67

**Figura 3:** Huevo de *D. noxia*.....67

**Figura 4:** Hembra ovípara de *D. noxia* oviponiendo.....68

<b>Figura 5.</b> Número de ovíparas producidas por las colonias de La población Tres Arroyos, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata.....	<b>69</b>
<b>Figura 6.</b> Número de ovíparas producidas por las colonias de La población Bahía Blanca, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata.....	<b>71</b>
<b>Figura 7.</b> Hembra fundadora obtenida de un huevo del PRT en cautiverio.....	<b>72</b>
<b>Figura 8.</b> Número de ovíparas producidas por las colonias de La población Junín de los Andes, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata.....	<b>73</b>
<b>Figura 9.</b> Número de ovíparas producidas por las colonias de la población Chos Malal, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata.....	<b>74</b>
<b>Figura 10.</b> Número de ovíparas producidas por las colonias de la población Junín (Mendoza), en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata.....	<b>75</b>
<b>Figura 11.</b> Número de ovíparas producidas por las colonias de la población La Plata, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata.....	<b>76</b>
<b>CAPÍTULO 2: MECANISMOS DE RESISTENCIA A INSECTOS.</b>	
<b>Figura 1.</b> Mecanismos de defensa de las plantas: teoría del gen x gen.....	<b>91</b>
<b>Figura 2.</b> Respuesta hipersensitiva y Resistencia Sistémica Adquirida.....	<b>93</b>
<b>Figura 3:</b> Distribución de las DHR en círculo y liberación de los pulgones en el centro del mismo para la prueba de libre selección de hospederos.....	<b>102</b>



---

<b>Figura 4:</b> Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para la raíz cuadrada del número de pulgones por planta de trigo.....	<b>105</b>
<b>Figura 5:</b> Aislamiento de las plantas individuales con una ninfa neonata a partir de la cual se inició el estudio de la antibiosis.....	<b>115</b>
<b>Figura 6:</b> Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para el carácter duración del período preadulto d. ....	<b>118</b>
<b>Figura 7:</b> Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para el parámetro longevidad.....	<b>119</b>
<b>Figura 8:</b> Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para el parámetro Fecundidad Total.....	<b>120</b>
<b>Figura 9:</b> Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para el parámetro Md.....	<b>121</b>
<b>Figura 10:</b> Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores (Tirintella y Pico) para el parámetro Tasa intrínseca de incremento natural $r_m$ : .....	<b>122</b>
<b>Figura 11:</b> Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el carácter duración del período d.....	<b>124</b>
<b>Figura 12:</b> Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el parámetro longevidad.....	<b>125</b>
<b>Figura 13:</b> Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el parámetro Fecundidad Total.....	<b>127</b>
<b>Figura 14:</b> Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el parámetro Md.....	<b>128</b>
<b>Figura 15:</b> Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el parámetro Tasa intrínseca de incremento natural $r_m$ .....	<b>129</b>

<b>Figura 16:</b> Bandejas con las DHR de trigo, y sus correspondientes progenitores, en las que se evaluó la tolerancia de las mismas al daño del áfido.....	<b>141</b>
<b>Figura 17:</b> Evaluación del incremento relativo del Area Foliar en 93 DHR de trigo.....	<b>144</b>
<b>Figura 18:</b> Evaluación del incremento relativo del Peso Fresco en 93 DHR de trigo.....	<b>145</b>
<b>Figura 19:</b> Evaluación del incremento relativo del Peso Seco en 93 DHR de trigo.....	<b>146</b>
<b>Figura 20:</b> Evaluación del incremento relativo del Contenido Total de Clorofila en 93 DHR de trigo.....	<b>147</b>
<b>Figura 21:</b> Evaluación del incremento relativo del AF en 20 DHR de cebada.....	<b>149</b>
<b>Figura 22:</b> Evaluación del incremento relativo del PF en 20 DHR de cebada.....	<b>150</b>
<b>Figura 23.</b> Evaluación del incremento relativo del Peso Seco (PS) en 20 DHR de cebada.....	<b>151</b>
<b>Figura 24:</b> Evaluación del incremento relativo del CTC (Contenido Total de Clorofila) en 20 DHR de cebada.....	<b>152</b>

### **CAPÍTULO 3: COMPOSICIÓN BIOTÍPICA DE *D. noxia***

<b>Figura 1.</b> A: Hoja dañada por el PRT donde se observa clorosis internerval sin enrollamiento (hoja plana); B: hoja sin síntomas de clorosis internerval ni enrollamiento.....	<b>181</b>
---	------------

<b>Figura 2.</b> Disposición de las parcelas de los cultivos diferenciales y líneas Novel para la evaluación de la composición biotípica de <i>D. noxia</i> .....	<b>187</b>
---	------------

---

**Figura 3.** Hoja de trigo con daño por clorosis pero sin enrollamiento foliar en un cultivar resistente al PRT.....**190**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar quiero agradecer profundamente a mi Directora de Tesis, Dra. Ana María Castro, por haber confiado en mí, por su presencia y apoyo incondicional, y fundamentalmente por su calidez, generosidad y paciencia inagotable. Es el pilar más importante en mi formación científica y será siempre una referente para mis futuras acciones.

A mi Codirector, Ing. Agr. Jaime Ortego por su valiosa colaboración. Gracias por ser solícito cuando lo he necesitado, por su cordialidad y por los aportes que ha realizado en la redacción de la Tesis.

Al tribunal evaluador: Dra. Marcela Schneider, Dra. Isabel Bertolaccini y al Dr. César Salto, por su aportes y oportunas correcciones que mejoraron esta Tesis.

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la UNLP, por el apoyo institucional. Al Director del Departamento de Ciencias Biológicas, Ing. Agr. Daniel Giménez por su apoyo incondicional y a la Profesora Lic. Araceli Vasicek por facilitarme en el último trayecto de este camino, el tiempo necesario para culminarlo y agradecerle además haberme formado como Docente del Curso Zoología Agrícola. A mis compañeros de Cátedra, por su acompañamiento, en especial a la Lic. Susana Mason y a la Dra. Cecilia Margaría por sus consejos y sincero apoyo.

Un agradecimiento especial a la Ing. Agr. Susana Padín, por su amistad y por haberme abierto las puertas del Insectario de Terapéutica Vegetal, sin el cual no hubiese podido realizar esta Tesis y a la Dra. Erica Tocho, con la que he compartido largas horas de insectario. Gracias Eri por tu grata compañía, buen humor y risa franca que hicieron más llevadero este arduo trabajo. A Pablo Catalano y Pablo Sceglio, por estar siempre.

A mis queridos colaboradores de la UNNOBA, Ing. Agr. Carolina Sgarbi y al Lic. Juan Martín Peña, quienes en las últimas instancias tomaron las riendas del Curso, mi reconocimiento y afecto.

A mi querida Instructora Claudia Fila, y por su intermedio a la Fundación El Arte de Vivir La Plata, por guiarme en este camino en el cual encontré paz y felicidad y por su vocación de servicio.

A Cristóbal, Chari y Juan Ballesteros..... Amigos de la vida y compañeros de miles de kilómetros buscando pulgones y cebadas silvestres..... con la seguridad que nos vamos a volver a encontrar en otros caminos.

Por último a las personas más importantes de mi vida:

A mis Padres, Rosa y Rogelio, simplemente por darme todo, gracias por hacerme persona y a mis amores: mi esposo Daniel y mis hijos Paula y Valentín, que llenan mi vida de amor y alegría. Los tres han hecho todo lo posible para que yo pueda comenzar y terminar este trabajo, buscaron por cientos de kilómetros en los campos y banquinas al Pulgón Ruso y regaron sin preguntar, infinitas macetas de trigo en sus vacaciones. A ellos con amor les dedico esta Tesis.

*A mi Familia*

## **RESUMEN Y ABSTRACT**



## RESUMEN

El trigo es uno de los principales cultivos de cereales producidos, consumidos y comercializados mundialmente. Proporciona más del 20% de las calorías y es un alimento básico en el 35% de la población global. La Argentina es uno de los mayores centros de producción de granos del mundo, donde el trigo juega un rol central. Por otro lado, la producción de cebada cervecera ha crecido notablemente en el país en los últimos 20 años por exigencias de mercado. Dada la importancia de dichos cereales a nivel nacional y mundial, el conocimiento de los factores adversos que afectan su calidad y rendimiento, son prioritarios.

Dentro de los factores bióticos que afectan la producción de trigo y cebada, se encuentran los áfidos, que producen daños a los cultivos al extraer sus recursos, inyectar saliva tóxica y transmitir virus. Entre las especies de mayor importancia en ambos cereales se encuentra el "Pulgón Ruso del Trigo" *Diuraphis noxia* Kurdjumov (PRT).

El PRT es uno de los áfidos que ha demostrado poseer una elevada capacidad de dispersión. Desde su centro de origen en las regiones paleárticas de Europa Oriental y Asia Central se dispersó a distintas regiones del mundo. En la Argentina el primer hallazgo fue realizado en 1991, en Malargüe, Provincia de Mendoza, proveniente de Chile. Está adaptado a regiones de climas secos, soleados y con lluvias esporádicas, en esas condiciones las poblaciones tienen un rápido crecimiento.

El daño que produce el PRT se caracteriza por la formación de manchas paralelas a las nervaduras de color blanco-amarillento que pueden tornarse rojizas por la presencia de pigmentos antociánicos en climas fríos. Además produce reducción de la superficie foliar, debido al enrollamiento que sufre la lámina, dentro de las cuales crece protegida la colonia de pulgones. Cuando la infestación ocurre en estados fenológicos más avanzados pueden atacar la hoja bandera, la cual al enrollarse, impide que emerja la espiga o lo haga deformada. Por tal motivo el control químico del áfido es dificultoso, dado que el enrollamiento foliar impide la llegada de los insecticidas y de los enemigos naturales. En consecuencia, la estrategia más efectiva y económica para la protección de los cultivos al PRT, es el uso de la resistencia genética.

Uno de los aspectos más destacados de los áfidos como plagas potenciales de los cultivos, es su comportamiento reproductivo. En *D. noxia*, se hallaron diferencias en el comportamiento reproductivo en distintos lugares del mundo. Es holocíclico en Hungría y en la Unión Soviética, mientras que se comporta como anholocíclico en Sudáfrica y en los Estados Unidos.

A partir del ingreso del PRT en EE.UU. en el año 1986, se desarrollaron en dicho país cultivares de trigo y cebada con distintos genes de resistencia al áfido, que permitieron controlar la plaga de forma exitosa, hasta la aparición de un biotipo con capacidad de producir daño a los cultivares resistentes en el año 2003. A partir de ese momento, nuevos biotipos de *D. noxia* se identificaron en distintos lugares del mundo como Hungría, Sudáfrica, Europa central, Siria y Chile.

Dado que el tipo de reproducción tiene marcada incidencia en el origen de biotipos, y que se desconoce en la Argentina su comportamiento reproductivo y la composición de biotípica, los objetivos de la presente Tesis Doctoral son: a) Comprobar el tipo de reproducción predominante de *D. noxia* en poblaciones de distintos orígenes de Argentina; b) estudiar la capacidad que posee el áfido para seleccionar, crecer y dañar a cultivares de trigo y cebada, portadores de distintas fuentes de resistencia genética y c) Determinar la composición biotípica del Pulgón Ruso del Trigo.

Para el desarrollo del trabajo, se colectaron seis poblaciones de diferentes localidades de Argentina como: Tres Arroyos, Bahía Blanca y La Plata (Provincia de Buenos Aires), Junín de los Andes y Chos Malal (Neuquén) y Junín (Mendoza), contrastantes por el uso de la tierra, condiciones climáticas y altitud. El PRT se obtuvo de cereales cultivados (trigo y cebada) y de gramíneas silvestres (*Bromus* sp.) desde febrero a diciembre del año 2005.

Para evaluar el comportamiento reproductivo del áfido, de cada población se obtuvieron de 10 a 15 clones, a partir de una hembra adulta partenogenética, seleccionada de cada población. En total 65 clones fueron dispuestos bajo condiciones ambientales naturales, en la localidad de La Plata, desde el 21 de diciembre de 2005 al 21 de diciembre del 2007. Sobre los mismos semanalmente se realizaron observaciones a los fines de registrar la presencia de formas sexuadas.

En los dos años, en más de la mitad de los clones se determinó la presencia de hembras ovíparas y huevos, en condiciones de bajas temperaturas y con fotoperíodos de día corto o de día largo. Consecuentemente, las hembras sexuadas y los huevos se registraron desde el otoño temprano (Abril) hasta entrada la primavera (Octubre), con 11:33 y 13:44 horas de luz, respectivamente. En consecuencia, en el caso de *D. noxia*, los huevos no constituyen únicamente una forma de resistencia invernal, sino que es un mecanismo que les permite liberar variabilidad genética posibilitando la adaptación a diversos ambientes y posiblemente generar nuevos biotipos adecuados a los mismos.

Para la evaluación de comportamiento del PRT frente a diferentes fuentes de resistencia en trigo y cebada, se utilizaron líneas Doble Haploides Recombinantes (DHR), provenientes del cruzamiento de progenitores contrastantes por el grado de

resistencia (tolerante o susceptible) a *D. noxia*. Para trigo se emplearon 93 DHR provenientes del cruzamiento de los padres Tirintella y Pico, y para cebada, 20 DHR como producto del cruzamiento de los progenitores Angola y SW624. Sobre las mismas se evaluó la “no preferencia o antixenosis” al PRT, la modificación de sus parámetros biológicos y poblacionales a través del estudio de la “antibiosis” y la agresividad de *D. noxia* por ensayos de “tolerancia”. Dado que todos los clones provenientes de las distintas poblaciones Argentinas, presentaron el mismo comportamiento reproductivo, se utilizó una mezcla de todos ellos para la realización de estos estudios.

Según los resultados obtenidos, el PRT mostró un comportamiento diferencial en la selección de las DHR evaluadas en trigo, algunas líneas ejercieron un fuerte efecto antixenótico sobre el insecto. En la cebada, en cambio, ninguno de los genotipos presentó un marcado efecto de antixenosis sobre el áfido.

En el estudio de la antibiosis, en las líneas de trigo y cebada se comprobó que existen genotipos que produjeron en *D. noxia* un efecto antibiótico afectando sus parámetros biológicos y poblacionales. Las DHR de trigo y cebada, en las que el áfido alargó el período pre-reproductivo, condicionaron al mismo tiempo una menor longevidad y fecundidad. Estos dos últimos parámetros fueron menores inclusive que en los áfidos criados sobre el padre tolerante, evidenciándose herencia transgresiva. Se observó además que los genotipos de trigo por otro lado, indujeron un aumento de la tasa reproductiva diaria ( $M_d$ ), condicionando una herencia transgresiva no benéfica, dado que la mayoría registró una mayor producción de ninfas/día, superior al padre susceptible. De manera similar, la tasa de incremento poblacional  $r_m$ , no se vio disminuida significativamente por lo que se infiere que el mayor aporte a la producción de ninfas ocurre en los primeros días del período reproductivo.

El mayor efecto antibiótico de las líneas de trigo sobre el PRT, se tradujo en una menor longevidad y por ende en una menor producción de ninfas totales (fecundidad). Con respecto a los progenitores de trigo empleados, condicionaron un comportamiento diferencial en los distintos parámetros evaluados en los áfidos criados en éstos. Así para la tasa reproductiva diaria, la longevidad y fecundidad no se observaron diferencias entre Tirintella y Pico, mientras que para la tasa  $r_m$  y el período pre-reproductivo, Pico se comportó como el progenitor más antibiótico.

Las líneas DHR de cebada condicionaron un período pre-reproductivo similar al obtenido en los genotipos de trigo, entre 9 a 11 días, con un leve efecto antibiótico sobre el PRT. Entre un 20 a 25% de las DHR de cebada indujeron en el áfido un efecto antibiótico a través de una menor longevidad, fecundidad total, y de las tasas

Md y *rm*. Por otro lado, no se evidenciaron diferencias entre los progenitores de cebada empleados en el estudio.

Con relación al estudio de la agresividad del PRT sobre las DHR de trigo y cebada, se identificaron distintos tipos de tolerancia de los genotipos frente a la injuria de *D. noxia*. En las DHR de trigo se observó una disminución del Área Foliar (AF), del Peso Fresco (PF) y del Contenido Total de Clorofila (CTC), sin embargo se incrementó el Peso Seco (PS) por lo que se infiere que fue el metabolismo del agua el más afectado en dichos genotipos.

Al comparar los progenitores Tirintella y Pico, para el AF y el CTC se comportaron de manera similar, mientras que para los PF y PS, Pico fue más tolerante. Dada las diferencias entre los padres, las DHR segregaron mostrando respuestas similares a uno u otro progenitor o evidenciando herencia transgresiva, superando al padre tolerante o al susceptible.

Las DHR de cebada resultaron más tolerantes al daño del PRT que el trigo, observándose en alguna de ellas un incremento del AF, del PF, el PS y el CTC luego de la infestación, por lo tanto hay líneas más tolerantes al PRT que en trigo.

Para el estudio de la composición biotípica de *D. noxia* en Argentina, se realizaron ensayos de campo y de laboratorio, utilizando 18 cultivares diferenciales de trigo portadores de genes de resistencia (*Dn1*, *Dn2*, *dn3*, *Dn4*, *Dn5* y *Dn7*) y líneas Novel provenientes del CIMMYT (México) de las cuales se desconoce la fuente de resistencia. Se utilizaron como testigos tolerantes los cultivares C1tr2401 y Synthetic y como testigo susceptible el cultivar Seri. A los 21 y 51 días de la infestación con PRT, se determinó el nivel de daño por el grado de clorosis y de enrollamiento foliar. En laboratorio se evaluó la *no preferencia* de los cultivares de trigo seleccionados frente al PRT, el nivel de daño foliar y se midió la diferencia del Peso Fresco, Peso Seco y Contenido Total de Clorofila, entre los Testigos sin infestación y los infestados con el PRT.

A los 21 días en condiciones de campo, las líneas 14 y 1 (Noveles) presentaron el mejor comportamiento, desconociéndose sus genes de resistencia. Los cultivares portadores de *Dn2* y *Dn7* resultaron con un alto nivel de tolerancia, mientras que *Dn1* y *dn3* fueron moderadamente tolerantes y las portadoras de *Dn4* y *Dn5* muy dañados por las poblaciones Argentinas de PRT. A los 51 días sólo *Dn7* y las líneas 14 y 1 mantuvieron un comportamiento de tolerancia al áfido. Se infiere que en el país se encontrarían los biotipos 1, 2\* y 5\*, estos dos últimos con características diferentes a los identificados en EE.UU. Por lo cual los cultivares mejorados en otros países, pueden comportarse como susceptibles frente a las poblaciones locales del PRT que son características de cada región. Si bien dos de la líneas Novel desarrolladas por el

CIMMYT, podrían ser incorporadas en planes de mejora del cultivo de trigo en Argentina, los cultivares deberían ser desarrollados en nuestras condiciones de cultivo y con las poblaciones nativas de *D. noxia*.

A partir de los resultados obtenidos se concluye que en Argentina, el PRT presenta como estrategia reproductiva la partenogénesis facultativa, a través de la cual a partir de un clon proveniente de una única hembra adulta, se originan en distintas proporciones, hembras partenogenéticas y sexuadas. Dicha variabilidad intraclonal se observó en todas las poblaciones estudiadas y le permitiría a *D. noxia* liberar variabilidad genética, que le otorga al áfido una gran capacidad de adaptación a distintos ambientes, y a generar biotipos capaces de dañar cereales mejorados con diferentes genes de resistencia.

La coexistencia de más de un biotipo en las poblaciones Argentinas del PRT, a pesar de no existir una presión de selección por la siembra de grandes extensiones con un único gen de resistencia, estaría indicando que *D. noxia* es un áfido que se encuentra en una permanente evolución como producto de su variabilidad genética.

## ABSTRACT

Wheat is one of the major crops worldwide, supplies more than 20% of the calories required and it is a basic food for 35% of the global human population. Argentina is one of the largest wheat producer countries where this crop is essential to domestic economy. On the other hand, barley production has increased significantly during the last 20 years in our country based on the market demands. Given the importance of these cereals to national and global level, the knowledge of the adverse factors affecting their quality and performance are priorities.

Among the biotic factors that affect the production of wheat and barley, the aphids are one of the most important pests that damage the plants by extracting their resources, injecting toxic saliva and transmit virus. Amongst the most important species in both crops is the Russian Wheat Aphid (RWA) *Diuraphis noxia* Kurdjumov. This is one of the aphids that have demonstrated high dispersal ability. From its centre of origin in Palearctic regions of Eastern Europe and Central Asia is dispersed to different regions of the world. In Argentina this aphid was first found in 1991, in Malargüe, Mendoza province, probably it arrived from Chile. It is adapted to dry climate regions, with sunny days and sporadic rainfall, under these conditions RWA had a rapid population growth. RWA typical damage comprises white and yellow stripes parallel to the plant veins that may turn red by the presence of anthocyanin pigments. Moreover, the foliar area is reduced due to the leaf rolled, in which the aphid colony grows protected. At heading stage the RWA infestation provokes the rolling of flag leaf and the spike cannot emerge or it is deformed. The chemical control of this pest is difficult, due to the foliar rolling that prevents the arrival of pesticides and natural enemies. Consequently, the most effective control is based on plant genetic resistance.

Aphids reproductive behaviour is one the most outstanding aspects of these insect pests. RWA has been reported holocyclic in Hungary and in the former Soviet Union, and anholocyclic in South Africa and in the USA.

RWA was first found at the USA in 1986, since then several wheat and barley cultivars have been released, carrying different resistance genes that allowed the control of this pest until 2003 when a new biotype was reported to damage the resistant varieties. Since then new *D. noxia* biotypes have been identified in Hungary, South Africa, Central Europe, Syria and Chile.

Since the type of reproduction has marked influence on the origin of biotypes, and RWA reproductive behaviour and biotype composition are unknown in Argentina, the aim of the current Doctoral Thesis are: a) Check the dominant type of reproduction of *D. noxia* populations of different origins of Argentina; b) to study the ability of the aphid

has to select, grow and damage to wheat and barley cultivars carriers of different sources of genetic resistance and c) determine the composition biotypes of Russian wheat aphid.

Six different populations were collected at places with contrasting land use, climate and altitude: Tres Arroyos, Bahía Blanca and La Plata (in Buenos Aires Province), Junín de los Andes and Chos Malal (in Neuquén Province) and Junín (in Mendoza Province). RWAs were obtained from infested cereals (wheat and barley) and from wild grasses (*Bromus* spp.) from February to December 2005.

In order to assess the aphid reproductive behaviour it was isolated 10 to 15 adult females from every population, these aphids were allowed to reproduce to obtain clones. A total of 65 clones were subjected to the natural conditions of La Plata since 21st December 2005 to 21st December 2007. Every clone was recorded weekly to determine the presence of sexual forms.

In both years more than 50% of the clones produced oviparous females and eggs, with low temperatures and both, with short and long day of photoperiods. Consequently, sexual females and eggs were recorded from early autumn (April) to late spring (October) with 11:33 h and 13:44 hours of light, respectively. *D. noxia* produces eggs not as a resistant winter form of survival but as a mechanism that enables the release of genetic variability and to adapt to different environments and possibly it also leads to new adapted biotypes.

RWA aggressiveness, preference and antibiosis were assessed on recombinant Double Haploid (DH) lines of wheat and barley carrying different sources of resistance. These DHs were obtained from the crosses between contrasting parental lines (tolerant by susceptible ones). Ninety three DH lines, obtained from the cross between Tirintella and Pico wheats and twenty DH descendants from the cross between parental Angola and SW624 barley lines were used in the trials. The aphid aggressiveness was evaluated by means of the tolerance showed by wheat and barley DH lines. The antibiosis was studied by means of the aphid life cycle and fertility that evaluate the antibiotic effects of the plants. Since every clone from the different geographical origin showed similar reproductive behaviour, a mix of the complete set of clones was used to analyse the antixenosis, antibiosis and tolerance of wheat and barley DH lines.

According to the current results, RWA had differential preferences for wheat DH lines, with several of them showing a high antixenotic level. On the contrary, none barley genotype exerted selective pressure on aphid preference.

Several DH lines of wheat and barley showed antibiotic mechanism of resistance inducing changes in the aphid biological and population traits. The same DH lines that prolonged the aphid immature stage also reduced RWA longevity and fertility in both

cereals. These two aphid traits were even lower than in those individuals reared on the tolerant parents evidencing transgressive inheritance. Instead, several wheat DH lines, without antibiotic resistance, conditioned an increase in the daily reproductive rate (Md) showing a transgressive inheritance that resulted not beneficial, since most of them induced a higher production of nymphs / day than the susceptible parent. Similarly, the rate of population increase  $r_m$ , was not significantly reduced so it is inferred that the greatest contribution to the production of nymphs occurs in the first days of the reproductive period.

The greatest antibiotic effect of wheat DH lines resulted in a RWA shorter longevity and therefore in a lower total production of nymphs (fertility). Regarding the wheat parental lines, conditioned differential behaviour in several parameters of the aphids reared on them. Thus for the daily reproductive rate, longevity and fecundity there were no differences between Tirintella and Pico, meanwhile for the  $r_m$  rate and pre-reproductive period, parental line Pico behaved like more antibiotic.

Barley DH lines conditioned a pre-reproductive period of 9 to 11 days, similar to that recorded on the aphids reared on wheat lines. From 20 to 25 % of the barley DH lines exerted a significant antibiotic effect by means of shorter longevity, fertility and lower Md and  $r_m$  rates. On the other hand, there was no difference on the RWA traits when reared on both barley parental lines.

Regarding the study of RWA aggressiveness, it was identified different levels of tolerance to the injury of *D. noxia* on wheat and barley DH lines. The Leaf Area (LA), Fresh Weight (FW) and Total Content of Chlorophyll (TCC) were reduced by RWA feeding in wheat DH lines. On the contrary, the Dry Weight (DW) was increased in the infested plants; consequently the water metabolism was the most affected on these wheat genotypes.

Tirintella and Pico parents had similar responses in terms of LA and TCC, when subjected to aphid challenge; however Pico showed a more tolerant behaviour for the FW and DW. The DH lines showed similar responses than one or the other parent or had transgressive inheritance.

Barley DH lines were more tolerant to RWA than wheat ones, since several of them had an increase on the LA, FW, DW and TCC, showing more tolerance to RWA than the wheat DH lines.

Biotype composition of RWA populations in Argentina was studied by the response to aphid infestation of 18 differential wheat cultivars (carrying *Dn* series of resistance genes: *Dn1*, *Dn2*, *dn3*, *Dn4*, *Dn5*, *Dn7*) and Novel sources of resistance (provided by CIMMYT, México) in field and lab trials. The resistant cultivars Cltr2401 and Synthetic and the susceptible cultivar Seri were used as checks. After 21 and 51 days from RWA



infestation it was recorded the chlorosis damage and the degree of leaf rolling. The antixenosis of wheat cultivars was assessed under controlled conditions. It was also evaluated the difference of FW, DW and TCC (between the control and the infested plants) and the damage inflicted on the leaves. After 21 days of infestation two novel lines (14 and 1) were the most tolerant to RWA attack. The lines carrying *Dn2* and *Dn7* were highly tolerant, those ones with *Dn1* and *dn3* were partially tolerant and cultivars with *Dn4* y *Dn5* genes were susceptible to the Argentinean populations of RWA. After 51 days only *Dn7* resistance genes and lines 1 and 14 remained tolerant to aphid infestation. Based on the current results in Argentina there are three biotypes of RWA: 1, 2\* and 5\*, the last ones showed different characteristics from those ones identified in the USA. As a consequence, the wheat cultivars bred abroad could behave as susceptible when subjected to RWA local populations. Two Novel lines developed by CIMMYT were tolerant to RWA and that could be included in the wheat breeding programs of Argentina.

The current results allow concluding that RWA in Argentina has the facultative parthenogenesis as reproductive strategy since a clone derived of a single adult female will produce parthenogenetic females and sexuals in different proportions. Such intracolon variability, recorded in every *D. noxia* population, releases genetic variability and provides the aphids with a large adaptability to different environments even to generate new biotypes which could damage improved crops carrying different resistance genes

The co-existence of several biotypes in Argentina, despite of the absence of selective pressure exert by a massive use of a particular gene of resistance, could point out *D. noxia* is a species in a permanent evolution as a result of its genetic variability.

## **INTRODUCCIÓN GENERAL**

El trigo es uno de los principales cultivos de cereales producidos, consumidos y comercializados mundialmente. Proporciona más del 20% de las calorías y es un alimento básico en el 35% de la población global (FAO, 1998; Klipagat, 2005). La República Argentina es uno de los mayores centros de producción de granos del mundo. En ese marco, el trigo juega un rol central, participando de numerosos sistemas de producción. Junto al cultivo de soja en rotación, lidera el sistema agrícola más extendido del país (Calzolari et al., 2008).

En el país el cultivo se extiende en una amplia área con escenarios ecológicos variables. Se ubica geográficamente entre los paralelos 31° y 40° de L.S. y entre los meridianos de 58° y 65° L.O. de Greenwich, abarcando de norte a sur aproximadamente 1000 Km y 500 Km de oeste a este. Dicha superficie está ubicada en la región pampeana húmeda, entre las isohietas de 700 a 900 mm de precipitaciones anuales y en la semiárida, entre las de 700 y 400 mm anuales. En función de los factores climáticos mencionados, la región triguera Argentina se divide en siete subregiones ecológicas, a saber: Subregión I, Subregión II Norte, Subregión II Sur, Subregión III, Subregión IV y Subregión V Sur, NOA y NEA (Calzolari et al., 2008) (Figura 1).

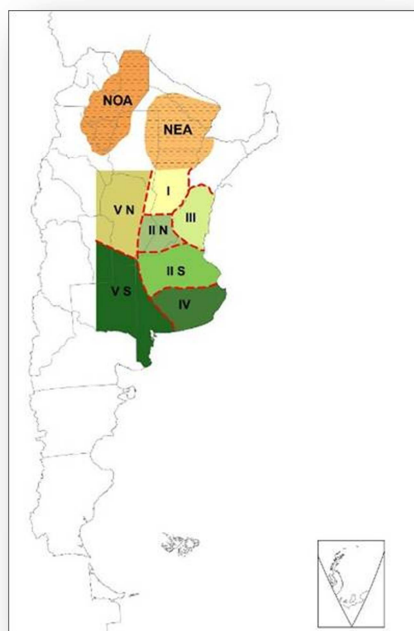


Figura 1. Regiones trigueras de la República Argentina. Fuente: Calzolari et al., 2008.

Según la Bolsa de Cereales de Buenos Aires, en la campaña 2010/2011, se sembraron 4,5 millones de hectáreas, con un rendimiento medio de 34,5 qq/ha y una producción de 15 millones de toneladas (Bolsa de Cereales, Buenos Aires, 2011).

En Argentina la producción de cebada cervecera ha crecido notablemente en los últimos 20 años. El aumento en el consumo de cerveza y el proceso de integración con el MERCOSUR, han sido factores fundamentales en la expansión del cultivo, sumada a la retracción de la superficie sembrada de trigo por cuestiones de mercado. En la campaña 2009/2010 se sembraron 625.000 hectáreas con una producción de 2,5 millones de toneladas y un rendimiento de 43 qq/ha, superando ampliamente los 1,7 millones de la campaña anterior (Bolsa de Cereales, Buenos Aires, 2011).

En la Argentina existen cinco zonas de producción, las tres más importantes se encuentran ubicadas en la provincia de Buenos Aires, la cual concentra más del 90 % de la producción total (Figura 2).

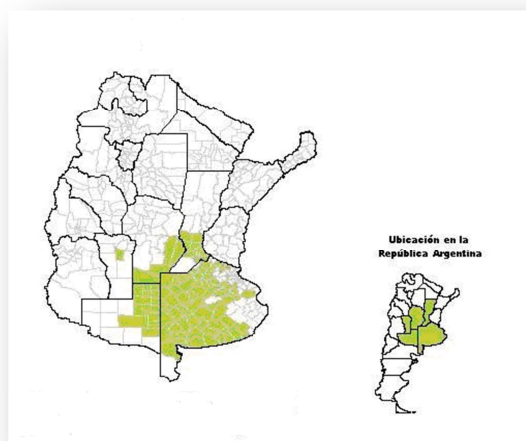


Figura 2. Zonas de producción de cebada cervecera en la República Argentina. Fuente: Bolsa de Cereales

Dada la importancia de dichos cereales a nivel nacional y mundial, el conocimiento de los factores adversos que afectan su calidad y rendimiento, son considerados de interés prioritario.

Dentro de los factores bióticos que afectan la producción de ambos cereales, se encuentran los áfidos, que constituyen uno de los grupos de insectos de mayor importancia, tanto por los daños que producen a los cultivos al extraer sus recursos,

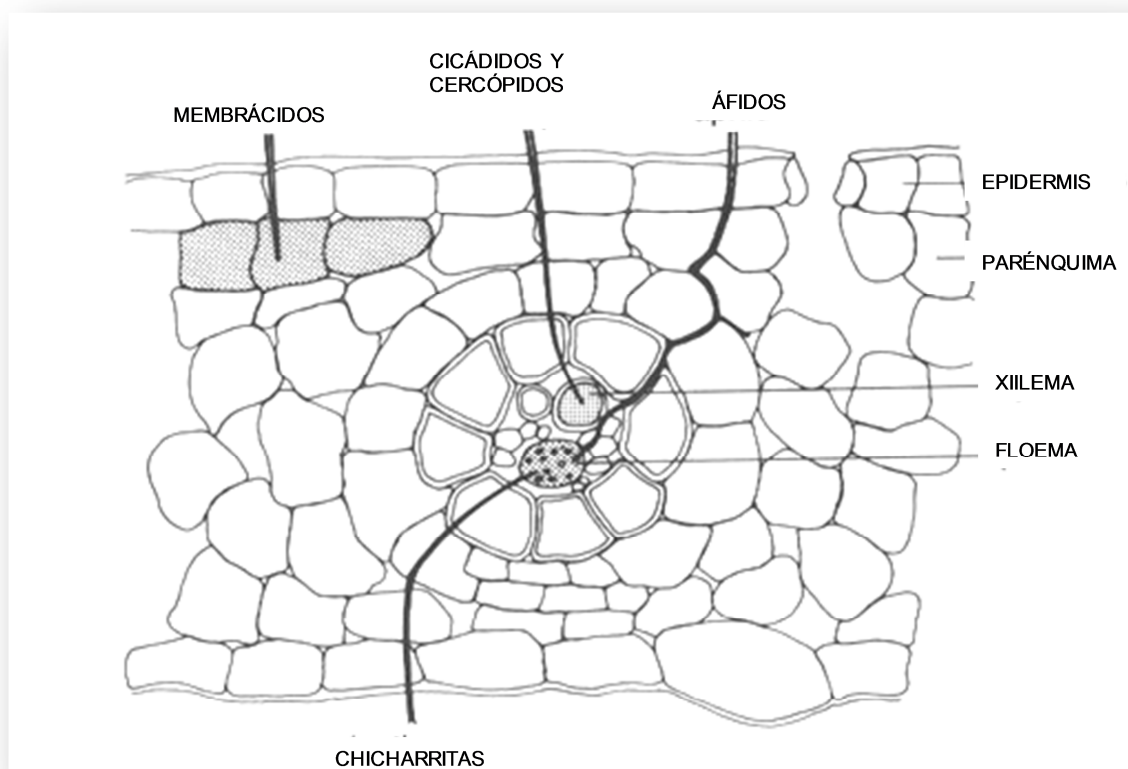
como por provocar alteraciones sistémicas en el crecimiento y producción de las plantas por la acción tóxica de su saliva. Además transmiten el 26 % de los virus que afectan a los vegetales (Eastop, 1977; Ortego, 1990; Blackman & Eastop, 2007). Entre las especies conocidas mundialmente se encuentran *Sitobion avenae* (Fab.) “pulgón de los granos”, *Rhopalosiphum padi* (L.) “pulgón de la avena”, *R. maidis* (Fitch) “pulgón del maíz”, *Metopolophium dirhodum* (Walker) “pulgón amarillo”, *Schizaphis graminum* “pulgón verde de los cereales” (Rond) y *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) “pulgón Ruso del trigo” (Blackman & Eastop, 2000).

## I. Los áfidos: Características generales

Si los Homoptera constituyen o no un Orden, es una discrepancia de varias décadas. Existen diferentes opiniones entre los estudiosos de la filogenia o la taxonomía de los grandes grupos de insectos, quienes a lo largo de buena parte del siglo pasado han discrepado en el concepto y en la extensión taxonómica de Homoptera, Heteroptera y Hemiptera. En la actualidad en base a estudios filogenéticos y moleculares se considera que el Orden **Hemiptera** posee dos subórdenes: **Heteroptera**, como grupo monofilético, y **Homoptera** con origen parafilético (Nieto Nafría, 1999).

Los Homoptera se subdividen en Sternorrhyncha y Auquenorrhyncha. Dentro del primer grupo, considerado monofilético, se ubican las Superfamilias **Aphidoidea** que agrupa a los áfidos, junto a **Coccoidea** (cochinillas), **Aleyrodoidea** (moscas blancas) y **Psiloidea** (piojos saltadores). Las cuatro superfamilias están ampliamente distribuidas en el planeta, la mayor diversidad de Aleyrodoidea y Coccoidea se encuentra en zonas cálidas y la de Psiloidea y Aphidoidea en zonas templadas (Sörensen, 1990; Nieto Nafría, 1999).

En todos los Sternorrhyncha la penetración de los estiletes es intercelular, accediendo a los líquidos internos de las plantas vasculares de las que se alimentan, siendo esta característica apomórfica (rasgo evolutivamente novedoso, derivado de un taxón ancestral filogenéticamente próximo), ya que en todos los demás hemípteros la penetración de los tejidos es intracelular (Nieto Nafría, 1999) (Figura 3).



**Figura 3.** Punciones intercelulares de los áfidos, en el tejido vegetal. Fuente: Modificado de Bernays & Chapman. 1994.

Dentro de la Superfamilia Aphidoidea se encuentran tres Familias: **Aphididae**, **Adelgidae** y **Phyloxeridae** (Eastop & van Emden, 1972; Blackman & Eastop, 1984). Stroyan (1984), divide a la Familia **Aphididae**, la principal de Aphidoideos, en dos subfamilias **Pterocommatinae** y **Aphidinae** y a esta última en dos tribus: **Aphidini** y **Macrosiphini**, dentro de las cuales se encuentran los géneros y especies de mayor importancia para los cultivos.

Existen evidencias que los insectos han evolucionado junto a las plantas huéspedes. Si bien los primeros fósiles de insectos y plantas terrestres datan de 380-400 millones de años, en el período Devónico, el origen de Homóptera se remonta al Pérmico, luego de la aparición de las plantas terrestres vasculares y de los bosques de helechos (345-430 millones de años) (Strong et al., 1984). Sin embargo toda la evidencia sugiere, que los áfidos como grupo monofilético, fueron originados en el Jurásico (195 millones de años) dado que los integrantes del orden son netamente fitófagos, y han culminado su evolución con la aparición de las Angiospermas en el Cretácico, hace 136 millones de años (Munson et al., 1991a). Este pasado evolutivo,

determina en la actualidad, la preferencia o la asociación de los distintos grupos de insectos hacia determinadas familias ó especies botánicas (Ward et al., 2003).

### **I. 1.- Interacción áfido planta**

La interacción áfido-planta comprende en primera instancia, la atracción ejercida por la planta, seguida por la penetración de los tejidos por el aparato bucal, la succión del líquido floemático y culmina con reacciones de la planta a dicha actividad. Estas reacciones pueden afectar su crecimiento, desarrollo y funcionamiento, en forma local ó sistémica (Prado, 1997). Las alteraciones provocadas en los hospederos por los áfidos que presentan saliva tóxica, son de carácter permanente (Castro & Rumi, 1987; Castro et al., 1987; Castro et al., 1990; Burd et al., 1989; 1993) aunque la intensidad de la infestación sea muy leve (Castro et al., 1989).

Los áfidos se alimentan de los vasos floemáticos, mediante la utilización de su aparato bucal picador succionador de cuatro estiletes. Los mismos se disponen dentro del labio (pico) originando una aguja con dos canales o conductos, uno salival y otro alimenticio (Fujimaki et al., 2000) (Figura 4). Dentro del canal alimenticio y de la epifaringe, se encuentran localizados los quimiorreceptores, responsables de identificar la composición química adecuada del fluido para su alimentación, a diferencia de los heterópteros quienes poseen los mismos en el extremo del pico (Prado, 1997). Por tal motivo necesitan probar la planta para determinar si la misma es aceptada o rechazada. Esto trae aparejado, como efecto secundario, la transmisión de virus fitopatógenos (Anderson & Bromley, 1987; Klingauf, 1987; Nikos et al., 2007).

En el momento de la penetración del estilete y durante la alimentación activa del áfido, son excretadas, al menos, dos tipos de saliva: una que gelifica rápidamente, compuesta principalmente de proteínas, fosfolípidos y carbohidratos conjugados, con funciones de protección, y otra acuosa, con funciones digestivas. Cuando el insecto perfora la célula vegetal, la saliva de protección se polimeriza alrededor del estilete para formar una capa protectora, limitando el contacto directo del estilete con el apoplasto (espacio intercelular) de las plantas. La composición de la saliva digestiva es más compleja y contiene un grupo amplio de enzimas que incluyen pectinasas, celulasas, amilasas, proteasas, lipasas, fosfatasas alcalinas y ácidas, peroxidases y otros compuestos capaces de inducir las defensas de la planta (Miles, 1999; Cooper et al., 2011).

La fuente principal de alimento de los áfidos es la savia que extraen del floema, aunque incluye además la punción de las células del parénquima y las células acompañantes del floema y el xilema (Miles, 1999). Los pulgones penetran las placas cribosas delicadamente manteniendo las células vivas y los poros abiertos, con el fin de prevenir la coagulación de las proteínas del floema y, más tarde, la formación de callosa (Tjallingii & Hogen Esch, 1993; Prado & Tjallingii, 1994). De esta forma los áfidos pueden ingerir la savia de forma continua durante muchas horas (Tjallingii, 2006). A través de los gráficos de penetración eléctrica (GPE), se pudo determinar la importancia de la inyección de saliva en la coagulación de las proteínas. Así se determinó que la saliva acuosa siempre precede la ingestión de savia (Tjallingii, 1978). Estudios posteriores identificaron otro tipo de saliva acuosa que el áfido añade a la savia ingerida, para evitar la coagulación de las proteínas dentro del canal alimenticio. Dado que no todos los pulgones son capaces de realizar este mecanismo, se cree que es uno de los mecanismos de resistencia de las plantas a los áfidos (Tjallingii, 2006).

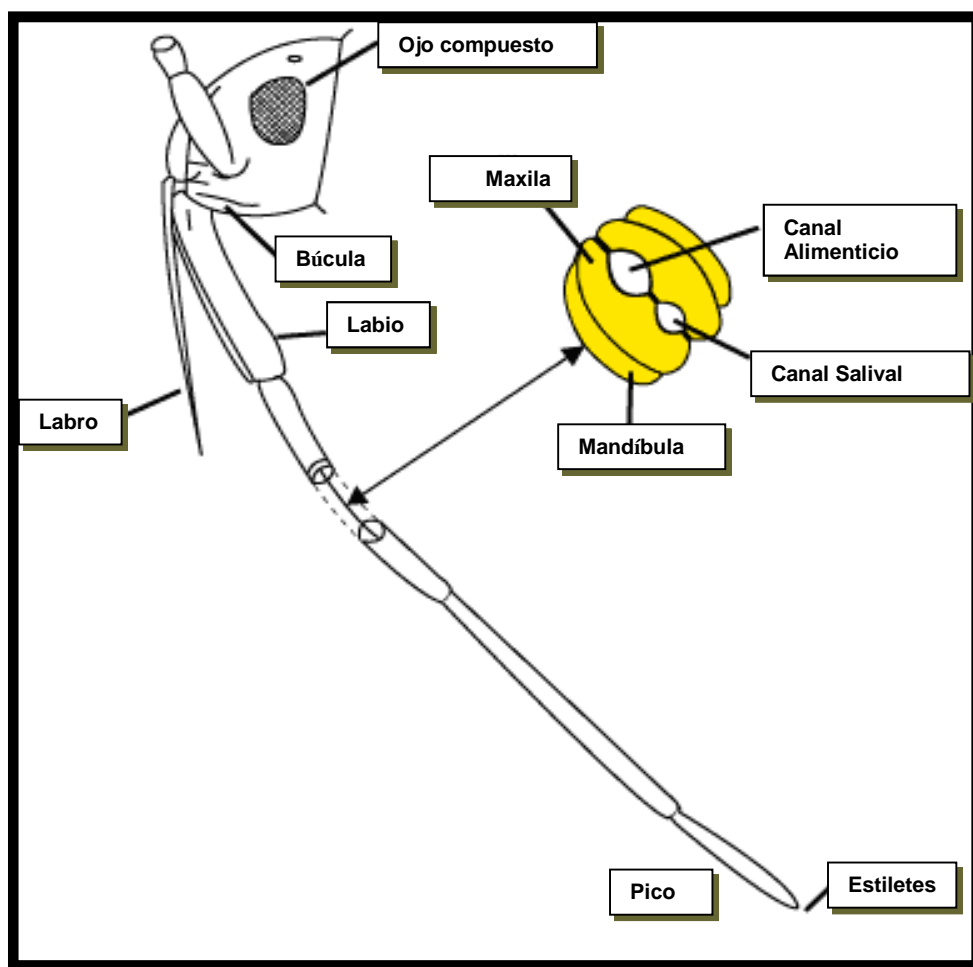


Figura 4. Composición del aparato bucal de los áfidos. Modificado de Castro, F. 2007,



## I. 2. Transmisión de virus

De los más de 700 tipos de virus fitopatógenos conocidos, el 58 % son transmitidos por insectos que pertenecen al Orden Homóptera (Francki et al., 1991). En tanto que 208 de los 211 virus de tipo no persistente conocidos, son transmitidos únicamente por áfidos. De 228 especies reconocidas como vectoras, 200 pertenecen a la subfamilia Aphidinae (Eastop, 1983; Swenson, 1968). La eficiencia que poseen los pulgones como vectores con relación a otros Homópteros, puede deberse a que al carecer de quimiorreceptores en los tarsos y en el extremo del labio (son simples mecanorreceptores), deben necesariamente ingerir líquido floemático para ser identificado por las papilas gustatorias ubicadas dentro del aparato bucal. De esta forma es que adquieren rápidamente el virus al “probar” a sus posibles huéspedes (Watson & Nixon, 1953; Wensler, 1977; Tjallingii, 1978; Harris, 1983). En la transmisión de virus el aparato bucal es el involucrado, siendo los estiletes los que participan en forma directa en la transmisión (Forbes, 1969; Ponsen, 1977; Nikos et al., 2007).

Existen dos sistemas para describir y distinguir entre los tipos de relación virus-vector, uno basado en el tiempo de retención de un virus por el áfido y otro basado en el sitio de retención o ruta de transporte del virus en el áfido (Pirone & Harris, 1977). Ponsen (1977), basó su clasificación en el período de retención, considerando como virus *no persistentes* a aquellos retenidos por los vectores durante un corto período, de unas pocas horas o menos, y *persistentes* a los virus retenidos por sus vectores por semanas o meses. Una tercera categoría, los *semipersistentes*, fue introducida más tarde para agrupar los virus que son retenidos por sus vectores por tiempos intermedios (Sylvester, 1989; Nikos et al., 2007).

Otra forma de clasificar a los virus es de acuerdo a la localización de la partícula viral en el vector, dividiendo a las virosis en virus de estilete o *no circulativos* y en virus *circulativos*. Los primeros serían llevados en el extremo de los estiletes y en los circulativos, las partículas virales son ingeridas y circulan en la hemolinfa, llegando a las glándulas salivares desde donde son inyectadas en los tejidos vegetales. Algunos virus pueden multiplicarse dentro del vector, denominándose los *propagativos* (Nikos et al., 2007).

### I. 3. Simbiosis

El líquido floemático que extraen los pulgones constituye un alimento rico en carbohidratos pero deficiente en aminoácidos esenciales. Para compensar este desequilibrio, los áfidos han desarrollado una simbiosis mutualista de carácter obligado con una bacteria, con la cual han coevolucionado a través de las distintas eras geológicas. Dicha asociación tiene por lo tanto, una base netamente nutricional (Douglas, 1998) y ha contribuido a mejorar la adaptación de los áfidos durante su proceso evolutivo (Sandström & Moran, 2001). La congruencia entre las filogenias de áfidos y la de su simbionte *Buchnera*, indica una infección antigua seguida por una transmisión exclusivamente vertical hace 100-200 millones de años (Heie, 1987; Moran et al., 1993; Clark et al., 1999; Clark et al., 2000; Sandström et al., 2001).

Munson et al., (1991a) utilizando secuencias de genes de ADNr identificaron a la bacteria como una  $\gamma$ 3-Protobacteria, dentro de la Familia Enterobacteriaceae (la cual incluye a *Escherichia coli*) y asignada con el nuevo género *Buchnera*. La especie *aphidicola*, ha sido identificada en todos los miembros de Aphidoidea excepto en las Familias Adelgidae y Phylloxeridae y en algunas especies de Hormaphididae (Munson et al., 1991b, 1991c; Fukatsu et al., 1994). La misma está presente en todas las formas de áfidos. En las formas partenogenéticas de Aphididae, se pueden encontrar aproximadamente  $10^7$  bacterias por mg de peso de áfido, equivalente al 10% del total de su biomasa (Buchner, 1965; Fukatsu & Ishikawa, 1992; Baumann & Baumann, 1994; Humphreys, 1996). El microorganismo es intracelular y restringido al citoplasma de células especiales del insecto denominadas *bacteriocitos* o *micetocitos*, ubicadas en la cavidad del cuerpo (hemocele) próximas al intestino. Las células de *Buchnera* son transmitidas maternalmente de generación en generación a través de los ovarios, proceso conocido como transmisión transovárica. En los individuos ovíparos dicha transmisión es a través del huevo y en los partenogenéticos a través de los embriones (Douglas, 1998).

En estudios realizados con áfidos tratados con distintos tipos de antibióticos, se comprobó que las ninfas recién nacidas tuvieron un crecimiento muy lento y originaron adultos pequeños, los cuales produjeron pocos o ningún descendiente. Esto reflejaría la función nutricional que desempeña *Buchnera* en los áfidos (Griffith & Beck, 1974; Wilkinson & Ishikawa, 1999). Estudios posteriores demostraron que *B. aphidicola*, posee un cromosoma de tamaño muy reducido y dos plásmidos encargados de la síntesis de triptofano y leucina, esenciales para el crecimiento y desarrollo de los

áfidos (Chi-Yung et al., 1996; Funks et al., 2000; Wernegreen & Moran, 2000; 2001; Montllor et al., 2002; Wernegreen, 2002; Herbeck et al., 2003).

El endosimbionte y el áfido son mutuamente interdependientes, ya que si bien la bacteria posee la información para la biosíntesis de los aminoácidos esenciales que requiere el huésped, ha perdido los genes que sintetizan los no esenciales y aquellos que intervienen en la síntesis de componentes de la membrana celular (Shigenobu et al., 2000; Oliver et al., 2003).

Además de cumplir funciones en la nutrición del áfido, existen evidencias que *Buchnera* interviene en la resistencia a insecticidas, a los parasitoides y en la eficiencia de la transmisión de virus circulativos, ya que provee una proteína que estabiliza la partícula viral facilitando su inoculación (Douglas, 1998; Oliver et al., 2003).

Muchos áfidos, además, tienen una o más bacterias simbióticas, conocidas como "secundarias". En los pulgones, por lo general se encuentran en una densidad 10 veces menor que *Buchnera*. Si bien las bacterias accesorias o secundarias de los Aphidinae han sido estudiadas, ninguna se ha descrito formalmente. Algunas se incluyen en las  $\gamma$ -proteobacterias, *Serratia symbiotica*, *Hamiltonella defensa* y *Regiella insecticola*. Otra dentro de las  $\alpha$ -proteobacterias conocida como *S-type* y un *Spiroplasma* (Douglas & van Emdem, 2007).

#### I. 4. Comportamiento reproductivo

El ciclo de vida de los áfidos se encuentra entre los más complejos de los distintos grupos de insectos. Dentro de las características más destacables se encuentran la existencia de generaciones sexuales y partenogenéticas y un elaborado polifenismo. Estos y otros rasgos, como un cambio obligado del sitio de alimentación entre plantas huéspedes no relacionadas taxonómicamente, ocurren en una variedad de combinaciones en aproximadamente 4500 especies descritas, dentro de la Superfamilia Afidoidea (Eastop, 1977; Blackman & Eastop, 2007).

Dicha complejidad puede llegar a ser más comprensible cuando se analiza con una perspectiva evolutiva. Las transformaciones evolutivas, han dado origen a la gran diversidad de ciclos en los áfidos actuales. Gracias al estudio de las relaciones filogenéticas, se pudo establecer el origen de la partenogénesis y de la viviparidad; la

evolución del polifenismo, las adaptaciones que lograron los áfidos y los hospedantes para sincronizar el crecimiento de los pulgones con los períodos favorables en la fenología del huésped; la ganancia y pérdida de la alternancia de hospederos y la pérdida de la fase sexual de su ciclo de vida (Morán, 1992).

#### *Partenogénesis y viviparidad*

La partenogénesis es generalizada en los áfidos, y ha sido la responsable de la evolución de la mayoría de otros rasgos poco comunes de su ciclo de vida (Morán, 1992). La misma se caracteriza por un único mecanismo cromosómico que asegura la identidad genética entre madre e hija. Los machos son XO y producidos partenogénicamente (Williams & Dixon, 2007). Un mecanismo especializado durante la espermatogonia, produce la pérdida del cromosoma complementario "X", esto hace que los machos produzcan gametas portadoras únicamente de éste cromosoma, que darán hijas al reproducirse sexualmente. Estas últimas son llamadas fundadoras, responsables de iniciar otra serie de reproducciones partenogénicas (Morán, 1992; Delmotte, 2002).

Estudios realizados por Novotná et al. (2011), determinaron que las hembras de *D. noxia* poseen un cariotipo de  $2n = 10$ , compuesto por cuatro pares autosómicos y un par de cromosomas X, mientras que los machos poseen un cariotipo  $2n = 9$  con un único cromosoma X. Determinaron además que dicho cromosoma representa cerca del 35% del genoma haploide de las hembras.

Existen evidencias que la partenogénesis cíclica ocurrió bastante temprano en el ancestro común de los Aphidoidea. Esta afirmación está basada en la similaridad de los mecanismos citogenéticos en especies lejanamente emparentadas, y por el hecho que el grupo completo (clado), está caracterizado por la partenogénesis. En tanto que la sexualidad obligada es primitiva en otros grupos de Sternorrhyncha incluyendo Psiloidea, Coccoidea y Aleyrodoidea (Heie, 1987).

Se desconoce si los áfidos primitivos fueron partenogénicos, sin embargo, la gran antigüedad de éste tipo de reproducción, está avalada por la existencia de algunos fósiles, por ejemplo de *Aniferella bostoni* (del Cretácico). Dicha especie muestra un ovipositor reducido, que estaría sugiriendo viviparidad, y que implicaría además el primer registro de la partenogénesis (Heie, 1987; Morán, 1992;).

En los áfidos modernos, el desarrollo de los embriones puede comenzar antes que la madre nazca, con consecuentes generaciones telescopadas. Como resultado, el período de desarrollo postnatal y el tiempo generacional son cortos, y las tasas reproductivas muy altas. La viviparidad es típica de Aphididae, pero no de Phylloxeridae o Adelgidae. En todas las especies de Aphidoidea las hembras sexuadas depositan huevos (Dixon, 1987; Morán, 1992).

#### *Polimorfismo clonal y polifenismo*

El polifenismo, o la ocurrencia de múltiples fenotipos o morfos en individuos genéticamente idénticos, es un atributo más extensivo en áfidos que en otro grupo de insectos, y ha sido central en la evolución de su ciclo de vida. Dentro de una colonia partenogenética, las hembras pueden exhibir más de ocho fenotipos, que pueden diferir en varios atributos tales como la morfología, fisiología, tiempo de producción y tamaño de la descendencia; tiempo de desarrollo y longevidad; la habilidad para utilizar en forma alternada distintos hospederos no emparentados y la preferencia de las plantas huéspedes (Morán, 1992).

En insectos, el polifenismo ha sido ampliamente estudiado dentro de las especies sociales de Hymenoptera e Isoptera y dentro de especies no sociales de Orthoptera, Lepidoptera y Homoptera. En los áfidos el polifenismo, es uno de los factores que determina su importancia como plagas. El polifenismo alar y el asociado a distintos tipos de reproducción son los más frecuentes y conocidos, mientras que las diferencias observadas en la coloración son menos frecuentes (Takada, 1981; Müller, et al., 2001).

Muchas de las divergencias entre morfos dentro del ciclo de vida, refleja la especialización ante diferentes condiciones ambientales. Los áfidos se desarrollaron preferentemente en zonas templadas, en las cuales la calidad del líquido floemático que constituye su dieta, sufre fluctuaciones estacionales altamente predecibles (Morán, 1992; Blackman & Eastop, 2007).

Estudios detallados del ciclo de vida, en lo que se refiere a las diferencias entre morfos, han demostrado un equilibrio entre los distintos componentes, por ejemplo, los individuos alados tienen un mayor tiempo de desarrollo y una menor fecundidad que los ápteros. Entre tales equilibrios, el fenotipo óptimo depende de un conjunto de condiciones como la habilidad de vuelo, la tolerancia a la falta de nutrientes y distintas situaciones de estrés como la temperatura. En estas situaciones la tasa de desarrollo y

la fecundidad potencial, sufrirán la selección natural con distintas intensidades en diferentes ambientes (Morán, 1992).

#### *Tipos de morfos*

- *Hembras fundadoras o fundatrices*: Son las hembras que nacen de los huevos, producto de la reproducción sexual. Se desarrollan y reproducen durante la primavera, encontrando condiciones ambientales favorables, disponibilidad de nutrientes y escasez de enemigos naturales. Se caracterizan por poseer alta fecundidad ante condiciones favorables y por poseer bajo potencial de supervivencia ante condiciones desfavorables. Son ápteras en todos los grupos, tienen un abdomen muy desarrollado y antenas cortas con pocos sensorios secundarios. Producen más embriones que las hembras subsiguientes (Morán, 1992; Williams & Dixon, 2007).
- *Partenogenéticas de verano*: Se reproducen asexualmente durante muchas generaciones, entre la aparición de la fundatrix y de la hembra sexuada, y pueden presentar una a varias formas discretas. La alternancia de hospederos en los ciclos de vida, incluye formas migrantes desde el huésped primario (emigrantes), hembras que viven en huéspedes secundarios (alienícolas) y hembras que migran nuevamente al huésped primario (inmigrantes que incluyen ginóparas y sexúparas). En algunas especies, ciertas hembras muestran adaptaciones morfológicas y/o fisiológicas para la diapausa o dormancia. Así durante el invierno o mediados de verano, cuando las condiciones climáticas son extremas y declina la calidad nutricional, pueden subsistir por ejemplo, disminuyendo el tamaño (Morán, 1992).
- *Soldados e intrusos*: Según Morán (1992) los morfos denominados “soldados” se registran en las tribus Cerataphidini, Pemphigini y Eriosomatini. Por ejemplo en *Colophina clematis* Shinji el primer estadio ninfal hembra, defiende a la colonia de los enemigos naturales, la cual no alcanza el estado de adulto reproductivo. Los “intrusos” son ninfas hembras de primer estadio que invaden agallas de la misma u otra especie.
- *Morfos sexuales*: Las hembras sexuales, denominadas “ovíparas”, difieren morfológicamente de las partenogenéticas. Al igual que las fundatrices son ápteras en todos los grupos. Producen más ovariolas haploides que diploides y exhiben atributos morfológicos y de comportamiento relacionados con la

oogénesis, apareamiento y oviposición. Se diferencian fundamentalmente por el engrosamiento de las tibias del tercer par de patas (y presencia de pseudosensorios) y por presentar mayor número de sensorios antenales. Usualmente son menos fecundas y se reproducen por un período más corto que las otras hembras. Un caso extremo lo constituyen algunos representantes de la tribu Penphigini cuyas hembras no se alimentan y colocan un sólo huevo (Morán, 1992).

Los *machos* pueden mostrar diferentes fenotipos dependiendo de las especies. Pueden ser alados o ápteros, enanos o de tamaño normal (Morán, 1992).

- *Polifenismo alar*: Les permite a los áfidos, originar individuos que migran hacia nuevas fuentes de alimento cuando fueron agotados los recursos existentes, manteniendo así su fecundidad y supervivencia. Una vez instalada la hembra alada, aparecen nuevamente las formas ápteras (Müller, et al., 2001). La inducción de formas aladas puede ser realizada, de acuerdo a la especie, sobre la madre (pre-natal) ó sobre las ninfas (post-natal), y puede ser debida a distintos estímulos (Dixon, 1998). Uno de ellos es la cantidad y calidad del alimento, cuando el mismo es pobre, aparecen individuos alados que migran hacia otros huéspedes. En cambio si es rico, predominan los individuos ápteros (Dixon & Glen, 1971).

Otro factor que determina la aparición de formas aladas, cuando las condiciones ambientales son favorables, es el efecto denominado amontonamiento o *crowding*. En el mismo el contacto físico entre los áfidos constituye el estímulo que condiciona la aparición de hembras aladas (Johnson, 1965). Sin embargo, no todos los áfidos responden de igual manera al efecto del contacto entre ellos. Estudios realizados por Müller et al., (2001), indican que los áfidos no gregarios como *Myzus persicae* (Sulzer), producen menor cantidad de alados por el efecto del amontonamiento que las especies gregarias, como *Aphis fabae* Scopoli y los pulgones de los cereales.

La temperatura y el fotoperíodo son otros factores de importancia en la aparición de alados (Blackman, 1972). Con altos registros térmicos predominan los ápteros, mientras que con bajas temperaturas aparecen las formas aladas (Liú, 1994).

### *Ciclo de vida*

Los áfidos poseen un complejo ciclo de vida, ya que para una misma especie pueden presentarse varias estrategias reproductivas. Muchos pulgones durante la primavera y el verano se reproducen asexualmente (partenogénesis), originando rápidamente colonias numerosas. Dependiendo de las condiciones ambientales tales como la temperatura y longitud del día, dichas colonias originan formas sexuadas que en el otoño (bajas temperaturas y días cortos) se reproducirán sexualmente (Morán, 1992).

El acortamiento de los días al final del verano, es el factor más importante para la inducción de la sexualidad en áfidos (Marcovitch, 1924). Esto ha sido corroborado por numerosos estudios, en distintas especies que presentan reproducción sexual. Cuando los pulgones fueron sometidos a un fotoperíodo prolongado, se mantuvieron indefinidamente como clones, reproduciéndose por partenogénesis. Mientras que cuando se los sometió a un régimen de días cortos y noches prolongadas, produjeron formas sexuadas luego de una o dos generaciones (Simon et al., 1991; Via, 1992).

El estímulo fotoperiódico que determina el tipo de reproducción, fue estudiado en detalle en el áfido *Megoura viciae* Buckton. Estos estudios demostraron que la longitud de la fase de oscuridad como así también la duración del estímulo, son los factores que desencadenan la reproducción sexual (Lees, 1973; 1987; Steel & Lees, 1977). En respuesta al estímulo, ocurre una cascada de sucesos sensoriales, neuronales y endocrinos que resulta en la expresión alternativa de un gen que se encuentra presente en los fenotipos sexuados (Hales et al., 1997).

Estudios realizados por Ramos et al., (2003), demostraron que en *Acyrtosiphon pisum* Harris, existe un gen que se expresa cuando el áfido es sometido a días cortos, constituyendo el primer gen identificado en áfidos, cuya expresión se encuentra regulada por el fotoperíodo.

El diez por ciento de las especies de áfidos es *heteroico*, esto significa, que alternan entre huéspedes leñosos (arbóreos ó arbustivos) y herbáceos, dependiendo de la estación y por consiguiente de su ciclo biológico. Por ejemplo el “pulgón verde del duraznero” *Myzus persicae* Sulzer., durante primavera-verano realiza su ciclo partenogenético sobre gran variedad de especies herbáceas como pimiento, lechuga, tabaco y crucíferas. En otoño cuando disminuyen las temperaturas y se acortan los días, aparecen individuos sexuados y alados que migran al duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch.) donde coloca los huevos de invierno, producto de la reproducción sexual



(Blackman, 1972). Los áfidos que no presentan alternancia de huéspedes, realizan todo su ciclo en el mismo, se los denomina *autoicos*. En ellos la aparición de alados tiene importancia únicamente cuando disminuye la calidad del alimento (Eastop, 1983).

Dentro de las alternativas reproductivas que presentan los áfidos podemos encontrar: el *holociclo* (Figura 5), que corresponde al tipo de ciclo en el cual los clones responden al acortamiento de los días y a las bajas temperaturas otoñales, produciendo hembras y machos sexuales que darán origen al huevo como forma de resistencia invernal (Blackman, 1972).

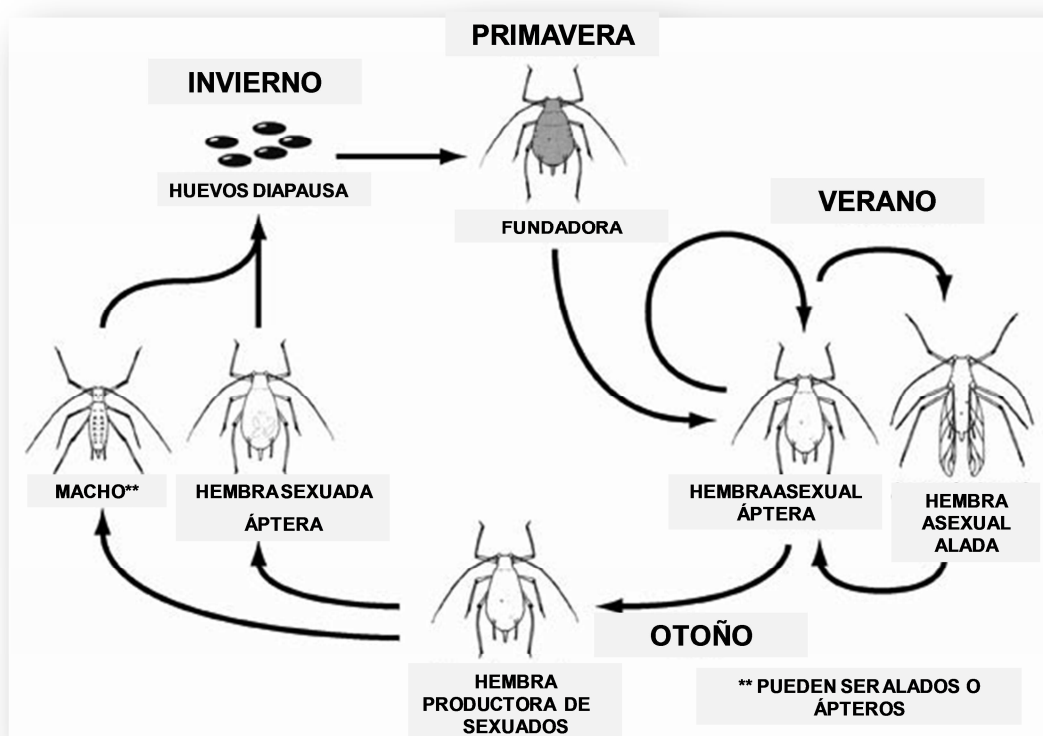


Figura 5: Tipos de morfos presentes en un áfido holocíclico. Fuente: Modificado de Shingleton et al., 2003.

Existen por otro lado, poblaciones que todo el año se reproducen partenogénicamente. A este tipo de reproducción se lo conoce como *partenogénesis obligada* o *anholociclo*. Entre estas formas de reproducción, existen dos tipos intermedios, que presentan en distinto grado, características de las dos primeras y producen por partenogénesis hembras y machos, con variable número de formas sexuales. Una de ellas es el *androciclo*, en el cual por partenogénesis se originan machos, y un tipo *intermedio* que produce partenogénicamente hembras, machos y

hembras sexuadas (Dedryver, 1998; Helden & Dixon, 2002; Simon et al., 2002; Simon et al., 2003; Wilson et al., 2003).

La frecuencia relativa de los distintos tipos de reproducción, varía geográficamente y esto está determinado fundamentalmente, por las diferencias en la rigurosidad del invierno (Newton & Dixon, 1988; Dedryver, 2001). Inviernos muy rigurosos pueden causar mortalidad total en poblaciones anholocíclicas, mientras que los huevos son resistentes al frío y su mortalidad es independiente de la severidad invernal (Helden & Dixon, 2002).

Según Blackman (1972), cuando se considera algún tipo de variación intraespecífica, se debe determinar qué proporción se debe a diferencias genéticas dentro de la especie y cual se le atribuye a la influencia directa del ambiente o a la interacción entre ambos (genotipo y el ambiente). Por ejemplo, la presencia de clones anholocíclicos de *M. persicae* en zonas tropicales, puede deberse directamente a la pérdida de los estímulos ambientales necesarios para la producción de formas sexuadas. En climas templados, la ocurrencia de holociclo y anholociclo en la misma región bajo idénticas condiciones del ambiente, se debe a la variabilidad genética dentro y entre poblaciones locales.

En *M. persicae*, existen genotipos capaces de producir hembras ovíparas y machos (holociclo), otros pueden producir únicamente machos (androciclo) y algunos son incapaces de producir formas sexuadas (anholociclo). Aquellos áfidos que pueden producir formas sexuales (genotipos holocíclicos y androcíclicos) lo hacen en respuesta a la temperatura y el fotoperíodo (Blackman, 1971).

La partenogénesis cíclica y la alternancia de hospederos, son las principales características evolutivas que han permitido a los áfidos explotar sus plantas huéspedes, particularmente plantas herbáceas de corta vida, como la mayoría de los cultivos agrícolas, mejor que ningún otro grupo de insectos (Blackman & Eastop, 1984; Ortego, 1990).

Los virus y demás procariotas que se reproducen en forma asexual, mutan rápidamente. En contraste, los clones de eucariotas producidos por partenogénesis, son comúnmente tratados como genéticamente idénticos, dentro y entre poblaciones (Lushai et al., 2003). En el debate sobre la evolución, se plantea frecuentemente la longevidad de las especies partenogenéticas (Normark et al., 2003). La reproducción

sexual es beneficiosa ya que genera descendientes genéticamente variables, siendo esta la clave de la evolución (Gorokhova et al., 2002; Loxdale & Lushai, 2003).

Con el advenimiento de las técnicas moleculares, se ha incrementado la posibilidad de detectar y cuantificar cambios mutacionales en poblaciones asexuales (clones) (Lushai & Loxdale, 2002). Como resultado de las mutaciones, es probable que una población originada por partenogénesis esté constituida por varios clones, cada uno adaptado a un determinado nicho en los cuales expresarán mayor o menor potencial. Esto determina, junto a la posibilidad de alternar ciclos sexuales, que ciertos taxones asexuales persistan en el tiempo. El corto tiempo generacional y la tasa de crecimiento de poblaciones clonales, constituyen la base de su habilidad para explotar ambientes heterogéneos (Lushai et al., 2003).

Sin tener en cuenta el ciclo de vida, los áfidos pueden producir distintos fenotipos que difieran en la fisiología y el comportamiento, a partir de una única línea clonal. Por ejemplo, los áfidos pueden exhibir fenotipos distintos a partir de un holociclo. Estos pueden mostrar distinto comportamiento y ecología con relación a otro, y pueden ocupar diferentes nichos en el tiempo (Dixon, 1998).

La combinación de cambios genéticos, una prodigiosa capacidad de incremento poblacional, sumado a la producción de respuestas rápidas ante cambios ambientales en distintas zonas geográficas, les permite a los áfidos colonizar permanentemente nuevas áreas (Lushai et al., 2003).

## I. 5. *Diuraphis noxia* “Pulgón Ruso del Trigo”

### *Origen y distribución:*

Uno de los áfidos que ha demostrado tener una elevada capacidad de dispersión en las últimas décadas es *Diuraphis noxia* Kurdjumov (Aphidinae: Macrosiphini), conocido como “Pulgón Ruso del Trigo” (PRT). Es originario de las regiones paleárticas de Europa Oriental y Asia Central que rodean al Mar Negro, Mar Caspio, y la Cuenca del Cárpatos (Jones et al., 1989; Starý, 1996).

Según Kazemi (2001), el primer registro del PRT data del año 1900 en el sur de Rusia (Ucrania) por Mordvilko, a partir de ese momento su dispersión a la mayoría de las áreas de producción de cereales fue permanente. En las zonas próximas al centro de origen, el áfido fue detectado en 1959 en Turquía, durante 1989 en Macedonia y Hungría, en 1990 en Serbia, en 1993 en Polonia, en 1996 en la República Checa, en 1997 en Alemania, en 2000 en Austria, en 2001 en Eslovaquia y en 2002 en Croacia (Starý et al., 2003). Ingresó a Sudáfrica en 1977 y en la región Neártica, fue detectado primero en México en 1980 y posteriormente en EE.UU. en 1986. En este último país, el áfido se dispersó desde Texas a todos los Estados productores de trigo del oeste en un poco más de un año, causando pérdidas estimadas en 100 millones de dólares sólo durante 1988 (Hughes, 1990; Norambuena & Gerding, 1991). En Sudamérica se detectó en la zona central de Chile en 1987 (Zerené et al., 1987).

En la Argentina el primer hallazgo fue realizado en 1991, en Malargüe, Provincia de Mendoza (Ortego & Delfino, 1992). Algunas localidades donde fue colectado se encuentran a 2000 msnm y a 40 km de Chile, en una zona alejada de la región cerealera del país. Por tal motivo podría suponerse, que el áfido ingresó a Mendoza desde Chile ayudado por el viento zonda, el cual se origina en el océano Pacífico, remonta la Cordillera de Los Andes y desciende en forma violenta por los valles cordilleranos de la Argentina (Ortego & Delfino, 1992; 1994; Ortego, 1994). Además de Mendoza, en la actualidad, el PRT se encuentra en expansión, distribuido entre los 26° 50' LS a los 43° 28' LS, en las Provincias de Tucumán, Córdoba, Buenos Aires, Neuquén y Chubut (Clúa et al., 2004).

El PRT está adaptado a regiones de climas secos, soleados y con lluvias esporádicas, en estas condiciones las poblaciones tienen un rápido crecimiento; mientras que períodos prolongados de lluvia y humedad, tienen un efecto negativo en su desarrollo (Jones et al., 1989). De acuerdo a registros tomados en EE.UU. y Sudáfrica, altas

densidades de población del áfido en trigo y cebada, se asociaron a climas secos delimitados por las isohietas de 300 y 400 mm (Hughes & Maywald, 1990). Estos datos son concordantes con los obtenidos por Clúa et al., (2004), quienes hallaron a la mayoría de las poblaciones de Argentina, dentro del mismo régimen hídrico, a excepción de unas pocas que se localizaron en áreas con 2000 mm de precipitaciones. Starý et al., (2003) destaca que en Europa en la actualidad, el PRT se extiende a zonas húmedas como Hungría, Austria y Alemania, demostrando su capacidad de adaptación a nuevos ambientes. El áfido prospera en cultivos expuestos a temperaturas extremas, entre  $-37\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Sin embargo es entre  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  cuando el pulgón logra un crecimiento y desarrollo óptimo (Hughes & Maywald, 1990).

#### *Descripción del PRT*

*D. noxia* es un pulgón pequeño, de menos de 2,3 mm de longitud, con cuerpo alargado y aplanado dorsoventralmente, con coloración verde amarillento o verde grisáceo, a menudo cubierto por una cera pulverulenta blanquecina. Presenta cabeza con frente sinuosa. Antenas con seis antenómeros. Las hembras aladas poseen desde 4 a 8 sensorios secundarios sobre el antenómero III y desde 1 a 3 sobre el IV; mientras que las hembras ápteras no presentan sensorios secundarios en sus antenas. Posee cornículos pálidos, cortos y truncados, con una longitud igual a su diámetro. Cauda también pálida, alargada y con tres pares de setas laterales. Los individuos de esta especie presentan en el tergito VIII un característico proceso supracaudal, casi tan largo como la cauda en las hembras ápteras, aunque apenas notable en las aladas (Ortego & Delfino, 1994) (Figura 6 a y b).

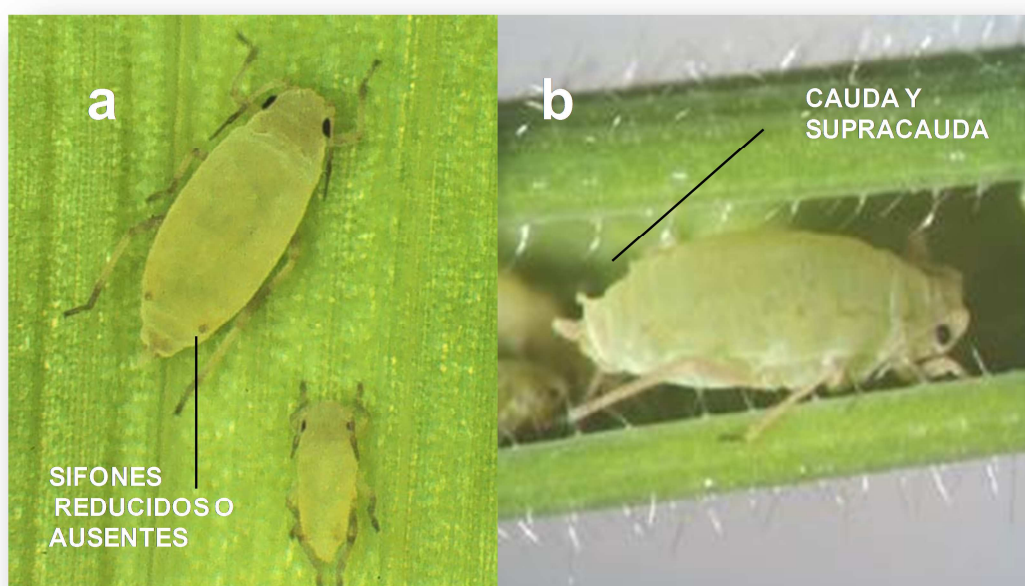


Figura 6: **a)** Vista dorsal del PRT (Fuente: <http://www.sel.barc.usda.gov/aphid/diuraph.htm>). **b)** Vista lateral donde se observan la cauda y supracauda características del PRT (Fuente: Modificado de Afonin et al., 2008.)

### *Plantas hospederas*

El PRT es una de las plagas de mayor importancia mundial en el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) y de cebada (*Hordeum vulgare* L.). Además de estas especies, dado que es un áfido específico de la familia Graminaceae, puede utilizar como hospederas alternativas al centeno (*Secale cereale* L.), triticale (*X Triticosecale* Wittmarck), avena (*Avena sativa* L.) y el arroz (*Oryza sativa* L.) dentro de los cereales cultivados. También coloniza gramíneas silvestres como *Bromus madritensis* L., *Elytrigia elongata* Nevski, *Phalaris canariensis* L., *Phleum pratense* L.; *Avena fatua* L.; *Agropirum cristatum* L. (Ortego & Delfino, 1994) y *Sorghum halepense* L. (Clúa et al., 2004.). Así son numerosos los huéspedes alternativos que desempeñan una función importante en el mantenimiento de este pulgón durante el período crítico, entre la emergencia y cosecha del próximo cultivo.

### *Daños*

Los patrones de daño que produce *D. noxia*, difieren de aquellos que producen otros áfidos que atacan cereales, por lo tanto a través del reconocimiento de los mismos se puede detectar su presencia (Kazemi et al., 2001). El deterioro causado por el áfido, comprende el desarrollo de un conjunto de cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos por parte de la planta, como reacción al ataque. Dentro de los factores que afectan esta respuesta se encuentran, el momento de infestación, en cuanto a la estación del año y al estado fenológico del cultivo, duración de la infestación, estrés ambiental, fundamentalmente sequía y el estado nutricional del cultivo (Macedo et. al., 2003).

El PRT usualmente se alimenta en la base de hojas jóvenes. Estas hojas reciben un gran aporte del floema con nutrientes minerales, aminoácidos y carbohidratos. Como resultado del proceso de alimentación y a la inyección de saliva tóxica, se producen en las láminas foliares manchas paralelas a las nervaduras de color blanco-amarillento (Figura 7a), las cuales en climas fríos, pueden tornarse rojizas por la presencia de pigmentos antociánicos (Miller et al., 1994; Kazemi et al., 2001). Wang et al., (2004a) comprobaron que existe una reducción en el contenido de pigmentos como la clorofila *a*, *b* y carotenoides a partir del tercer día de la infestación de *D. noxia* en hojas de trigo. Los mismos autores (2004b) demostraron que las manchas cloróticas producidas

por el áfido, se deben a un desbalance en la biosíntesis de clorofila y a su degradación, producida por la inducción de la actividad de enzimas como la clorofilasa, magnesio-desquelatasa y clorofil-oxidasa. Además la eficiencia fotosintética puede ser alterada por la reducción de la superficie foliar, debido al enrollamiento que produce el PRT en la lámina (Reidel, 1989), dentro de estas hojas enrolladas crece protegida la colonia de pulgones (Figura 6b). Cuando la infestación ocurre en estados fenológicos más avanzados pueden atacar la hoja bandera, la cual puede enrollarse tan herméticamente que las espigas de trigo no pueden salir o lo hacen deformadas (Figura 7b) (Zhang, 1990).

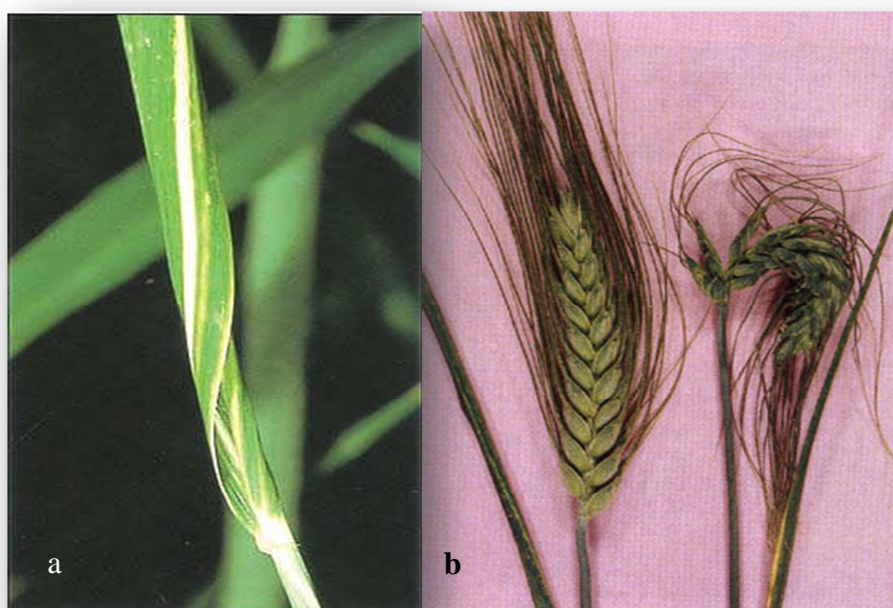


Figura 7: Daños producidos por el PRT: a) Enrollamiento y clorosis foliar. (Fuente: Stern, V. M. 1991); b) Espigas deformadas (Fuente: FAO: <http://www.fao.org/docrep/006/y4011e/y4011e23.jpg>)

Estudios histológicos demuestran, que el primer síntoma del daño se observa en las membranas de los cloroplastos y continúa con la desintegración de los mismos, siguiendo la destrucción de otras organelas. Como resultado, las células se observan vacías y desprovistas de una estructura visible (Macedo et al., 2003). Este tipo de daño se diferencia de los producidos por *S. graminum* y *R. padi*, quienes no destruyen orgánulos celulares (Chi-Yung et al., 1996). *D. noxia* además, puede causar daños de tipo indirecto por la transmisión de virus fitopatógenos como el *Barley Yellow Dwarf Virus*, *Barley Mosaic Virus* y el *Sugarcane Mosaic Virus* (Damsteegt et al., 1992).

El control químico del PRT es dificultoso ya que el mismo se desarrolla protegido dentro de las hojas enrolladas, esto impide la llegada de los insecticidas y de los enemigos naturales como *Eriopis connexa* (Mulsant), *Hippodamia convergens* (Guer.) y *Coccinella ancoralis* (Germ.) (Estakhr & Assad, 2002; Reviriego et al., 2006). Por tal motivo, la estrategia más efectiva y económica para la protección del cultivo de *D. noxia*, es el uso de la resistencia genética (Assad & Dorry, 2001), basada en caracteres hereditarios cuya expresión, aunque se vean influenciada por el ambiente, no está estrictamente bajo el control del entorno. Dicha resistencia es la que hace capaz a la planta de rechazar, tolerar o restablecerse del daño ocasionado por insectos perjudiciales, con relación a otras plantas de la misma especie vegetal, bajo condiciones similares de desarrollo (Kogan, 1975).

A partir del ingreso del PRT en EE.UU. en el año 1986, se desarrollaron en dicho país cultivares de trigo y cebada con distintos genes de resistencia al áfido, que permitieron controlar la plaga de forma exitosa, hasta aparición de *biotipos* capaces de producir daño a los cultivares resistentes en el año 2003. A partir de ese momento, nuevos *biotipos* de *D. noxia* se identificaron en distintos lugares del mundo como Hungría, Sudáfrica, Europa central, Siria y Chile (Basky, 2003; Puterka et al., 1992; Smith et al., 2004, Beyer et al., 2011, El Bouhssini et al., 2011). Painter (1951) definió a los *biotipos* como variedades subespecíficas, morfológicamente indistinta de una especie de insecto, que manifiesta respuestas únicas a huéspedes resistentes genéticamente estables.



Por lo expuesto y dado que:

- *D. noxia* es un áfido en permanente expansión, que daña cultivos de importancia económica mundial como el trigo y la cebada.
- Existen evidencias que ante distintos ambientes, origina poblaciones con diferente grado de agresividad hacia sus hospederos.
- No se han analizado distintas poblaciones del PRT por su composición biotípica.

Se proponen las siguientes hipótesis

## HIPÓTESIS GENERAL

- I) El PRT tiene un comportamiento reproductivo diferencial, que permite la coexistencia de clones holocíclicos y anholocíclicos en las mismas regiones geográficas.
- II) Las poblaciones argentinas de *D. noxia*, tienen variabilidad para caracteres tales como agresividad, crecimiento poblacional y preferencia de hospederas.
- III) La principal componente de la variación en esos caracteres es genética.

Para poder probar estas HIPÓTESIS, se proponen los siguientes objetivos a desarrollar en la presente Tesis Doctoral:

## OBJETIVOS GENERALES

a) Determinar el tipo de reproducción predominante de *D. noxia* en poblaciones de distintos orígenes de Argentina; b) estudiar la capacidad que posee el áfido para seleccionar, crecer y dañar a cultivos de trigo y cebada, portadores de distintas fuentes de resistencia genética; c) comprobar la composición biotípica del Pulgón Ruso del Trigo.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar el tipo de reproducción de clones seleccionados de las poblaciones de distintos orígenes de Argentina, en condiciones naturales de temperatura y fotoperíodo.

- Evaluar la preferencia de los clones de *D. noxia* en trigo y cebada.
- Estudiar el efecto de cultivares diferenciales y fuentes de resistencia sobre los parámetros biológicos y poblacionales (antibiosis) de clones de *D. noxia* en trigo y cebada
- Determinar el nivel de agresividad en los clones seleccionados de *D. noxia*, a través de ensayos de tolerancia en fuentes de resistencia, mediante evaluación del daño que produce sobre el área foliar fotosintetizante, peso seco aéreo y contenido de clorofila total de las hospederas.
- Caracterizar biotípicamente los clones de las poblaciones naturales de *D. noxia*, de acuerdo a los parámetros anteriores.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Afonin, A.N.; S.L. Greene; N.I. Dzyubenko & A.N. Frolov. 2008. Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and Neighboring Countries. Economic Plants and their Diseases, Pests and Weeds.[Online]. Available at: <http://www.agroatlas.ru>. Fecha última revision: 15/12/11.

Anderson, M. & A. K. Bromley.1987. Sensory system. In “Aphids, their biology, natural enemies and control”. In Minks, A.K. y Herrewijn, P., eds. Elsevier, Amserdam. 2A: 153-162.

Assad, M. T. & H. R. Dorry. 2001. Inheritance and allelic relationships of resistance to the Russian wheat aphid in two Iranian wheat lines. *Euphytica* 117: 229-232.

Basky, Z. 2003. Biotypic and pest status differences between Hungarian and South African populations of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Homoptera: Aphididae). *Pest Management Science*. 59:1152-1158.

Baumann, L. & P. Baumann. 1994. Growth kinetics of the endosymbiont *Buchnera aphidicola* in the aphid *Schizaphis graminum*. *Applied Enviromental Microbiology*. 60: 3440-3443.

Bernays, E. A. & R. F. Chapman. 1994. Host-plant selection by phytopagous insects. Chapman & Hall (Ed.) New York, EE.UU. 311 p.

Beyer, B. M., S. D. Haley, N. L. V. Lapitan, J. H. Peng & F. B. Peairs. 2011. Inheritance of Russian wheat aphid resistance from tetraploid wheat accessions during transfer to hexaploid wheat. *Euphytica*.179:247–255.

Blackman, R. L. & V. F. Eastop. 2000. Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. Wiley, Chichester, 466 pp.

Blackman R. L. & V. F. Eastop. 2007. Taxonomic Issues. In: Aphids as Crop Pests. van Emden H. & R. Harrington (eds.). CABI Publishing.pp 1-22.

Blackman, R. L. & V. F. Eastop. 1984. Aphids on the world's crops. An identification guide. Ed. John Wiley and Sons Chichester. 466 pp.

Blackman, R. L. 1971. Variation in the photoperiodic response within natural populations of *Myzus persicae* (Sulz.). *Bulletin of Entomological Research* 60:533-546.

Blackman, R. L. 1972. The inheritance of life-cycle differences in *Myzus persicae* (Sulz.) (Hem., Aphididae). *Bulletin of Entomological Research* 61: 281-294.

Bolsa de Cereales. Informe superficie sembrada de trigo Estimación 2010. Disponible en: <http://www.bolsacereales.com.ar/> Fecha última revisión: 21/11/11.

Buchner, P. 1965. *Endosymbiosis of Animals with Plants Microorganisms*. Eds: Wiley & Sons. New York. 256 pp.

Burd, J. D., D. K. Reed & J. A. Webster. 1989. Plant damage caused by Russian wheat aphid feeding. In: *Proceedings of Russian Wheat Aphid Conference*, Octubre 25-27. 1989. Albuquerque, N. México. pp. 144-145.

Burd, J. D., R. L. Burton & J. A. Webster. 1993. Evaluation of RWA damage on resistant and susceptible host with comparisons of damage rating to quantitative plant measurements. *Environmental Entomology* 21: 1145-1147.

Buchner, P. 1965. *Endosymbiosis of Animals with Plants Microorganisms*. Eds: Wiley & Sons. New York. 256 pp.

Burd, J. D., D. R. Porter, G. J. Puterka, S. D. Haley & F. B. Peairs. 2006. Biotypic variation among North American Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae) Populations. *Journal of Economical Entomology*. 99(5): 1862-1866.

Calzolari, A., O. Polidoro & I. Terrile. 2008. El rendimiento del trigo Argentino en las distintas subregiones trigueras. VII Congreso Nacional de Trigo, V Simposio Nacional de cereales de siembra otoño invernal. I Encuentro del MERCOSUR. Santa Rosa, La Pampa. 2 al 4 de julio de 2008. MF 38.

Castro, F. 2007. Bichos o Insectos. 2007. Disponible en: [http://entomologiab1.blogspot.com/2007\\_04\\_01\\_archive.html](http://entomologiab1.blogspot.com/2007_04_01_archive.html). Fecha última revisión. 15/12/11.

Castro A. M. & C. P. Rumi. 1987. Greenbug damage on the aerial vegetative growth of two barley cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 23(3): 263-271.

Castro A. M., C. P. Rumi & H. O. Arriaga. 1987. Deterioro en la producción de avena susceptible a *Shizaphis graminum* (Rondani) sometidas a un período de infestación y su posterior recuperación. Turrialba 39: 97-105.

Castro A. M., C. P. Rumi & H. O. Arriaga. 1989. Efecto de la infestación de pulgón verde *Shizaphis graminum* en el ritmo de crecimiento de plántulas de sorgo granífero (*Sorghum bicolor*, Moench.). Turrialba 40: 97-105.

Castro A. M., C. P. Rumi & H. O. Arriaga. 1990. Alteraciones en el crecimiento radical de cultivares de sorgo infestados con pulgón verde. Turrialba 41: 166-171.

Chi-Yung L., P. Baumann & N. A. Moran. 1996. The endosymbiont (*Buchnera* sp.) of the aphid *Diuraphis noxia* contains plasmid consisting of trpEG and tandem repeats of trpEG pseudogenes. Applied and Environmental Microbiology pp. 332-339.

Clark, M. A., N. A. Moran, P. Baumann & J. Wernegreen. 2000. Coespeciation between bacterial endosymbionts (*Buchnera*) and recent radiation of aphids (*Uroleucon*) and pitfall of testing for phylogenetic congruence. Evolution 54(2): 517-525.

Clark, M. A., N. A. Moran & P. Baumann. 1999. Sequence evolution in bacterial endosymbionts having extreme base composition. Molecular Biology and Evolution 16: 1586-1598.

Clúa A. A., A. M. Castro, S. Ramos, D. O. Giménez, A. Vasicek, H. O. Chidichimo & A. F. G. Dixon. 2004. The biological characteristics and distribution of the greenbug *Schizaphis graminum* and Russian wheat aphid *Diuraphis noxia* (Hem: Aphididae) in Argentina and Chile. European Journal of Entomology 101: 193-198.

Cooper, W. R., J. W. Dillwith & G. J. Puterka. 2011. Comparisons of salivary proteins from five aphid (Hemiptera: Aphididae) species. Environmental Entomology. 40(1): 151-156.

Damsteegt, V. D., F. E. Gildow, A. D. Hewings & T. W. Carroll. 1992. A clone of the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) as a vector of the Barley Yellow Dwarf, Barley Stripe Mosaic, and Brome Mosaic Viruses. Plant Disease 76(11): 1155-1160.

Dedryver, C. A., J. F. Le Gallic, J. P. Gauthier & J. C. Simon. 1998. Life-cycle of the cereal aphid *Sitobion avenae* F. Polymorphism and comparison of the life history traits associate with sexuality. *Ecological Entomology* 23: 123-132.

Dedryver, C. A., M. Hullé, J. F. Le Gallic, M. C. Caillaud & J. C. Simon. 2001. Coexistence in space and time of sexual and asexual population of the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Oecología* 128: 379-388.

Delmotte, F.; N. Leterme; P. Gauthier; C. Rispe & J. C. Simon. 2002. Genetic architecture of sexual and asexual population of the aphid *Rhopalosiphum padi* based on allozyme and microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11:711-723.

Dixon A. F. G. & D. M. Glen. 1971. Morph determination in the bird cherry-oat aphid, *Ropalosiphon padi* L. *Annals of Applied Biology* 68: 11-21.

Dixon A.F.G. 1998. *Aphid Ecology*. Chapman and Hall,(eds) London, UK. 300 pp.

Dixon, A.F.G, 1987. Parthenogenetic reproduction rate of increase in aphids. In Minks A.M. y P. Harrewijn (eds.), *Aphids: their Biology, Natural Enemies and Control*, World Crop Pest, Elsevier, Amsterdam2A: 269-287.

Douglas, A. E. 1998. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: Aphids and their Symbiotic Bacteria *Buchnera*. *Annual Review of Entomology* 43: 17-37.

Douglas, A. E. & H. F. van Emden. 2007. Nutrition and Symbiosis. In: *Aphids as Crop Pests*. van Emden H. & R. Harrington (eds.). CABI Publishing.pp. 115-135.

Eastop, V. F. & H. F. Van Emden. 1972. *Aphid tecnology*. Academic Press, London. UK. 344 pp.

Eastop, V. F. 1977. Worldwide importance of aphids as virus vectors. In: *Aphids as virus vectors*. Harris K. F. & K. Maramorosch. Academic Press, London. pp. 4-47.

Eastop, V. F. 1983. The biology of the principal aphid virus vectors. En: *Plant Virus Epidemiology*. Eds. R. T. Plumb and J. M. Thresh. Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 115-132.

El Bouhssini, M., K. Street, A. Amri, M. Mackay, F. C. Ogbonnaya, A. Omran, O. Abdalla, M. Baum, A. Dabbous & F. Rihawi. 2011. Sources of resistance in bread wheat to Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) in Syria identified using the Focused Identification of Germplasm Strategy (FIGS). *Plant Breeding*. 130: 96-97.

Estakhr A. & M. Assad. 2002. The allelic relationships among Russian wheat aphid resistance genes in two Iranian wheat lines and know genes. *Journal of Agricultural Science* 138: 281-284.

FAO. 1998. World cereal production – Challenges and opportunities. FAO, 1998.

Forbes, A. R. 1969. The stylets of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Canadian Entomology* 101: 31-41.

Forbes, A. R. 1969. The stylets of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Canadian Entomology* 101: 31-41.

Francki, R. I. B., C. M. Fauquet, D. L. Knudson & F. Brown. 1991. Classification and nomenclature of viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Archives of Virology Suppl.* 2.

Fujimaki, S., Fujiwara T. & Hayashi H. 2000. A new method for direct introduction of chemicals into a single sieve tube of intact rice plants. *Plant Cell Physiol.* 41: 124 – 128.

Fukatsu, T. & H. Ishikawa. 1992. Soldier and male of an eusocial aphid *Colophina arma* lack endosymbiont: implications for physiological and evolutionary interaction between host and symbiont. *Journal Insect Physiology* 38: 1033-1034.

Fukatsu, T., S. Aoki, U. Kurosu & H. Hishikawa. 1994. Phylogeny of Cerataphidini aphid revealed by their symbiotic microorganisms and basic structure of their galls: implications for host-symbiont coevolution and evolution of sterile soldier castes. *Zoological Science* 11: 613-623.

Funks, D. J., L. Helbling, J. J. Wernegreen & N. A. Moran. 2000. Intraespecific phylogenetic congruence among multiple symbiont genomes. *Proceeding of Royal Society of London. B.* 267:2517-2521.



Gorokhova, E., T. E. Dowling, L. J. Weider, T. J. Crease & J. J. Elser. 2002. Functional and ecological significance of rDNA intergeneric spacer variation in a clonal organism under divergent selection for production rate. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B. Biological Sciences.* 269: 2373-2379.

Griffiths G. W. & S. D. Beck. 1974. Intracellular symbiotes in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology* 19: 75-84.

Hales D. F., J. Tomiuk, K. Wormann & P. Sunnucks. 1997. Evolutionary and genetic aspects of aphid biology: A review. *European Journal of Entomology* 94: 1-55.

Harris, K. F. 1983. Sternorrhynchus vectors of plant viruses: Virus-vector interactions and transmission mechanisms. *Advances in Virus Research* 28: 113-139.

Heie, O. E. 1987. Paleontology and phylogeny. En: *Aphids: their biology, natural enemies and control*. Ed: A. K. Minks & P. Harrewijn. *World crop pest Vol. 2*. Elsevier. Amsterdam. pp. 367-391.

Helden, A. J. & A. F. G. Dixon. 2002. Life-cycle variation in the aphid *Sitobion avenae*: cost and benefits of male production. *Ecological Entomology* 27:692-701.

Herbeck, J. T., D. P. Wall & J. J. Wernegreen. 2003. Gene expression level influences amino acid usage, but no codon usage, in the tsetse fly endosymbiont *Wigglesworthia*. *Microbiology* 149: 2585-2596.

Hughes, R. D. & G. F. Maywald. 1990. Forecasting the favourableness of the Australian environment for the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae), and its potential impact on Australian wheat yields. *Bulletin of Entomological Research* 80: 165-175.

Hughes, R. D. 1990. Russian wheat aphid: Will Australia be next?. En: "Aphid plant interactions: Population to Molecules", *Proceedings sponsored by the Division of Agriculture, Oklahoma State University and Agricultural Research Service, USDA. Stillwater, Oklahoma, USA. August 12-17, 1990.* pp. 329.

Humphreys, N. J. 1996. Symbiosis and embryo production in the aphid symbiosis. PhD thesis. Univ. York, United Kingdom. 162 pp.

Johnson, B. 1965. Wing polymorphism in aphids II. Interaction between aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 8: 49–64.

Jones, J., W.J. R. Byers, R. A. Butts & J. L. Harris. 1989. A new pest in Canada: Russian Wheat Aphids *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae). *Canadian Entomologist* 121(7): 623-624.

Kazemi, H. M., P. Talebi-Chaichi, M. R. Shakiba & M. Mashhadi Jafarloo. 2001. Biological responses of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae) to different wheat varieties. *Journal of Agronomical Science and Technology* 3: 249-255.

Kiplagat, O. K. 2005. The Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia* Mord.): Damage on Kenyan wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties and possible control through resistance breeding. Thesis Wageningen University, The Netherlands. –147 pp.

Klingauf F. 1987. Host plant finding and acceptance. In: *Aphids, Their biology, Natural Enemies and Control*. Vol. 2A. A. K. Eds: Minks & P. Harrewijn. Elsevier Sc. Publ. Amsterdam, pp. 209-223.

Kogan, M. 1975. Plant resistance in pest management. En: *Introduction to Insect Pest Management*. Eds: Robert Metcalf & William Luckman. Plenum, New York. pp: 103-142.

Lees, A. D. 1973. Photoperiodic time measurement in the aphid *Megoura viciae*. *Journal of Insect Physiology* 19: 2279-2316.

Lees, A. D. 1987. The behaviour and coupling of the photoreceptor and hour glass photoperiod timer at low temperature in the aphid *Megoura viciae*. *Journal of Insect Physiology* 33: 885-891.

Liú, S. 1994. Production of alatae in response to low temperature in aphids: a trait of seasonal adaptation. En: *Insect life-cycle polymorphism*. Ed: H .V. Danks. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp 245-261.

Loxdale, H. D. & G. H. Lushai. 2003. Rapid changes in clonal lines: the death of a 'sacred cow'. *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 3-16.

Lushai, G. & H. D. Loxdale. 2002. The biological improbability of a clone (mini-review). *Genetical Research* 79: 1-9.

Lushai, G., H. D. Loxdale & J. Allen. 2003. The dynamic clonal genome and its adaptive potential. *Biological Journal of the Linnean Society* 79:193-208.

Macedo, T. B., H. G. Higley, X. Ni & S. S. Quisenberry. 2003. Light activation of Russian wheat aphid-elicited physiological responses in susceptible wheat. *Journal of Economic Entomology* 96(1): 194-201.

Markovitch, S. 1924. The migration of the Aphididae and the appearance of sexual forms as affected by the relative length of daily exposure. *Journal of Agricultural Research* (27): 513-522.

Miles, P.W. 1999. Aphid saliva. *Biology Review*. 74:41-85.

Miller, H., D. R. Porter, J. D. Burd, D. W. Mornhinweg & R. L. Burton. 1994. Physiological effects of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) on resistant and susceptible barley. *Journal of Economic Entomology* 87: 493-499.

Montllor, C. B., A. Maxmen & A. H. Purcell. 2002. Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrtosiphon pisum* under heat stress. *Ecological Entomology* 27: 189-195.

Moran, N. A. 1992. The evolution of aphid lifecycles. *Annual Review of Entomology* 37: 321-348.

Moran, N. A., M. A. Munson, P. Baumann & H. Ishikawa. 1993. A molecular clock in endosymbiotic bacteria is calibrated using the insect hosts. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B. Biological Sciences* 253: 167-173.

Müller, C. B., I. S. Williams & J. Hardie. 2001. The role of nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids. *Ecological Entomology* 26: 330-340.

Munson, A., P. Baumann, M. A. Clark, L. Baumann, N. Moran, D. J. Voegtlin & B. C. Campbell. 1991c. Evidence for the Establishment of aphid-eubacterium endosymbiosis in ancestor of four aphid families. *Journal of Bacteriology*. pp. 6321-6324.

Munson, M. A., P. Baumann & M. G. Kinsey. 1991b. *Buchnera* gen. nov. and *Buchnera aphidicola* sp. nov., a taxon consisting of the mycetocyte-associated, primary endosymbionts of aphids. *International journal of systematic bacteriology* 41: 566-568.

Munson, M. A., P. Baumann, M. A. Clark, L. Baumann & N. A. Moran. 1991a. Evidence for the establishment of aphid-eubacterium endosymbiosis in an ancestor of four aphid families. *Journal of Bacteriology* 173: 6321-6324.

Newton, C. & A. F. G. Dixon. 1988. A preliminary study of variation and inheritance of life-story traits and the occurrence of hybrid vigour in *Sitobion avenae* (F.) (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research* 78: 75:83.

Nieto Nafría, J. M. 1999. Filogenia y posición taxonómica de los "Homópteros" y de sus principales grupos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina*. 26:421-426.

Nikos, I.; Katis, N. I., J. A. Tsitsipis, M. Stevens & G. Powell. 2007. Transmission of Plant Viruses. *Aphids as Crop Pests*. van Emden H. & R. Harrington (eds.). CABI Publishing. pp In: *Aphids as crops pest*. pp. 353-377.

Norambuena M. H. & P. Gerding. 1991. Actual distribución en Chile del áfido ruso del trigo *Diuraphis noxia* Mordvilko (Homoptera: Aphididae). *Agricultura Técnica (Chile)* 51(1): 65-68.

Normark, B. B., O. P. Judson & N. A. Moran. 2003. Genomic signatures of ancient asexual lineages. *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 69-84.

Novotná, J., J. Havelka, P. Starý, P. Koutecký & M. Vítková. 2011. Karyotype analysis of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Hemiptera: Aphididae)

reveals a large X chromosome with rRNA and histone gene families. International Journal of Genetics and Evolution. 10.1007/s10709-011-9546-4.

Oliver, K. M., J. A. Russell, N. A. Moran & M. S. Hunter. 2003. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasp. Proceedings of the National Academy of Sciences 100(4): 1803-1807.

Ortego, J. & M. A. Delfino. 1992. Presencia de *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae) en la Argentina. VIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Paraná, Septiembre 1992. pp. 56.

Ortego, J. & M. A. Delfino. 1994. Presencia de *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae) en la Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 70: 51-55.

Ortego, J. 1990. Bioecología de los áfidos (Homoptera: Aphidoidea) en Malargüe, Mendoza, Argentina y su relación con la epidemiología del virus Y de la papa (raza necrótica). M. Sc. Tesis. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 270 pp.

Ortego, J. 1994. Nuevos conocimientos sobre el Pulgón Ruso del Trigo, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae), en Mendoza, Argentina. Revista de Investigaciones Agropecuarias 25(3): 23-33.

Painter, R.H. 1951. Insect Resistance in Crop Plants. The McMillan Co. New York., 151 pp.

Pirone, T. P. & K. F. Harris. 1977. Nonpersistent transmission of plant viruses by aphids. Annual Review of Phytopathology 15: 55-73.

Ponsen, M. B. 1977. Anatomy of an aphid vector: *Myzus persicae*. En: Aphids as virus vectors. Eds: Harris K. F. & K. Maramorosch. Academic Press, London. pp. 63-82.

Prado, C. E. 1997. Aphid-plant interactions at phloem level, a behavioural study. Ph. D. Thesis Wageningen 111 pp.

Prado, E. & W. F. Tjallingii. 1994. Aphid activities during sieve element punctures. *Entomologia Experimentalis et Applicata*.72: 157-165.

Puterka, G. J, J. D Burd & R. L. Burton. 1992. Biotypic variation in a worldwide collection of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economical Entomology*. 85:1497–1506.

Ramos S., A. Moya & D. Martínez-Torres. 2003. Identification of a gene overexpressed in aphid reared under short photoperiod. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 33: 289-298.

Reidell W. E. 1989. Effects of Russian aphid infestation on barley plant response to drought stress. *Physiologia Plantarum* 77: 587-592.

Reviriego, M. E., L. R. Descamps & A. A. Ferrero. 2006. Fluctuaciones de las poblaciones de *Diuraphis noxia* y sus enemigos naturales en cultivos de trigo en la zona de Bahía Blanca, Argentina. *Agricultura Técnica (Chile)*. 66(4):425-434.

Sandström, J. P. & N. A. Moran. 2001. Amino acid budgets in three aphid species using the same host plant. *Physiological Entomology* 26: 202-211.

Sandström, J. P., J. A. Russell, J. P. White & N. Moran. 2001. Independent origins and horizontal transfer of bacterial symbionts of aphids. *Molecular Ecology* 10: 217-228.

Shigenobu, S., H. Watanabe, M. Hattori, Y. Sakaki & H. Ishikawa. 2000. Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS. *Nature* 407: 81-86.

Shingleton, A. W., G. C. Sisk & D. L. Stern. 2003. Diapause in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) is a slowing but not a cessation of development. *BMC Developmental Biology* 2003 3:7 doi:10.1186/1471-213X-3-7

Simon, J. C., R. L. Blackman & J. F. Le Gallic. 1991. Local variability in the life cycle of the bird-cherry oat aphid *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) in western France. *Bulletin of Entomological Research*. 81: 315-322.

Simon, J. C., C. Rispe & P. Sunnucks. 2002. Ecology and evolution of sex in the aphids. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 34-39.

Simon, J. C., F. Delmonte, C. Rispe & T. Crease. 2003. Phylogenetic relationships between parthenogens and their sexual relatives: the possible routes to parthenogenesis in animals. *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 151-163.

Smith, C. M., T. Belay, C. Stauffer, P. Stary, I. Kubeckova & S. Starkey. 2004. Identification of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) populations virulent to the Dn4 resistance gene. *Journal of Economical Entomology*. 97:1112-1117.

Sörensen, J. T. 1990. Taxonomic position of discrete-state phylogenies: relationships of the aphid subtribes Eulachnina and Schizolachnina (Homoptera: Aphididae: Lachninae). *Annals of Entomological Society of America*. 83:394-408.

Starý, P. 1996. The expansive Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mord.) detected in the Czech Republic. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenchutz, Umweltschutz*. 69: 19-20.

Starý, P., Z. Basky, L. K. Tanigoshi & Z. Tomanovicć. 2003. Distribution and history of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdj.) in the Carpatian Basin (Hom, Aphididae). *Anzeiger für Schädlingskunde, Journal Pest Science* 76: 17-21.

Steel, C. G. H. & A. D. Lees. 1977. The role of neurosecretion in photoperiodic control of polymorphism in the aphid *Megoura viciae*. *Journal of Experimental Biology* 67:117-135.

Stern, V. M. 1991. Controlling Russian wheat aphid in California. *California Agriculture* 45(1):6-8. DOI: 10.3733/ca.v045n01p6.

Strong, D. R., J. H. Lawton & Sir R. Southwood. 1984. *Insect on plants. Community Patterns and Mechanisms*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. Ed: Blackwell Scientific Publications. Great Britain. 313 pp.

Stroyan, H. L. G. 1984. *Aphids-Pterocommatinae and Aphidinae (Aphidini) Homoptera, Aphididae*. Royal Entomological Society of London, London. 232 pp.

Sylvester, E.S. 1989. Viruses transmitted by aphids. In: Minks, A.K. and Harrewijn, P. (eds) *Aphids. Their Biology, Natural Enemies and Control*, Volume 2 C. Elsevier, Amsterdam, pp. 65–87.

Swenson, K. G. 1968. Role of aphids in ecology of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 6:3 51-374.

Tadaka, H. 1981. Inheritance of body colours in *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Applied Entomology and Zoology* 16: 242-246.

Tjallingii, W. F. 1978. Electronic recording of penetration behaviour by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24: 521-530.

Tjallingii, W. F. & T. Hogen Esch. 1993. Fine structure of aphid stylet routes in plant tissues in correlation with EPG signals. *Physiological Entomology*. 18: 317-328.

Tjallingii, W. F. 2006. Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. *Journal of Experimental Botany*. 57(4): 739–745.

Via, S. 1992. Inducing the sexual forms and hatching the eggs of pea aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 65: 119-127.

Wang, T., S. S. Quisenberry, X. Ni & V. Tolmay. 2004a. Aphid (Hemiptera: Aphididae) resistance in wheat near-isogenic lines. *Journal of Economic Entomology* 97(2):646-656.

Ward, L. K., A. Hackshaw & R. T. Clarke. 2003. Do food-plant preferences of modern families of phytophagous insects and mites reflect past evolution with plants?. *Biological Journal of the Linnean Society* 78: 51-58.

Watson, M. A. & H. L. Nixon. 1953. Studies on the feeding of *Myzus persicae* (Sulz.) on radioactive plants. *Annual Applied Biology* 40: 537-545.

Wensler, R. J. 1977. The fine structure of distal receptors on the labium of the aphid *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera). *Cell Tissue Research* 181: 409-422.



Wernegreen, J. J. & N. A. Moran. 2000. Decay of mutualistic potential in aphid endosymbionts through silencing of biosynthetic loci: *Buchnera* of *Diuraphis*. *Proceeding of The Royal Society of London. B.* 267: 1423-1431.

Wernegreen, J. J. & N. A. Moran. 2001. Vertical transmission of biosynthetic plasmid in aphid endosymbionts (*Buchnera*). *Journal of Bacteriology* p 785-790.

Wernegreen, J. J. 2002. Genome evolution in bacterial endosymbionts of insects. *Nature* 3: 850-861.

Wilkinson, T. L. & H. Ishikawa. 1999. The assimilation of nutrients by symbiotic and aposymbiotic pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 195-201.

Williams, I. S. & A. F. G. Dixon. 2007. Life Cycles and Polymorphism. Aphids as Crop Pests. van Emden H. & R. Harrington (eds.).pp. 69-87.

Wilson, A. C. C., P. Sunnuck & D. Hales. 2003. Heritable genetic variation and potential for adaptative evolution in asexual aphids (Aphidoidea). *Biological Journal of the Linnean Society.* 79: 115-135.

Zerené, M. Z., M. D. Gaglevic & I. A. Ramírez. 1987. Un nuevo áfido de los cereales detectado en Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 48: 60-61.

Zhang, G. 1990. Russian wheat aphid (RWA) in China. En: "Aphid Plant Interactions: Populations to Molecules". *Proceedings sponsored by the Division of Agriculture, Oklahoma State University and Agricultural Research Service, USDA. Stillwater, Oklahoma USA. August 12-17, 1990.*p 327.

**CAPÍTULO 1:**  
**COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO**

## INTRODUCCIÓN

La estrategia reproductiva tiene importantes consecuencias en la evolución de los organismos. La reproducción sexual genera y libera diversidad genética por recombinación y esto les permite ser seleccionados en el largo plazo (Guillemaud et al., 2003). En teoría, las líneas con reproducción asexual o partenogénicas, poseen un bajo potencial evolutivo debido a una inexorable acumulación de mutaciones deletéreas que no pueden purificar de su genoma (Simon et al., 2003). Como contrapartida, estos individuos transmiten sus genes más eficientemente. Existen además especies en las que coexisten ambos tipos reproductivos, dentro de las cuales se ubican los áfidos (Guillemaud et al., 2003).

El polifenismo, o la ocurrencia de múltiples fenotipos en individuos genéticamente idénticos, se produce en respuesta a la influencia de distintos factores ambientales con el fin de optimizar su eficiencia reproductiva y performance (Halkett et al., 2004). El polifenismo referido al ciclo de vida se ve afectado en gran medida por el clima (Simon et al., 2002). En su expresión se encuentran involucrados genes estructurales que determinan la construcción de una determinada forma (morfo), y los genes reguladores que son los responsables de los cambios entre las diferentes formas y los más sensibles a los cambios en el ambiente. Así la variabilidad fenotípica es la resultante de la expresión diferencial de los genes de un mismo genotipo (Pigliucci, 1996; Halkett et al., 2004). Numerosos autores estudiaron la influencia del fotoperíodo en el cambio del comportamiento reproductivo y demostraron que la duración de las horas de oscuridad, y la duración del estímulo, en relación a su ontogenia, son factores clave en su determinación (Lees, 1973; Steel & Lees, 1977; Lees, 1987). Según Hales et al., (1997) el disparador del modo reproductivo, es la consecuencia de un conjunto de eventos sensoriales, neuronales y endócrinos que resultan en la expresión de un gen regulador del fenotipo sexual. Ramos y colaboradores (2003) identificaron un gen en el áfido *A. pisum*, cuya expresión se encuentra gobernada por el fotoperíodo.

La frecuencia relativa de los distintos tipos de reproducción, varía geográficamente y esto está determinado fundamentalmente por las diferencias en la rigurosidad del invierno (Newton & Dixon, 1988; Dedryver et al., 2001). Inviernos muy severos pueden causar mortalidad total en poblaciones anholocíclicas, mientras que los huevos son resistentes al frío y su mortalidad es independiente de la severidad invernal (Helden & Dixon, 2002). Cuando se considera algún tipo de variación intraespecífica, se debe

determinar qué proporción se debe a diferencias genéticas dentro de la especie y cuál es la proporción que se le atribuye a la influencia del ambiente o a la interacción entre ambos (genotipo y ambiente).

El PRT es una especie 'monoica', por lo tanto no presenta alternancia de hospederos para realizar su ciclo (Shufrán & Payton, 2009). Según Archer et al. (1998) en Irán el áfido presenta anholociclo, con poblaciones compuestas únicamente por hembras partenogenéticas vivíparas. En el invierno las mismas están constituidas por hembras y ninfas en distintos grados de desarrollo, que sobreviven sobre distintas especies de gramíneas. Hughes & Maywald (1990) aportan datos similares con respecto a la predominancia de los ciclos asexuados, fundamentalmente en zonas con climas cálidos como Sudáfrica, donde el PRT es una plaga persistente. En esas condiciones cada hembra puede producir más de 70 ninfas en 6 semanas. En Argentina, Ortego (1997) halló por primera vez hembras sexuadas, que constituyó además el primer registro para Sudamérica.

Con respecto al comportamiento reproductivo del PRT, se hallaron diferencias en poblaciones de distintos orígenes. Es holocíclico en Hungría y en la Unión Soviética (Basky & Jordaan, 1997), mientras que se comporta como anholocíclico en Sudáfrica (Aalbersberg et al., 1987) y en los Estados Unidos (Kiriak et al., 1990; Sufran & Payton, 2009).

Puterka et al., (1993) determinaron variaciones genéticas y filogenéticas en colecciones del áfido, provenientes de distintos lugares del mundo. Al evaluar las mismas encontraron que muchos clones diferían en el grado de virulencia y en las características del ciclo de vida. El análisis determinó que las poblaciones de EE.UU mostraron una gran similitud con las provenientes de Sudáfrica, México, Francia y Turquía, mientras que las poblaciones que presentaron mayor variabilidad fueron las provenientes de las regiones del sur y del oriente medio de Rusia.

Dado que el modo reproductivo tiene marcada incidencia en el origen de biotipos del áfido - que ponen en riesgo los planes de mejoramiento en la obtención de variedades resistentes - se propone la siguiente hipótesis y objetivo general:

## HIPÓTESIS

El comportamiento reproductivo del Pulgón Ruso del Trigo se encuentra influido por el ambiente y presenta diferentes tipos de reproducción en distintas poblaciones de Argentina. La variabilidad genética producto de la reproducción sexual, le permite a *D. noxia* adaptarse a diversos ambientes.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar el tipo de reproducción predominante de *D. noxia*, en seis poblaciones del áfido provenientes de distintas localidades de Argentina, contrastantes por el uso de la tierra, altitud y condiciones climáticas, expuestas a condiciones ambientales idénticas en La localidad de La Plata.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención de las poblaciones y colonias del PRT

El PRT fue colectado en cereales cultivados y gramíneas silvestres desde el otoño (marzo) al verano (diciembre) del año 2005 (Tabla 1). En total se obtuvieron seis poblaciones en las provincias de Buenos Aires (La Plata, Tres Arroyos y Bahía Blanca), Mendoza (Junín) y Neuquén (Chos Malal y Junín de los Andes).

Cuando el áfido se colectó en trigo y cebada las plantas se encontraban en el estado fenológico de espigazón (GS 10-11, según la escala de Feeks) (Large, 1954), más específicamente en el estado de hoja bandera. Cuando el PRT se obtuvo sobre gramíneas silvestres (*Bromus* sp.), las mismas se encontraban en estado vegetativo (Tabla 1).

Tabla 1. Localidad, provincia, ubicación geográfica, altitud, precipitaciones medias anuales, planta huésped donde se realizó la colecta del áfido y número de clones del PRT que fueron obtenidos y mantenidos por dos años bajo condiciones ambientales naturales, en la localidad de La Plata.

Localidad	Provincia	Ubicación	Altitud msnm	Precipitaciones Anuales(mm)	Planta huésped	Nº clones
<b>TA</b>	Buenos Aires	38° 22' LS; 60° 16' LO	83	700	<i>Hordeum vulgare</i>	10
<b>BB</b>	Buenos Aires	38° 44' LS; 62° 14' LO	99	500	<i>Triticum aestivum</i>	15
<b>JN</b>	Neuquén	39° 56' LS; 71° 05' LO	765	600	<i>Bromus</i> sp	10
<b>CHM</b>	Neuquén	37° 20' LS; 70° 17' LO	864	200	<i>H. vulgare</i>	10
<b>JM</b>	Mendoza	33° 08' LS; 68° 28' LO	666	400	<i>Bromus</i> sp	10
<b>LP</b>	Buenos Aires	34° 54' LS; 57° 55' LO	15	1200	<i>T. aestivum</i>	10

**TA:** Tres Arroyos; **BB:** Bahía Blanca; **JN:** Junín de los Andes Neuquén; **CHM:** Chos Malal; **JM:** Junín Mendoza; **LP:** La Plata; msnm: metros sobre el nivel del mar

La localidad de La Plata (LP) se caracteriza por ser una región de Argentina con un elevado régimen pluviométrico (1200 mm/año) y con inviernos (temperatura media 11 °C) y veranos (temperatura media 20 °C) moderados. La localidad de Tres Arroyos (TA) posee un menor registro pluviométrico (700 mm/año) y una temperatura media de los meses más fríos de 7 °C. Las precipitaciones de la localidad de Bahía Blanca (BB) son de sólo 500 mm/anuales, con una temperatura media invernal similar a la anterior (7,5 °C) pero con una temperatura media estival mayor, de 23,5 °C. Sin embargo, BB posee una diferencia significativa de las temperaturas extremas, con una mínima de -

11,8 °C y una máxima de 43,8 °C. Estas tres localidades se ubican en la región Pampeana.

La localidad de Junín (JM), provincia de Mendoza, se caracteriza por ser una región muy seca con menos de 400 mm/año, y veranos cálidos (temperatura media de 31 °C). La población colectada en Chos Malal (CHM) en la provincia de Neuquén fue la obtenida a mayor altitud (864 msnm). La misma posee una temperatura media invernal de 8 °C, y una estival de 25 °C, constituyendo la región más seca, con sólo 200 mm/anuales de precipitaciones. La localidad de Junín de los Andes, provincia de Neuquén (JN), se caracteriza por poseer una temperatura media invernal de 5 °C, una estival de 25 °C y 600 mm de precipitaciones anuales. Las tres últimas localidades en las cuales se colectó al PRT, son montañosas y se obtuvieron de gramíneas silvestres en hábitats sin disturbio (Tabla 1).

### **Mantenimiento del PRT**

El estudio de la estrategia reproductiva de *D. noxia*, se realizó a través de 10-15 clones o colonias de cada población, constituyendo estos las repeticiones (Tabla 1). Cada colonia fue formada por la descendencia de una única hembra extraída de cada población. Las mismas fueron aisladas del resto por envases individuales con ventilación, a los fines de evitar contaminaciones entre las colonias, las eventuales contaminaciones con otros áfidos y aislarlas de los enemigos naturales (Figura 1). Las colonias y las poblaciones originales fueron mantenidas en una mezcla de trigo (Buck Poncho) y cebada (Maltería Eda) susceptibles. Cuando el 50% de la superficie foliar presentó síntomas de daño del PRT, fueron repuestas por plantas sanas, transfiriendo las ninfas con un pincel de mecha fina.



Figura 1. Tipos de recipientes de crianza protegidos por un cobertor plástico y voile para ventilación. a) Cría de poblaciones del PRT; b) plantas de trigo sin infestación utilizadas para reponer las plantas dañadas por el pulgón; c) colonias (clones) de las poblaciones de PRT sobre las cuales se registró la presencia de formas sexuadas.

Una réplica de cada población se mantuvo en el insectario de la Cátedra de Terapéutica Vegetal, Fac. Cs. Agrs. y Forestales bajo condiciones ambientales controladas ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2$  y 16:8 hs de fotoperíodo), a los fines de mantener las poblaciones originales a lo largo del estudio.

En diciembre de 2005 las colonias se colocaron bajo condiciones ambientales naturales en la ciudad de La Plata ( $34^{\circ} 54' 24''$  LS;  $57^{\circ} 55' 56''$  LO), y se registró semanalmente la presencia de formas sexuadas. La identificación de las hembras ovíparas se realizó en primera instancia con la ayuda de una lupa de mano de 8X, para luego confirmarlo con una lupa estereoscópica de 42X, a través de la observación



del engrosamiento de las tibias del tercer par de patas. En el momento de hallar hembras ovíparas, se transfirieron individualmente a otro recipiente, a los fines de observar si las mismas colocaban huevos y la viabilidad de los mismos. Debido a la dificultad de visualizar a los machos en las colonias, se comprobó indirectamente a través de la viabilidad de los huevos gracias a la confirmación del nacimiento de las hembras fundadoras. Las observaciones se realizaron en forma continua desde el 21 de diciembre de 2005 (inicio del acortamiento de los días) al 21 de diciembre de 2007.

### Procedimiento

Se determinó para cada colonia (clon) la fecha del registro de la primera ovípara (**PO**), el fotoperíodo en el cual se observó la primera ovípara (en horas de luz) (**FPO**); la temperatura media de la fecha de la primera ovípara (**TPO**); la fecha de la última ovípara (**UO**), el fotoperíodo (**FUO**) y temperatura (**TUO**) de la fecha de aparición de la última ovípara. Se registró el porcentaje de colonias partenogenéticas, el porcentaje de colonias con formas sexuadas y la fecha en la cual se detectó la presencia de huevos. Para el cálculo de las horas de luz diarias, se utilizó el instante de **comienzo del crepúsculo civil matutino** en horas y minutos (**CCCM**) y el instante de **fin del crepúsculo civil vespertino** en horas y minutos (**FCCV**), provisto por la Facultad de Ciencias Astronómicas y Geofísicas de la UNLP (De Biasi, 2008).

Se realizó además un análisis de correlación entre la temperatura media y el fotoperíodo, con la fecha de registro de la primera y última ovípara. De manera similar, el número de hembras ovíparas producidas en cada población en el año 2006 y 2007, el número de días hasta el registro de la primer ovípara (desde el 21/12/05 y el 21/12/06 para el año 2006 y 2007 respectivamente), el número de días hasta el pico máximo de producción de ovíparas y del desarrollo de la última ovípara. Cada factor se correlacionó con la temperatura media de los meses más fríos (junio, julio y agosto) y la altitud del lugar de origen de las poblaciones.

Se efectuó un Análisis de la Varianza (ANOVA) de las variables estudiadas y las diferencias fueron comparadas a través del Error Estándar (SAS, 1998).

## RESULTADOS

Del total de colonias evaluadas, la mayor parte de ellas originaron formas sexuadas, existiendo diferencias altamente significativas entre los años y las poblaciones bajo estudio. En el año 2006, del 50% al 70% de las colonias produjeron hembras ovíparas, con un incremento importante en el año 2007 (60% a 100%). En ambos años, el número total de ovíparas originadas por las poblaciones provenientes de gramíneas silvestres (JA Neuquén y JM Mendoza) fue significativamente diferente a las obtenidas de cereales cultivados (E.E,  $P \leq 0.05$ ) (Tabla 2). En ambos años el mayor número de ovíparas, se registró en las colonias de las poblaciones de BB y LP, las cuales fueron originalmente colectadas en trigo. De manera similar, el menor número de ovíparas se registró en las colonias de TA y CHM, que fueron obtenidas de cebada (Tabla 2).

Las primeras ovíparas (PO) se detectaron en abril en el año 2007 y en mayo en el 2006 cuando la longitud del día fue corto, y las últimas hembras ovíparas (UO) se registraron en octubre cuando la longitud del día fue largo (Tabla 2).

En el año 2006, el número de días para el registro de la PO fue significativamente distinto entre las poblaciones de Tres Arroyos y Chos Malal, mientras que en el año 2007, en las colonias de la población Bahía Blanca, el número de días para la aparición de la PO, fue significativamente inferior, diferenciándose de Junín de los Andes, Chos Malal y Junín Mendoza (Tabla 2).

Las poblaciones de PRT colectadas de gramíneas silvestres (*Bromus* sp) como JN y JM, no difirieron en el número de días para la aparición de la PO en los dos años, mientras que las poblaciones que fueron colectadas en cereales cultivados como TA, CHM, LP y BB, requirieron un menor número de días para la aparición de la PO en el año 2007. Por otro lado, no existieron diferencias en el año 2006 en el número de días para la observación de la UO en las colonias provenientes de las poblaciones JN, TA, JM y LP, mientras que en el año 2007 las colonias de JM y CHM se diferenciaron del resto (Tabla 2).

**1. Población Tres Arroyos (TA):** Como se observa en la Tabla 2, durante el año 2006, el 40 % de las colonias de la población TA, se comportaron como partenogenéticas obligadas, mientras que en el resto se observó la presencia de ovíparas (Figura 2) y huevos (Figuras. 3 y 4), comportándose como partenogenéticas facultativas, dado que una pequeña proporción de la colonia dio origen a hembras

sexuadas (ovíparas). La primera ovípara se registró el 19 de mayo, a los 147 días (a partir del 21/12/05). Mientras que la última ovípara se observó el 4 de octubre con 13:25 horas de luz y 16,8 °C de Temperatura Media (TM) a los 285 días (Tabla 2). Los huevos se detectaron el 8 de julio con 10:52 horas de luz y una TM de 11,9 °C.

El inicio y finalización del período en el cual se registraron ovíparas en las colonias de la población TA, se asociaron con duraciones del día (FPO) similares en ambos años (Tabla 2). Las mismas produjeron formas sexuadas desde junio a octubre en el año 2006. En el año 2007, el período fue similar aunque el número de ovíparas producidas fue mayor (Figura 5). Del total, tres colonias se reprodujeron con partenogénesis obligada durante los dos años, mientras que otra, que en el 2006 fue partenogenética obligada en el año 2007 se comportó como facultativa. En el mes de julio del 2007, la producción de ovíparas aumentó diez veces (Figura 5), luego de iniciado el alargamiento de la duración del día a partir del 21 de junio. La producción de ovíparas continuó hasta el 14 de octubre (Tabla 2).

Tabla N° 2: Requerimientos térmicos y fotoperiódicos para la inducción de la formación de ovíparas en las colonias (clones) de PRT provenientes de seis localidades de Argentina en 2006 y 2007

2006	Tres Arroyos	Bahía Blanca	Junín de los Andes	Chos Malal	Junín Mendoza	La Plata	E.E
PF (%)	60	60	70	60	50	60	--
Total ovíparas	17 <sub>r</sub>	63 <sub>b</sub>	55 <sub>c</sub>	23 <sub>e</sub>	40 <sub>d</sub>	89 <sub>a</sub>	1.638
PO	147(19/05)	166 (05/06)	157 (29/05)	168 (09/06)	154 (26/05)	160 (01/06)	7.78
FPO (h)	11:06	10:50	10:55	10:49	10:58	10:53	0.36
TPO(°C)	11.1	10.8	11.1	10.8	11.1	10.8	0.16
UO	285 (10/04)	280 (27/09)	273 (22/09)	276 (19/09)	285 (05/10)	285 (06/10)	5.2
FUO (h)	13:25	13:16	12:59	12:51	13:27	13:30	0.54
TUO (°C)	16.8	16.8	16.8	12.7	16.8	16.8	2.14
Huevos (meses)	Julio	Junio a Octubre	Agosto a Septiembre	Agosto	Julio	Julio a Septiembre	
2007	Tres Arroyos	Bahía Blanca	Junín de los Andes	Chos Malal	Junín Mendoza	La Plata	E.E
PF (%)	70	100	100	70	100	90	--
Total ovíparas	43 <sub>e</sub>	353 <sub>a</sub>	138 <sub>b</sub>	87 <sub>d</sub>	126 <sub>c</sub>	145 <sub>b</sub>	3,29
PO	140 (05/18)	125 (4/27)	158 (30/05)	167 (29/05)	157 (29/05)	138 (08/05)	15.7
FPO (h)	11:08	11:40	10:54	10:55	10:55	11:22	0.54
TPO (°C)	10.3	16.9	10.3	10.3	10.3	10.3	2.14
UO	287 (14/10)	278 (30/09)	280 (30/09)	269 (15/9)	265 (15/09)	296 (14/10)	5.01
FUO (hs)	13:44	13:16	13:16	12:44	12:44	13:44	0.61
TUO (°C)	17	14.7	17	14.7	17	17	3.74
Huevos (meses)	Julio	Junio a Octubre	Agosto a Septiembre	Agosto	Julio	Julio a Septiembre	

\*Letras iguales en la misma fila no difieren estadísticamente.

**PF(%)**: porcentaje de partenogénesis facultativa; **PO**: Número de días hasta que la primera ovípara fue registrada en 2006 y 2007 (entre paréntesis fecha de la primer ovípara); **FPO**: Fotoperíodo cuando la primera ovípara fue registrada (en horas); **TPO**: Temperatura media cuando la primera ovípara fue registrada; **UO**: Número de días hasta que la última ovípara fue registrada en 2006 y 2007 (entre paréntesis fecha de última ovípara); **FUO**: Fotoperíodo de la última ovípara; **TUO**: Temperatura media de la última ovípara registrada; **E:E**: Error estándar.

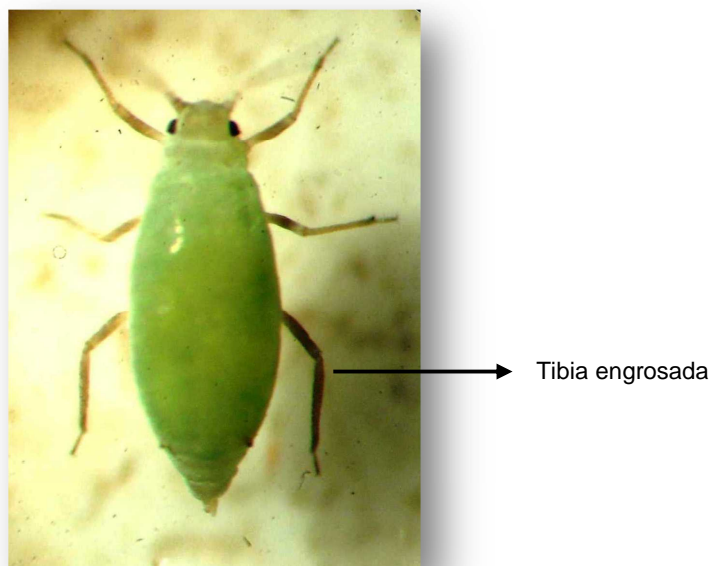


Figura 2: Hembra ovípara caracterizada por el engrosamiento de las tibias del tercer par de patas.



Figura 3: Huevo de *D. noxia*



Figura 4: hembra ovípara de *D. noxia* oviponiendo.

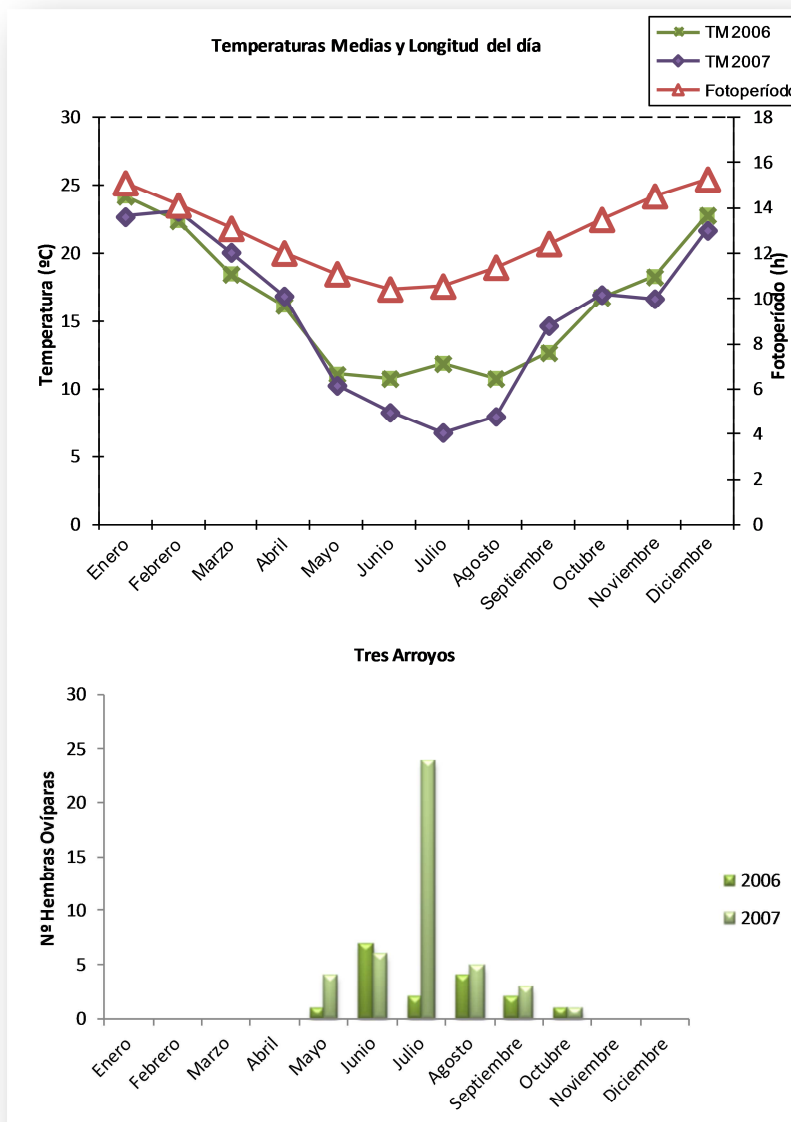


Figura 5. Número de ovíparas producidas por las colonias de La población Tres Arroyos, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata. TM: Temperatura Media

**2. Población Bahía Blanca (BB):** Durante el año 2006, como se observa en la Tabla 2, seis de los 15 clones de la Población BB (60 %) se comportaron como partenogénicas facultativas, mientras que en el año 2007 aumentó al 100 % de los clones.

En cuanto a los requerimientos lumínicos, en el primer año se observaron las primeras ovíparas el 5 de junio (a los 166 días), con 10:50 horas de luz, mientras que en el segundo año se registraron el 27 de abril (a los 125 días) con 11:40 horas. Esta diferencia podría atribuirse a la liberación de variabilidad genética, ya que como puede observarse en la Tabla 3, no existieron diferencias en las temperaturas medias de los meses de marzo a mayo.

Tabla 3: Temperaturas medias mensuales en la localidad de La Plata durante 2006 y 2007.

Meses	TM 2006	TM 2007
Enero	24,2	22,7
Febrero	22,4	23,1
Marzo	18,5	20,1
Abril	16,2	16,9
Mayo	11,1	10,3
Junio	10,8	8,3
Julio	11,9	6,8
Agosto	10,8	8
Septiembre	12,7	14,7
Octubre	16,8	17
Noviembre	18,3	16,7
Diciembre	22,8	21,7

**TM:** Temperatura Media

En los clones de la población BB, se evidenciaron dos picos en la producción de ovíparas en el año 2007. El primero se produjo en julio, mientras que el segundo pico se produjo en el mes de septiembre, con una producción de ovíparas 5,6 veces mayor al año 2006 (Figura 6). Esto podría atribuirse a las menores temperaturas medias

registradas durante los meses de mayo a agosto de 2007 (Tabla 3). La presencia de huevos se observó en ambos años entre junio y octubre; los mismos fueron aislados y observados periódicamente en condiciones de laboratorio, detectando el 13 de septiembre de 2006, el nacimiento de la única hembra fundadora (Figura 7).

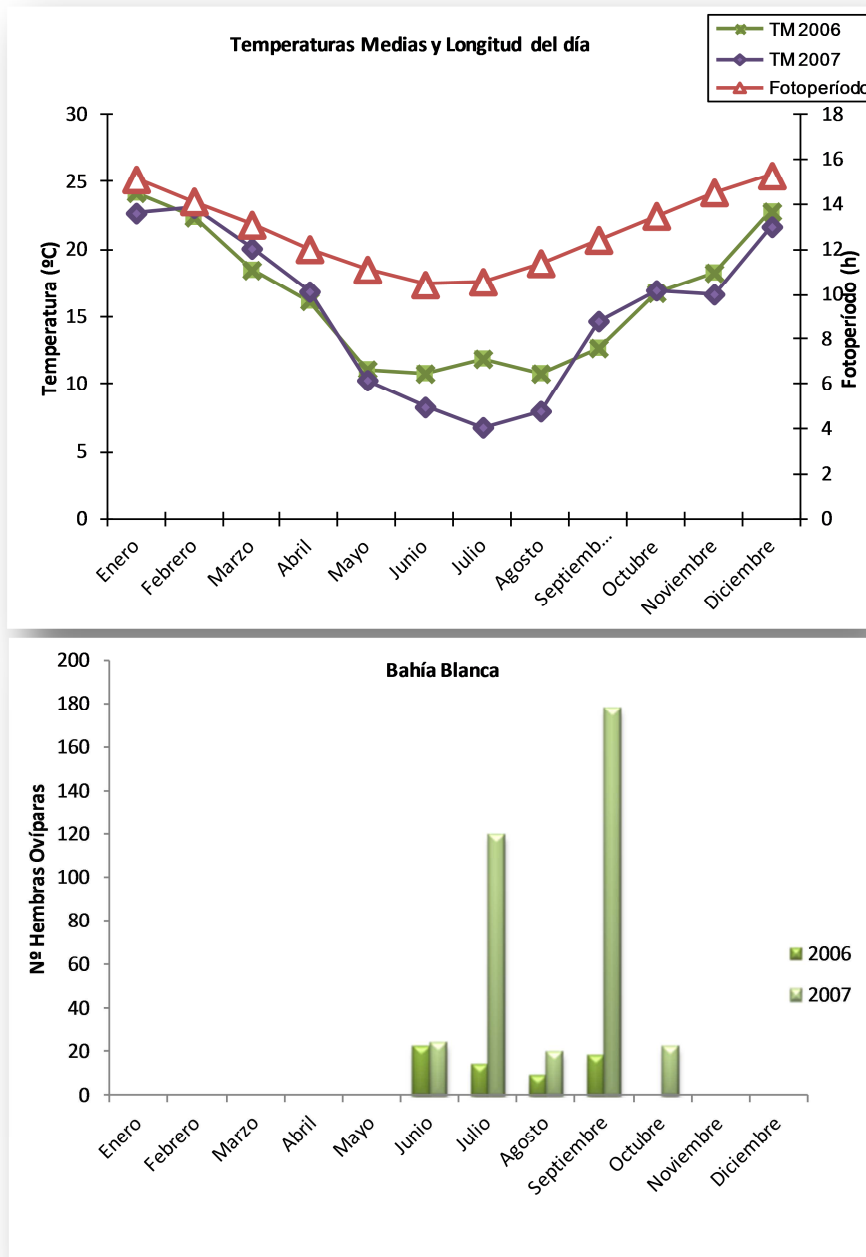


Figura 6. Número de ovíparas producidas por las colonias de La población Bahía Blanca, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata. TM: Temperatura Media



Figura 7. Hembra fundadora obtenida de un huevo del PRT en cautiverio.

**3. Población Junín de los Andes Neuquén (JN):** Durante el año 2006, como se observa en la Tabla 3, el 70% de las colonias de la Población se comportaron como partenogénicas facultativas, mientras que en el año 2007 el 100 % de las colonias presentó esa modalidad reproductiva.

Las primeras ovíparas, tanto en el año 2006 como 2007, se registraron en fechas similares, el 29 y 30 de mayo, a los 156 y 157 días de iniciado el acortamiento de las horas de luz respectivamente. Mientras que el número de días para el registro de la última sexuada fue de 273 y 280 días en el año 2006 y 2007 respectivamente (Tabla 2).

Al igual que en la población BB y en el primer año de la población TA se evidenciaron picos en la producción de ovíparas. En el año 2006 se observó en septiembre, mientras que en el 2007 fue en julio (Figura 8). A pesar de ello, en la población JN se reiteró el mismo comportamiento que en las demás poblaciones, la inducción de ovíparas se produjo tanto con el estímulo del día corto (mes de mayo) como de día largo (meses de julio y de septiembre) (Figura 8) y fueron coincidentes con los menores registros de la temperatura media. La presencia de huevos se detectó en los meses de agosto y septiembre en ambos años.



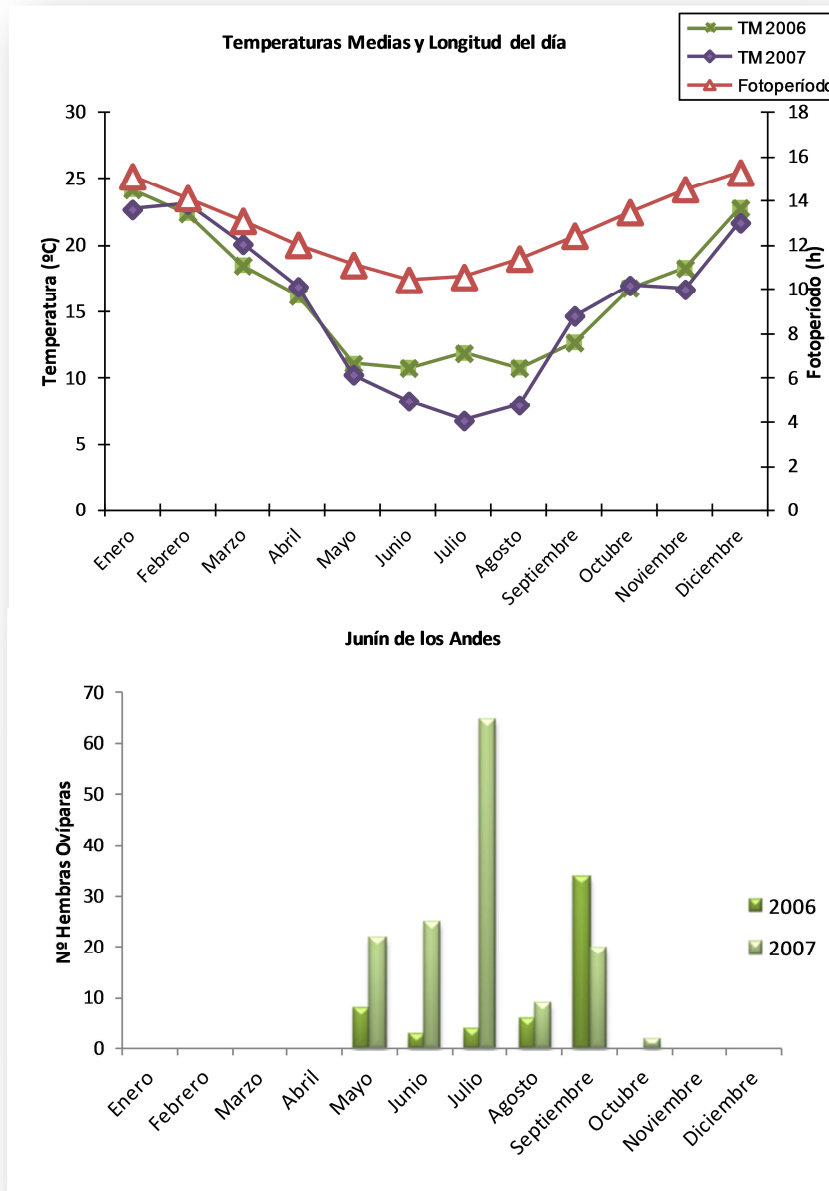


Figura 8. Número de ovíparas producidas por las colonias de La población Junín de los Andes, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata. TM: Temperatura Media.

**4. Población Chos Malal (CHM):** En el año 2006, el 40% de las colonias se comportaron como partenogénicas obligadas, mientras que el resto se reprodujeron por partenogénesis facultativa. En el año 2007 la población **CHM** mostró un comportamiento similar a la Población **TA**, tanto en el porcentaje de clones partenogénicos como en el bajo número de ovíparas en el primer año, 17 y 23 sexuadas respectivamente.

El número de días requeridos para el registro de la primera ovípara, fue la menor en comparación con las otras poblaciones, 102 y 108 días en el año 2006 y 2007 respectivamente. La presencia de huevos se observó en el mes de agosto en ambos años. Al igual que en las poblaciones analizadas anteriormente, la inducción de sexuados se evidenció tanto en condiciones de días cortos como de días largos y además la producción total de ovíparas en el año 2007 aumentó casi 4 veces, como puede observarse en la Figura 9. En el año 2007 la producción de hembras sexuadas fue mayor que en el año anterior observándose en el mes de septiembre un pico en la producción de ovíparas (Figura 9). En ambos años se detectó la presencia de huevos en el mes de agosto.

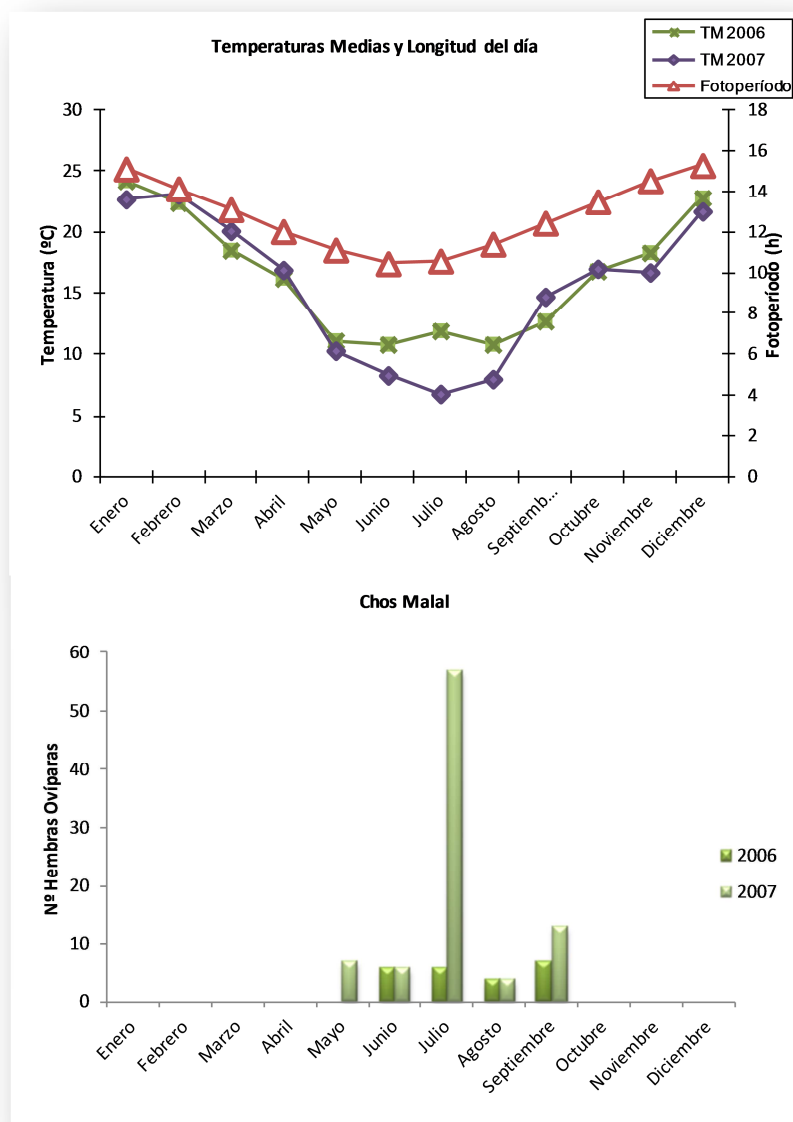


Figura 9. Número de ovíparas producidas por las colonias de la población Chos Malal, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata. TM: Temperatura Media.

**5. Población Junín Mendoza (JM):** Si se la compara con el resto de las poblaciones, fue la que presentó el mayor número de clones con reproducción partenogenética durante el primer año (50%) (Tabla 2). En el segundo año la totalidad de los clones se comportaron como partenogenéticos facultativos, con una producción de ovíparas tres veces mayor (Figura 10). El número de días necesarios para observar la primera hembra sexuada fue similar en ambos años (Tabla 2), mientras que los días para registrados para la última ovípara fueron de 285 (5/10) y 265 días (15/9) en el año 2006 y 2007 respectivamente (Tabla 2). Las mismas se encontraban en estado ninfal, por tal motivo se descarta, que la inducción se produjera con días cortos (antes del 21 de junio) dado que aún eran inmaduras.

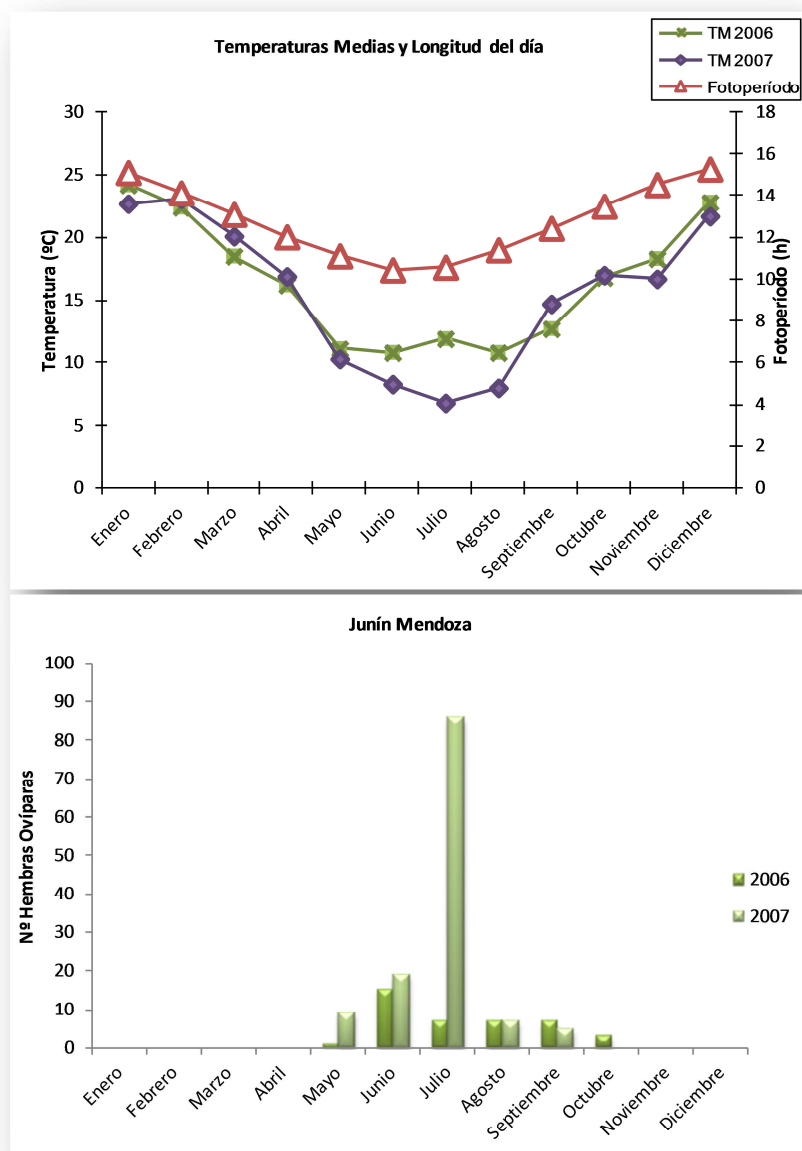


Figura 10. Número de ovíparas producidas por las colonias de la población Junín (Mendoza), en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata. TM: Temperatura Media.

**6. Población La Plata (LP):** Al igual que en la mayoría de las poblaciones analizadas anteriormente, en el año 2006 el 60 % de las colonias de la población **LP** se comportaron como partenogenéticas facultativas, mientras que en el año 2007 aumentó al 90%. La presencia de huevos se registró en ambos años entre los meses de julio y septiembre (Tabla 2).

Los primeros registros de ovíparas se efectuaron en el año 2006 a los 160 días mientras que en el año 2007 se adelantó 22 días (Figura 11), probablemente debido a que la temperatura de mayo de 2007 fue similar a la registrada en junio de 2006. Con respecto al número de días para observar la última ovípara fue 11 días después en el año 2007, a los 296 días (Tabla 2).

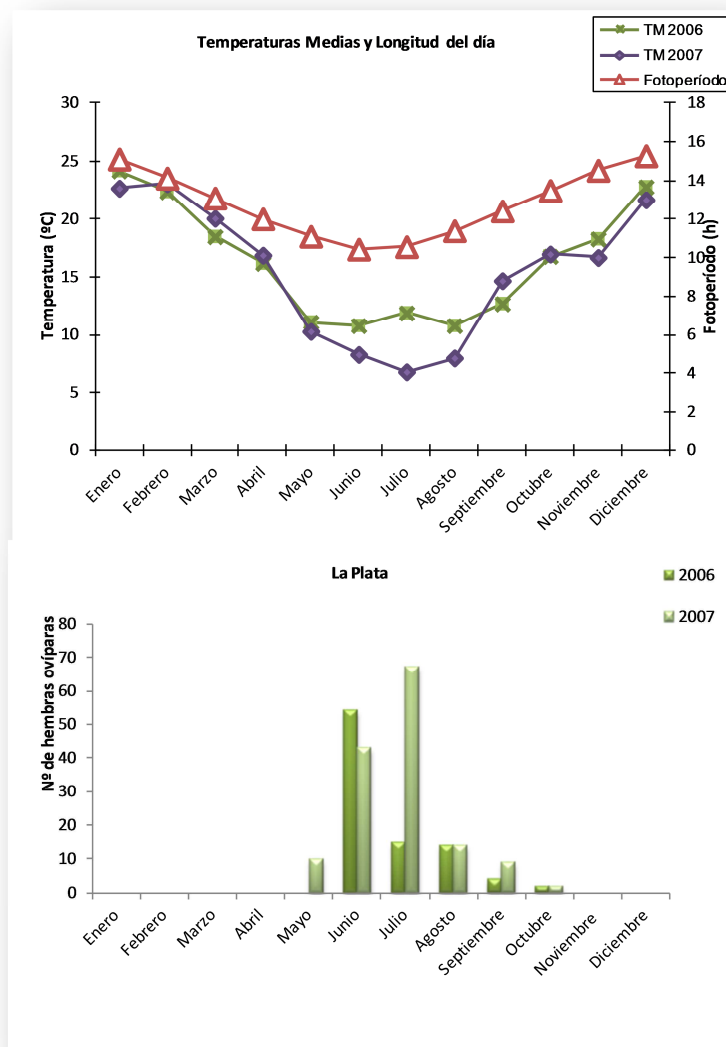


Figura 11. Número de ovíparas producidas por las colonias de la población La Plata, en los dos años de observaciones, según los registros térmicos y el fotoperíodo en la localidad de La Plata. TM: Temperatura Media.

El análisis de correlación evidenció que, la producción de ovíparas en la población TA, se asoció significativamente con la longitud del día en ambos años y con la temperatura en el año 2007 (Tabla 4). Dado que las menores temperaturas se registraron en el segundo año, es probable que haya incidido en la mayor producción de ovíparas (Figura 5).

Las correlaciones en la población BB, fueron significativas tanto con la temperatura como con el fotoperíodo en ambos años (Tabla 4); mientras que en las colonias de JN estuvieron negativamente correlacionadas con la temperatura y el fotoperíodo únicamente en el año 2007 (Tabla 4). Los coeficientes de correlación registrados para las colonias de las poblaciones CHM y JM, tanto para la temperatura como para el fotoperíodo, fueron mayores en el año 2006 que en el 2007 (Tabla 4). En las colonias de la población LP, los mayores coeficientes de correlación se registraron en el año 2007 (Tabla 4).

Tabla 4: Coeficientes de correlación entre el número de días para la aparición de la primera hembra ovípara registrada en las colonias del PRT para las seis localidades, en función de la longitud del fotoperíodo y la temperatura. Entre paréntesis valor de P.

Coeficientes correlación	Tres Arroyos	Bahía Blanca	Junín Neuquén	Chos Malal	Junín Mendoza	La Plata
<b>LF 2006</b>	<b>-0,692</b> (0,006)	<b>-0,650</b> (0,01)	-0,274 (0,19)	<b>-0,646</b> (0,01)	<b>-0,697</b> (0,005)	<b>-0,606</b> (0,01)
<b>LF 2007</b>	<b>-0,632</b> (0,001)	<b>-0,541</b> (0,03)	<b>-0,693</b> (0,006)	<b>-0,530</b> (0,03)	<b>-0,566</b> (0,02)	<b>-0,716</b> (0,004)
<b>TM 2006</b>	<b>-0,540</b> (0,03)	<b>-0,667</b> (0,008)	-0,445 (0,07)	<b>-0,683</b> (0,007)	<b>-0,708</b> (0,004)	<b>-0,538</b> (0,03)
<b>TM 2007</b>	<b>-0,704</b> (0,005)	<b>-0,637</b> (0,01)	<b>-0,727</b> (0,003)	<b>-0,585</b> (0,02)	<b>-0,621</b> (0,01)	<b>-0,763</b> (0,001)

LF: longitud fotoperíodo; TM temperatura media

Por otro lado, la producción de ovíparas en el año 2007 se correlacionó negativamente con la temperatura media de los meses más fríos (junio, julio y agosto) del lugar de origen de las poblaciones ( $r: -0,75$ ;  $P: 0.043$ ). Dicho valor estaría indicando que cuanto menor es la temperatura del lugar de origen, mayor es la producción de hembras

sexuadas. Existió además una correlación negativa significativa entre el número de hembras ovíparas registradas en el año 2007 y el período de tiempo durante el cual se produjeron, es decir, mayor cantidad de ovíparas en menor tiempo ( $r: -0.99$ ,  $P: 0,0001$ ), mientras que no fue significativa en el año 2006 ( $r: -0,70$ ;  $P: 0,06$ ).

El número total de hembras ovíparas producidas en ambos años estuvo significativamente correlacionado ( $r: 0,84$ ,  $P: 0.018$ ), por lo tanto, este rasgo puede ser hereditario. En 2006, el número de días transcurrido antes de la mayor producción de ovíparas, se correlacionó significativamente con la temperatura media del lugar de origen ( $r: -0,81$ ,  $P: 0.025$ ), cuanto menor es la temperatura más largo es el período. Del mismo modo, la altitud del lugar de origen se correlacionó negativamente con el número de días a la aparición de la última ovípara en 2006 ( $r: -0,86$ ,  $P: 0.014$ ) y la primera ovípara en el año 2007 ( $r: -0,93$ ,  $P: 0,0035$ ), cuanto mayor es la altitud menor es la cantidad de días para la aparición de la última y la primera ovípara. La temperatura media del lugar de origen se correlacionó negativa y significativamente con la altitud del lugar de origen ( $r: -0,94$ ,  $p: 0,0026$ ) (Tabla 4).

## DISCUSIÓN

La predominancia de la reproducción sexual en eucariotas es difícil de explicar. Los organismos con reproducción asexual poseen el doble de la capacidad de reproducción, que su contraparte sexual, al evitar la generación de machos que no se pueden reproducir por sí mismos. Sin embargo la reproducción sexual predomina (Maynard Smith, 1971; Delmotte et al., 2002). En general a la reproducción sexual se le atribuyen dos ventajas: (i) generar nuevas combinaciones de genes que permiten la adaptación a cambios ambientales y (ii) eliminar la acumulación de las mutaciones deletéreas (West et al., 1999; Vorburger et al., 2003). Estas ventajas ocurren luego de un largo número de generaciones, mientras que la reproducción asexual provee una inmediata ventaja demográfica. De acuerdo a estas premisas, las poblaciones asexuadas sufrirían un deterioro en su eficiencia por la acumulación de mutaciones o por la incapacidad de adaptarse a cambios ambientales. La pregunta es, por que no son reemplazadas por poblaciones sexuadas antes de sufrir las consecuencias negativas de la herencia clonal. Una respuesta a este interrogante es la coexistencia natural de líneas asexuadas y sexuadas dentro de la misma población (Vorburger, 2003).

La coexistencia de reproducción sexual y asexual dentro de la misma especie es poco común. Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la partenogénesis obligatoria y la facultativa pueden coexistir en las poblaciones Argentinas de PRT. Cuando las colonias provenientes de diferentes localidades fueron trasladadas al mismo lugar, las nuevas condiciones ambientales, indujeron en el áfido diferentes porcentajes de individuos sexuados en ambos años. Resultados similares fueron reportados por Halkett et al., (2006) para *R. padi* (pulgón de la avena), que produjo líneas sexuadas y partenogénicas facultativas que coexistieron en el tiempo y el espacio con líneas asexuadas. Según Blackman (1972), en climas templados, la ocurrencia de holociclo y anholociclo en la misma región, bajo idénticas condiciones ambientales, se debe a la variabilidad genética dentro y entre poblaciones

En Argentina, la duración del día comienza a incrementarse a partir del 21 de junio. En el presente estudio la producción de ovíparas se inició en abril, cuando la duración del día fue corto (11:33 h) y se prolongó hasta octubre en condición de días largos (13:44 h). La presencia de huevos se registró en invierno (Julio-agosto) en tres de las poblaciones (Tres Arroyos, Chos Malal y Junín - Mendoza), mientras que en el resto

de las poblaciones continuó el registro de huevos hasta septiembre/octubre (primavera).

Numerosos autores encontraron en distintas especies de pulgones, diferencias clonales en la producción de formas sexuadas o asexuadas cuando fueron sometidas a idénticas condiciones ambientales (Blackman, 1971; MacKay, 1989; Mittler & Gorder, 1991; Wegorek & Dedryver, 1987; Papura et al, 2003; Vorburget et al, 2003; Vorburget, 2004).

Por otra parte, en los años 2006 y 2007, el número de días para la aparición de la PO, la UO y el pico en la producción de hembras sexuadas, estuvieron fuertemente asociados con la temperatura media y la altitud del lugar de origen de las colonias. Es decir, cuando las colonias de PRT fueron criadas en las mismas condiciones ambientales, las diferencias halladas en el comportamiento reproductivo, reflejan las variaciones en las condiciones ambientales en sus lugares de origen. Por otro lado, la producción de ovíparas se asoció con las plantas huéspedes donde fueron recogidas las poblaciones. En ambos años los áfidos colectados en cebada, fueron los que produjeron la menor cantidad de ovíparas, mientras que las poblaciones obtenidas en trigo fueron las que produjeron una mayor cantidad. Por otra parte en el presente estudio, el PRT se crió de forma continua en el mismo hospedero, mientras que en su estado natural, en el campo, esta especie alterna entre especies silvestres y cultivadas, en busca de una alimento de calidad que asegure su supervivencia. La cría forzada de este áfido en las mismas plantas huéspedes en los dos años, sin alternar con gramíneas silvestres con mejor calidad nutritiva en el verano (Kennedy et al., 1950; Kundu & Dixon, 1995), podría haber inducido la producción de una mayor cantidad de ovíparas como mecanismo de adaptación al nuevo ambiente (temperatura, fotoperíodo y planta huésped).

Algunas poblaciones, fundamentalmente las provenientes de zonas montañosas (Junín Neuquén, Junín Mendoza y Chos Malal) probablemente se comporten como holocíclicas en sus lugares de origen, mientras que otras posean partenogénesis funcional o inclusive partenogénesis obligada, sin embargo todas demostraron poseer la capacidad de reproducirse sexualmente cuando fueron sometidas a un nuevo ambiente, ya que es el mecanismo que les permite adaptarse a los cambios del mismo.



*D. noxia* es un áfido monoico específico de gramíneas invernales, por tal motivo es posible que la plasticidad fenotípica le permita adaptarse a cambios del ambiente, y ajustar su ciclo al de sus hospederos (coevolución). Según Agrawal (2001) cuando los individuos de dos especies interactúan, ellos pueden cambiar sus fenotipos en respuesta a su contraparte, sean antagonistas o mutualistas. Los cambios recíprocos entre especies que interactúan, pueden reflejar una respuesta evolutiva a la variación temporal y espacial de las especies y el resultado de la estructura de la cadena alimentaria. Es posible que el PRT ajuste la producción de sexuales para asegurar la supervivencia de los huevos, y su descendencia, en los momentos en que existe mejor disponibilidad de alimento en cantidad y calidad, de allí la presencia de huevos en primavera.

Estudios realizados sobre el comportamiento reproductivo de *D. noxia* en otras partes del mundo, como en la antigua Unión Soviética, encontraron que más de la mitad de las poblaciones recogidas en Moldavia y Crimea produjeron formas sexuales. En contraste, sólo el nueve por ciento de las poblaciones colectadas cerca de Odesa y Jerson en Ucrania, presentaron reproducción sexual. Por otro lado, en menos del 1% de las colonias obtenidas en EE.UU, en Idaho y Oregon, se registraron ovíparas (Kiriatic et al., 1990). Las poblaciones de *D. noxia* provenientes de Moldavia y que fueran criadas a 20 °C y un fotoperíodo de 8:16 (L: O) produjeron formas sexuales, mientras que las recogidas de Siria, Francia, Turquía, Jordania y Kirguistán no. En este último lugar, se observaron sexuales y huevos a 16 °C y un fotoperíodo de 14:10 (L: O) (Kiriatic et al, 1990), en condiciones similares al presente estudio.

## CONCLUSIONES

La plasticidad fenotípica del PRT le permite al áfido adaptarse a diferentes ambientes y hospederos en la Argentina. Es posible que la selección, actúe sobre el inicio y la extensión de la reproducción sexual, permitiéndole a esta especie sincronizar su ciclo de vida con la disponibilidad potencial de plantas huéspedes, en una amplia gama de localidades que experimentan condiciones ambientales muy diferentes. La reproducción sexual y la partenogénesis facultativa pueden contribuir a la variabilidad genética y la evolución de biotipos nocivos de *D. noxia* en Argentina.

**BIBLIOGRAFÍA**

Aalbersberg, Y. K., M. C. van der Westhuisen & P. H. Hewitt. 1987. Development rate, fecundity and life span of apterae of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae) under controlled conditions. Bulletin of Entomological Research. 77: 629-635.

Agrawal, A. 2001. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. Science. 294:321-326.

Archer, T. L., F. B. Pearis, K. S. Pike, G. D. Johnson & M. Kroening. 1998. Economic injury levels for the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) on winter wheat in several climate zones. Journal Economic Entomology. 91(3): 741-747.

Basky, Z. & J. Jordaan. 1997. Comparison of the development and fecundity of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) in South Africa and Hungary. Journal of Economic Entomology. 90(2): 623-627.

Blackman, R. L. 1971. Variation in the photoperiodic response within natural populations of *Myzus persicae* Sulz. Bulletin of Entomological Research. 60: 533-546.

Blackman, R. L. 1972. The inheritance of life-cycle differences in *Myzus persicae* (Sulz.) (Hom., Aphididae). Bulletin of Entomological Research. 61: 281-294.

De Biasi, M. S. 2008. Efemérides Astronómica. 2008. Disponible en: <http://www.fcaglp.unlp.edu.ar/extension-y-difusion/efemerides-astronomicas/2008/efemerides-astronomicas-2008-sol>. Fecha de última revisión: 14/02/12.

Dedryver, C. A., M. Hullé, J. F. Le Gallic, M. C. Caillaud & J. C. Simon. 2001. Coexistence in space and time of sexual and asexual population of the cereal aphid *Sitobion avenae*. Oecología. 128: 379-388.

Delmotte, F.; N. Leterme; P. Gauthier; C. Rispe and J. C. Simon. 2002. Genetic architecture of sexual and asexual population of the aphid *Rhopalosiphum padi* based on allozyme and microsatellite markers. Molecular Ecology. 11:711-723.

Guillemaud, T.; L. Mieuxet & J. C. Simon. 2003. Spatial and temporal genetic variability in French populations of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Heredity* 91: 143-152.

Hales, D. F., J. Tomiuk, K. Whormann & P. Sunnucks. 1997. Evolutionary and genetics aspect of aphid biology. A review. *European Journal of Entomology*. 94: 1-55.

Halkett, F., P. Kindlmann, M. Plantegenest, P. Sunnucks & J. C. Simon. 2006. Temporal differentiation and spatial coexistence of sexual and facultative asexual lineages of and aphid species at mating sites. *Journal of Evolutionary Biology*. 19(3):809-815.

Halkett, F., R. Harrington, M. Hullé, P. Kindlmann, F. Menu, C. Rispe & M. Plantegenest. 2004. Dynamics of production of sexual forms in aphids: Theoretical and experimental evidence for adaptive “coin-flipping” plasticity. *The American Naturalist*. 163(6): 112-125.

Helden, A. J. & A. F. G. Dixon. 2002. Life-cycle variation in the aphid *Sitobion avenae*: cost and benefits of male production. *Ecological Entomology* 27:692-701.

Hughes, R. D. & G. F. Maywald. 1990. Forecasting the favourableness of the Australian environment for the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae), and its potential impact on Australian wheat yields. *Bulletin of Entomological Research* 80: 165-175.

Kennedy, J.S., A. Ibbotson and C.O. Booth. 1950. The distribution of aphid infestation in relation to leaf age I. *Myzus persicae* (Sulz.) and *Aphis fabae* (Scop.) on spindle trees and sugar beet plants. *Annals of Applied Biology*. 37: 651–679.

Kiriatic, I., F. Gruber, T. Poprawski, S. Halbert & L. Elberson. 1990. Occurrence of sexual morphs of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae), in several locations in the Soviet Union and the northwestern United States. *Proceeding of Entomological Society of Washington*. 92(3): 544-547.

Kundu, R. & A.F.G. Dixon. 1995. Evolution of complex life-cycles. *Journal of Animal Ecology*. 64: 245–255.

- Lees, A. D. 1973. Photoperiodic time measurement in the aphid *Megoura viciae*. *Journal Insect Physiology*. 19: 229-2316.
- Lees, A. D. 1987. The behaviour and coupling of the photoreceptor and hour-glass photoperiod timer at low temperature in the aphid *Megoura viciae*. *Journal Insect Physiology*. 33: 885-891.
- MacKay, P. A. 1989. Clonal variation in sexual morphs production in *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology*. 18:558-562.
- Maynard Smith, J. 1971. What use is sex? *Journal of Theoretical Biology*. 30:319-335.
- Mittler, T. E. & N. K. N. Gorder. 1991. Variation between clones of *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae) in the photoperiodic induction of sexual morphs. *Environmental Entomology*. 20:433-440.
- Newton, C. & A. F. G. Dixon. 1988. A preliminary study of variation and inheritance of life-story traits and the occurrence of hybrid vigour in *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research* 78: 75:83.
- Ortego, J. 1997. Pulgones de la Patagonia Argentina con la descripción de *Aphis intrusa* sp. n. (Homoptera: Aphididae). *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 102(1): 59-79.
- Papura, D., J. C. Simon, F. Halkett, F. Delmotte, J. F. Le Gallic & C. A. Dedryver. 2003. Predominance of sexual reproduction in Romanian populations of the aphid *Sitobion avenae* inferred from phenotypic and genetic structure. *Heredity*. 90: 397-404.
- Pigliucci, M. 1996. How organisms respond to environmental changes: from phenotypes to molecules (and vice versa). *Trends in Ecology and Evolution*. 11:168-173.
- Puterka, G. J., W. C. Black, W. M. Steiner & R. L. Burton. 1993. Genetic variation and phylogenetic relationships among worldwide collection of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko), inferred from allozyme and RAPD-PCR markers. *Heredity* 70: 604-618.

Ramos, S., A. Moya & A. Martínez-Torrez. 2003. Identification of a gene overexpressed in aphids reared under short photoperiod. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 33: 289-298.

SAS, Institute. 1998. SAS/STAT guide for personal computers, version 6.03 Cary NC.

Shufran, K. & T. Payton. 2009. Limited Genetic Variation Within and Between Russian Wheat Aphid (Hemiptera: Aphididae) biotypes in the United States. *Journal of Economic Entomology*. 102(1): 440-445.

Simon, J. C., C. Rispe & P. Sunnucks. 2002. Ecology and evolution of sex in aphids. *Trends in Ecology and Evolution*. 17: 34-39.

Simon, J. C., F. Delmonte, C. Rispe & T. Crease. 2003. Phylogenetic relationships between parthenogens and their sexual relatives: the possible routes to parthenogenesis in animals. *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 151-163.

Steel, C. G. H. & A. D. Lees. 1977. The role of neurosecretion in photoperiodic control of polymorphism in the aphid *Megoura viciae*. *Journal of Experimental Biology* 67:117-135.

Vorburger, C, M. Lancaster & P. Sunnucks. 2003. Environmentally related of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two 'superclones' in Victoria, Australia. *Molecular Ecology*. 12: 3493-3504.

Vorburger, C. 2004. Cold tolerance in obligate and cyclical parthenogens of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Ecological Entomology*. 29(4): 498-505.

Wegorek, P. & C. A. Dedryver. 1987. Action de la temperature et de la photoperiode sur la production de formes sexuées par différents clones du puceron des cereales *Sitobion avenae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 45:89-97.

West, S. A., C. M. Lively & A. F. Read. 1999. A pluralist approach to sex and recombination. *Journal of Evolutionary Biology*. 12:1003-1012.

## CAPÍTULO 2: MECANISMOS DE RESISTENCIA A INSECTOS

---

## INTRODUCCIÓN

La utilización de plantas resistentes a insectos comenzó, en forma empírica, en el siglo XVIII en los Estados Unidos, donde se emplearon variedades de maduración temprana de trigo, para evitar el daño de la mosquita del trigo *Mayetiola destructor* Say. En 1831 fue descubierta la variedad "Winter Majetin", resistente al pulgón lanígero del manzano *Eriosoma lanigerum* Hausman. Pero sin duda, el mayor logro fue la obtención de cepas resistentes a la filoxera *Daktulosphaira vitifoliae* Finch, en vides europeas en el año 1890, utilizando pies americanos resistentes al áfido (Mayoral Canalejas, 1995).

En las primeras décadas del siglo XX el estudio de la resistencia perdió auge, hasta el momento en que Painter publicó su libro "*Insect resistance in crop plants*" en el año 1951, en el que analiza los distintos mecanismos que poseen las plantas para defenderse de sus plagas. En la década de 1960, con la "Revolución Verde", se logró a través de la obtención de variedades de trigo y arroz, la producción estable de alimentos para los países en desarrollo. Sobre el final de la década de 1990 y en el siglo XXI, surge una segunda revolución como resultado de técnicas de manipulación genética. Dichas técnicas y los cultivos transgénicos que se obtienen, provocan sin dudas un gran impacto en el futuro de la producción de alimentos. La Revolución Verde al imponer la producción con empleo de plaguicidas, facilitó el aumento de la susceptibilidad de los cultivos a las plagas. Actualmente un aumento en la producción de alimentos, sólo será posible mediante la introducción de genes de resistencia a los insectos (Dent, 2000).

La resistencia de la planta hospedante puede ser definida como el conjunto de características hereditarias de una especie vegetal, raza, clon o individuo que pueden reducir la posibilidad de utilización de la misma como hospedero por un insecto especie, raza, biotipo o individuo (Dent, 2000).

Según Kogan (1975) la resistencia de las plantas representa la capacidad inherente de las mismas para limitar, retrasar o superar las infestaciones de las plagas y con ello mejorar el rendimiento y/o la calidad del producto de cosecha. El uso de cultivares resistentes representa uno de los métodos más simples y convenientes en el manejo de insectos plaga (Dent, 2000).

El nivel de resistencia, obviamente, dependerá de determinados caracteres morfológicos y bioquímicos utilizados por la planta como mecanismos de defensa,



aunque en última instancia la expresión y la estabilidad de la resistencia dependen del genotipo de la planta, del genotipo de la plaga y de las interacciones genéticas entre ambos (Gallun & Khush, 1980).

Painter (1951) definió la resistencia de plantas a insectos, como la propiedad que capacita a una planta para evitar, tolerar o recuperarse del daño producido por una población de insectos, que causarían un daño mayor a una planta de la misma especie, en las mismas condiciones ambientales. Dicho autor propuso tres categorías generales de la resistencia en las plantas:

- ✓ *No preferencia*: Modifica el comportamiento del insecto para la alimentación y/u oviposición. Se relaciona, generalmente, con atributos morfológicos o físicos. Posteriormente Kogan & Ortman (1978) denominaron a este mecanismo *Antixenosis*.
- ✓ *Antibiosis*: Afecta de forma negativa los procesos metabólicos de los insectos interfiriendo en el crecimiento, la reproducción y/o la supervivencia de los mismos.
- ✓ *Tolerancia*: La planta es capaz de tolerar una población de insectos sin pérdida de su vigor o reducción del rendimiento.

Otro ordenamiento de la resistencia a insectos fue propuesto por Levin (1971):

- ✓ *Defensas constitutivas*: La planta se defiende antes del contacto con el patógeno o plaga.
- ✓ *Defensas inducidas*: La resistencia tiene lugar como consecuencia de la interacción física y/o química entre la planta y el organismo que la ataca.

Posteriormente Kogan & Paxton (1983) definieron a la defensa inducida como el aumento cualitativo y/o cuantitativo de los mecanismos de defensas de las plantas en respuesta a un estímulo externo físico o químico.

Las características que confieren resistencia en las plantas pueden ser morfológicas como la variación del tamaño, color, dureza, grosor de la hoja y pubescencia, entre otros. Existen además las defensas bioquímicas que incluyen tanto los compuestos nutritivos como los aleloquímicos responsables de producir efectos deterrentes de la alimentación y/u oviposición, repelentes o tóxicos. Si bien las barreras morfológicas son importantes, se ha puesto la atención en las defensas químicas, en las cuales juegan un rol importante los metabolitos secundarios de las plantas, que pueden ser constitutivos o no constitutivos (Levin, 1971).

Los productos del metabolismo primario, son comunes a todas las especies vegetales y constituyen un grupo limitado de compuestos, mientras que los secundarios, son específicos de una especie o de una familia botánica, presentando una amplia diversidad de principios químicos (Levin, 1971). Los metabolitos secundarios no se encuentran distribuidos uniformemente en las plantas, se ubican en determinados tejidos, órganos o células diferenciadas, pudiéndose sintetizar en un lugar distinto al de su acumulación (Hashimoto et al., 1987).

Los metabolitos secundarios, constitutivos, se encuentran en plantas sanas y representan la primera barrera química ante el ataque de un insecto (Levin, 1971). Se ha observado que los cultivares de sorgo con elevado contenido de fenoles son más resistentes al ataque de insectos masticadores (Woodhead et al., 1980).

Los metabolitos secundarios, no constitutivos, son aquellos que no están presentes en las plantas sanas, y que son sintetizados a partir del ataque de agentes externos, gracias a las señales originadas en el lugar donde producen el daño y transportadas al lugar de síntesis. Se ha descrito que el ataque de insectos y hongos produce compuestos fenólicos, fitoalexinas y ácidos hidroxámicos, entre otros (Woodhead, 1980). Tanto los metabolitos secundarios constitutivos como los no constitutivos poseen marcada incidencia en los mecanismos de resistencia de las plantas ante el ataque de los artrópodos, en general y de los áfidos en particular.

En los últimos años se produjo un progreso importante en el desarrollo de la resistencia genética de las plantas y en el estudio de las bases genéticas de la interacción áfido-planta. A partir de los mismos se pudo establecer, que el áfido activa señales de defensa en las plantas mediadas fundamentalmente por el ácido salicílico y jasmónico (Smith & Boyko 2007). Los áfidos al realizar exploraciones con el aparato bucal en los tejidos vegetales, pueden ser influenciados por cambios químicos o fisiológicos del floema, inducidos por la saliva acuosa, que por su composición compleja, puede elicitar o inducir señales de defensa en las plantas (Prado & Tjallingii, 1997; Smith & Boyko, 2007).

Se han identificado genes que le confieren resistencia al PRT y al pulgón verde de los cereales en trigo, dichos genes se encuentran en los cromosomas 1 y 7 (Smith et al., 1999; Teetes et al., 1999).

La hipótesis gen-por-gen expuesta por Flor (1971), define en esencia, la resistencia vertical (monogénica u oligogénica), donde por cada gen de resistencia en la planta le corresponde un gen que le confiere virulencia en el patógeno/insecto. La situación inversa se da cuando hay alelos de susceptibilidad que complementan con alelos de avirulencia. En el análisis de la interacción planta-insecto, las plantas poseen genes de resistencia (alelo dominante R) o de susceptibilidad (alelos recesivos rr). Por otro lado, el insecto cuenta con genes de avirulencia que lo imposibilitan para causar daño (alelo dominante **Avr-**) y genes que determinan su virulencia (alelos recesivos **avr avr**). Esto es lo que explica la capacidad de resistencia de la planta, y en ese caso se tiene una relación incompatible. Por el contrario, cuando la planta es infestada, la relación es compatible (Riveros Angarita, 2001).

En la relación incompatible, donde se da una fase de reconocimiento seguida de una etapa de expresión de mecanismos de defensa, entre más rápida y eficiente sea la fase de expresión, se designa la resistencia o tolerancia del hospedante. En base a este concepto Keen (1975) realizó una serie de investigaciones que le permitieron plantear la hipótesis de molécula activadora específica-receptor específico (Figura 1).

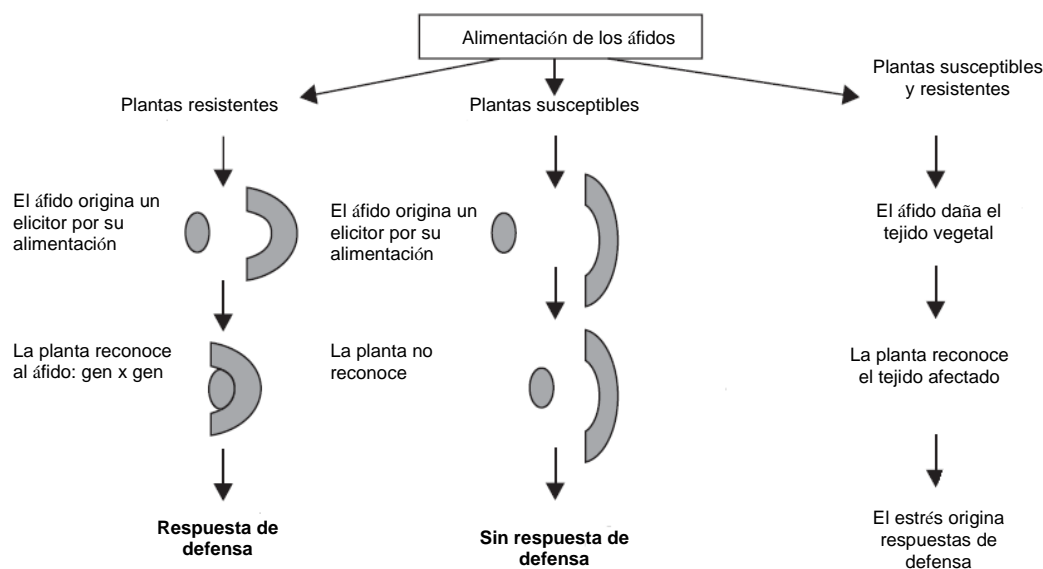


Figura 1. Mecanismos de defensa de las plantas: teoría del gen x gen. Fuente: Smith & Boyko, 2007.

Estas reacciones de defensa han sido caracterizadas ampliamente en el ámbito celular, histológico, bioquímico, enzimático y molecular. Como respuestas pasivas en

la pared celular o en los espacios intercelulares están la lignina, callosa, estratos de corcho o suberina, depósitos de gomas, la cutina, glicosidos fenólicos, fenoles, quinonas, esteroides, terpenoides y proteínas (Riveros Angarita, 2001, Botha et al., 2006).

Entre las respuestas activas, las cuales progresan después de la infección del patógeno o del daño de un insecto, se ha encontrado a las fito-alexinas, las especies activas de oxígeno, la activación del programa de muerte celular (PMC) o reacción hipersensitiva, los radicales libres, los iones calcio, siliconas y silicatos, polifenoloxidasas, peroxidasas, glicoproteínas, callosa, lignina y proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR) como las quitinasas y las  $\beta$ -1,3-glucanasas, entre otras (Riveros Angarita, 2001, Botha et al., 2006; Wu & Baldwing, 2010).

Las proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR), han sido definidas como aquellas que se acumulan en respuesta a la infección, y se pueden localizar tanto en los espacios intercelulares como intracelulares, lo cual las hace básicas o ácidas; sin embargo, principalmente se han encontrado almacenadas en las vacuolas (Yun et al., 1997).

Los genes de resistencia que funcionan según el modelo “gen-por-gen” por lo general pertenecen a una de las cuatro clases generales de los aminoácidos que se encuentran dentro de la proteína y son los miembros de la categoría más grande que codifican proteínas citoplasmáticas, las NBS y LRR (Botha et al., 2006). Las mismas se encuentran en la membrana celular y regulan la respuesta de defensa al PRT, y pueden actuar ya sea como proteínas receptoras o de unión al elicitor (por ejemplo, una toxina/proteína de la saliva del áfido) o como una señal de los elicitores, o ambas. Los resultados también sugieren que el mantenimiento de la maquinaria del cloroplasto es determinante para superar el estrés durante la alimentación del PRT en las variedades resistentes. En el cloroplasto, las ATP sintetasas son fundamentales en dicho mantenimiento a través de la provisión de energía en la célula. Así las variedades resistentes pueden aumentar la tolerancia al estrés por el mantenimiento intacto de la maquinaria fotosintetizante. La activación de las señales en cascada que se traducen en la aparición de la respuesta de defensa, se produce dentro de 1-2 horas luego de la infestación, y la respuesta observada se denomina muerte celular o reacción hipersensible (HR), que es posteriormente visible en forma de lesiones necróticas en las hojas de las plantas resistentes (Figura 2) (Botha et al., 2006, Wu & Baldwing, 2010).

La HR es seguida por una Respuesta Sistémica Adquirida (RSA) que se traduce en una resistencia prolongada. En cambio, en las variedades susceptibles el proceso de reconocimiento no se produce, ya que no son observables las HR. Esto se ve agravado por el retraso de la activación de la RSA. Por lo tanto, la planta susceptible no tiene tiempo para activar los mecanismos adecuados para el mantenimiento de la célula. Esto lleva a la pérdida de producción de energía y a la muerte celular, como resultado de la destrucción de la clorofila y una disminución de la fotosíntesis (Figura 2) (Botha et al., 2006, Wu & Baldwin, 2010).

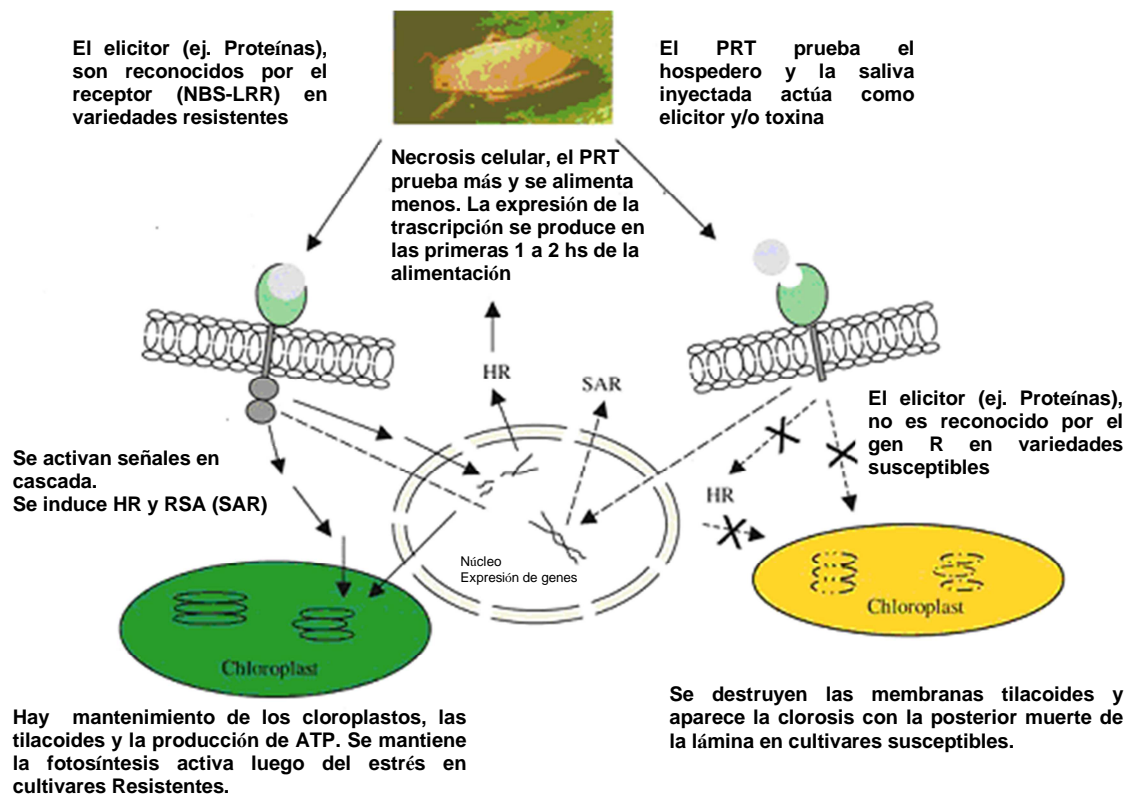


Figura 2. Respuesta hipersensitiva (HR: *Hypersensitive respuest*) y Resistencia Sistémica Adquirida (SAR: Systemic Acquired Resistance). Fuente: Modificado de Botha et al., 2006.

## 2.1. NO PREFERENCIA O ANTIXENOSIS

---

## INTRODUCCIÓN

Dentro de los rasgos más destacados en la ecología de los áfidos, se encuentran su rápida reproducción y su gran adaptación a la fenología, fisiología y bioquímica de la planta hospedante, con el fin último de maximizar la supervivencia y reproducción. Para ello los áfidos han desarrollado mecanismos eficientes para localizar y explotar los recursos de las planta hospedantes. Así utilizan los estímulos necesarios de la planta para la discriminación del rango de hospederos (Pettersson et al., 2007).

Dado que únicamente el 5% de los áfidos son polípagos y el 95% restante se reparten entre los monófagos u oligófagos, se desprende que la mayoría de ellos, han desarrollado mecanismos de selección de sus plantas huéspedes, que les permiten diferenciar entre una planta hospedera de una no hospedera o entre una planta con buena calidad nutricional de una con una pobre calidad (Blackman & Eastop, 1984).

Los áfidos no son considerados buenos voladores, sólo pueden desplazarse gracias a los vientos que se producen a bajas velocidades. Sin embargo, pueden permanecer en el aire durante muchas horas y por lo tanto pueden ser transportados a distancias considerables por los movimientos del aire. Esto ha sido estudiado extensamente en la aplicación de las trampas de succión y explica la capacidad de dispersión que poseen estas plagas (Pettersson et al., 2007).

Entre los estímulos que inciden en la orientación de los pulgones hacia la planta huésped, se encuentra el visual. Al igual que la mayoría de los insectos, el amarillo es el color más atractivo para ellos (Moericke, 1955). Otro mecanismo involucrado en la selección de la planta huésped, es el que responde a los estímulos olfatorios, a través de la detección de las sustancias volátiles de las plantas.

Un factor muy importante en la selección del hospedero, una vez que los áfidos han utilizado algunos de los mecanismos de selección, es la estrategia de aterrizaje. Como la velocidad de vuelo de los áfidos es limitada, las condiciones del viento son restrictivas. Estudios realizados en túneles de viento demuestran que los áfidos pueden alcanzar velocidades de aire de 70 a 75 cm/s. A mayores velocidades los pulgones no pueden avanzar, limitando la dispersión y colonización de nuevos hospederos (Loxdale et al., 1993).

Kennedy et al. (1963a, b) realizaron estudios del comportamiento de despegue y aterrizaje de *M. persicae* (pulgón verde del duraznero), *Aphis fabae* Scopoli y *Brevicoryne brassicae* L. (pulgón del repollo) en condiciones de campo. Ellos observaron que los áfidos aterrizaron tanto en plantas “no huéspedes” como en las plantas vecinas a las plantas huéspedes. Por lo tanto concluyeron que no utilizan las señales olfativas a distancia.

Más adelante, estudios realizados por el mismo autor (Kennedy, 1986), demostraron que el estímulo olfatorio es importante en la localización y discriminación de los hospederos por los pulgones. A través de estudios electrofisiológicos, comprobaron que los áfidos poseen un conjunto de órganos olfatorios en las antenas, que les permiten responder a los estímulos de sustancias volátiles que emiten las plantas huéspedes. Las mismas son metabolitos secundarios característicos de una especie en particular o de una familia botánica (Niemeyer, 1990).

Un ejemplo lo constituye *R. padi* “pulgón de la avena”, sobre el cual se realizaron estudios con olfatómetro. A partir de éstos se pudo comprobar, que las hembras ginóparas y los machos, fueron atraídos por las sustancias volátiles que emitían los brotes de *Prunus padus* L. (en el otoño), que es el huésped leñoso donde completa su ciclo sexuado. Se determinó además, que la sustancia que los atrajo es un benzaldehído producto de la hidrólisis enzimática de la prunasina, un glicósido específico del género *Prunus*. La importancia del olfato en la localización del hospedero por el pulgón de la avena, en lugar del sentido del gusto, quedó evidenciado por la eficiencia del aterrizaje sobre el huésped leñoso, del cual los adultos no se alimentan (Niemeyer, 1990).

Los volátiles o “green odors” pueden provocar además efectos negativos en los áfidos, por ejemplo en el pulgón de la avena, el hospedero invernal *P. padus*, libera al ambiente en la primavera metil salicilato, que lo convierte en “no huésped” del áfido, forzándolo a migrar hacia los cereales que son sus hospederos secundarios (Pickett & Glinwood, 2007). El metil salicilato afecta, además, la localización del huésped secundario, por lo cual su utilización no sólo se restringe a la selección de la planta huésped, sino en su utilización como inductor de defensas en los cereales cultivados (Pickett & Glinwood, 2007).

De manera similar el áfido *Nasonovia ribisnigri* Mosley, cuyo huésped primario es *Ribes nigrum* L., produce en la primavera cis -jasmonato, provocando repelencia



sobre el áfido y su posterior emigración hacia la lechuga, su huésped secundario. El cis - jasmonato al igual que el metil salicilato, actúa como inductor de defensas en plantas sanas y poseen efecto atrayente sobre los enemigos naturales como *Coccinella septempunctata* L. (vaquita predadora) y *Aphidius ervi* Haliday (avispa parasitoide). Esto pone en evidencia, la importancia de los metabolitos secundarios en la interacción tritrófica planta-áfido-enemigo natural (Pickett & Glinwood, 2007).

Los órganos olfativos más importantes, presentes tanto en las ninfas como en adultos, son los sensorios primarios, ubicados en los dos últimos segmentos antenales. Los mismos poseen receptores que les permiten distinguir las sustancias volátiles de las plantas e iniciar la selección de las mismas a través de las “picadas o sondeos de prueba” (Peterson et al., 2007). Les permiten además detectar en el ambiente feromonas de alarma como el  $\beta$ -farneseno, que alerta a la colonia ante un posible peligro, como la presencia de enemigos naturales (Niemeyer, 1990).

Los adultos alados, son los individuos más móviles en una población de áfidos y poseen además de los sensorios primarios, los secundarios, predominantemente en el tercer segmento antenal. En la mayoría de las especies, los sensorios secundarios son menos numerosos, menos desarrollados o ausentes en los individuos adultos ápteros. Esto podría atribuirse a la función prevista de la hembra áptera que es el desarrollo y la reproducción cerca del lugar de nacimiento. Por el contrario, las formas aladas están más adaptadas para la movilidad y la colonización de nuevas plantas (Pettersson et al., 2007). Sin embargo, estudios realizados con olfatómetro por Hori (1999), determinaron que las formas ápteras fueron capaces de responder a las corrientes de aire que transportaban los olores de las plantas huéspedes y no-huéspedes.

Luego del aterrizaje, el comportamiento de los áfidos se ve afectado por la morfología y las características químicas de la planta. Además de la cantidad y calidad de alimento, inciden en la selección del hospedero sus propiedades físicas, como la protección que ofrece la planta a los enemigos naturales y a las condiciones climáticas. Los áfidos presentan geotropismo positivo y fototropismo negativo, prefiriendo el envés de las hojas para alimentarse (Müller, 1984). Por otro lado, la morfología de la planta ofrece un conjunto de obstáculos para la alimentación como los pelos y la cera cuticular (Klingauf et al., 1978; Powell et al., 1999).

Durante el período de la inserción del estilete en los tejidos vegetales, los áfidos tienden a mantener las antenas fijas y relajadas sobre el tórax. Esto se debe a que las

señales químicas que perciben a través de los quimiorreceptores de contacto, encargadas del sentido del gusto, adquieren mayor relevancia que los olores (Hardie et al., 1992). Los mismos se ubican en la unión de los tarsos con la tibia y en el extremo de la antena, mientras que los mecanorreceptores se encuentran en el extremo del labio en el aparato bucal (Tjallingii, 1978; Powell et al., 1995).

Los pulgones al caminar sobre la superficie de la planta, mueven las antenas y tocan la misma con el quimiorreceptor de contacto, a través del cual detectan sustancias químicas no volátiles como los lípidos epicuticulares (Powell et al., 1999).

Antes de la penetración real de la planta, la secreción de saliva acuosa por los estiletes en la superficie de la planta y la posterior ingestión, constituye una fase de prueba o sondeo, que podría explicar la detección de sustancias químicas solubles por los órganos gustatorios faríngeos (Wensler, 1962; 1974). Los áfidos en última instancia, aceptan la planta huésped luego que los estiletes han llegado a la ingestión del floema, pero la discriminación de los químicos internos de la planta, se inicia mucho antes que el floema sea alcanzado (Pettersen et al., 2007). Existe evidencia que algunas especies de áfidos se alimentan de floema y alternativamente de xylema, mientras que otros se alimentan inclusive del parénquima, esto marca la diferencia en el efecto que producen los distintos metabolitos secundarios en los pulgones, dado que los mismos se acumulan en los diferentes tejidos de las plantas (Miles, 1999).

Cuando los estiletes profundizan en los vegetales, detectan diversas señales químicas que pueden estimular o inhibir aún más el sondeo de los tejidos antes de llegar a los elementos del floema. Por ejemplo, la sacarosa es un fago-estimulante por excelencia de los áfidos, se encuentra en el floema de las plantas y en el exudado de los pulgones (Miles, 1999; Tajllingi, 2006). En trigo, se ha demostrado que el ácido hidroxámico (DIMBOA) prolonga las actividades de exploración y acorta los períodos de alimentación de los áfidos, presumiblemente debido a que esta sustancia actúa como deterrente, encontrándose en las células del paquete vascular (Givovich & Niemeyer, 1991; Givovich et al., 1994).

## HIPÓTESIS

En las líneas recombinantes dihaploides provenientes del cruzamiento entre los cultivares “Tirintella” y “Pico” en trigo, y de “Angola” y “SW264” en cebada, existen genotipos que producen efecto de no preferencia en el áfido *D. noxia* afectando la selección de dichas hospederas.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar la preferencia de las poblaciones de *D. noxia* en las líneas Doble Haploide Recombinantes de trigo y cebada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. a. Material Vegetal:

#### *Trigo (T. aestivum)*

Para evaluar la *no preferencia* de las poblaciones Argentinas de *D. noxia*, se utilizaron 93 líneas recombinantes dihaploides (DHR) y ambos padres. Las mismas se desarrollaron a partir de la F1 resultante del cruzamiento entre dos cultivares contrastantes por su tolerancia a pulgón ruso “Tirintella” (susceptible) y “Pico” (tolerante). Dicho procedimiento se realizó en el John Innes Center por el Dr. John Snape. Las plantas F1 obtenidas se polinizaron con polen de maíz, para recuperar el embrión haploide a los diez días y hacerlo crecer en medio de cultivo, siendo trasladado al suelo al mes. En pleno macollaje, se les aplicó colchicina por raíz para dihaploidizarlos (Ellerbrok et al, 1999). La selección de los progenitores (contrastantes por su nivel de resistencia a *S. graminum* y *D. noxia*) se realizó en la Cátedra de Genética (Fac. Cs. Agrarias y Forestales) durante el año 2006 (Ferraris, 2006).

#### *Cebada (H. vulgare)*

Para evaluar la *no preferencia o antixenosis* de las poblaciones Argentinas de *D. noxia*, se emplearon 20 líneas recombinantes dihaploides (DHR) contrastantes por su resistencia al áfido y ambos progenitores. Estas líneas fueron seleccionadas en la Cátedra de Genética (Tocho et al., 2004). El desarrollo de las mismas fue similar al descrito para trigo, a partir de la F1 resultante del cruzamiento entre las cultivares SW624 x Angola, obtenidas en el IPK de Gettersleben, Alemania por el Dr. Andreas Börner. En este caso la obtención de las DHR se realizó con polen de *H. bulbosum* L.

### 2.1. b. Población de áfidos

Dado que todas las poblaciones estudiadas en esta Tesis tuvieron un comportamiento reproductivo similar, no hallándose ninguna exclusivamente partenogenética u holocíclica, se emplearon los mismos áfidos en todos los ensayos (no preferencia, antibiosis, tolerancia y composición biotípica). Se realizó una mezcla de todos los clones y poblaciones evaluados en los estudios del comportamiento reproductivo. La población mixta fue mantenida en idénticas condiciones que las poblaciones y clones estudiados con antelación.

### 2.1. c. Ensayo de No Preferencia (antixenosis)

Los ensayos se realizaron de manera independiente, uno para trigo y otro para cebada. Para ello, se procedió a realizar un pre-germinado de las semillas de cada línea y ambos progenitores, durante 24 hs. Luego se trasplantaron a envases plásticos (viales) con tierra y se regaron abundantemente. Cuando se verificó que la segunda hoja estaba expandida (15 a 20 cm de longitud), se realizó la prueba de libre selección de hospederas, colocando en un círculo una hoja de cada una de las plantas ofrecidas (Figura 3). Los insectos se liberaron en el centro de ese círculo, a razón de cinco por cada DHR, protegiendo el conjunto con una tapa de caja de Petri (30 cm de diámetro), tapando todo el sistema con una tela negra, para evitar el efecto de la luz en la selección de las plantas. En cada círculo se colocó al azar una planta de cada genotipo, para neutralizar el efecto de posición en la selección (Pettersson, 1996; Castro et al., 1999). A las 24 horas se realizó el recuento del número de insectos presentes en cada DHR. El ensayo se repitió 10 veces en cada uno de los cereales. Los datos se transformaron en raíz cuadrada para su análisis estadístico. Se promediaron los resultados de las repeticiones de cada genotipo para graficar la variabilidad de las DHR.



Figura 3: Distribución de las DHR en círculo y liberación de los pulgones en el centro del mismo para la prueba de libre selección de hospederas.

### 2. 1. d. Análisis estadístico

Se aplicó un diseño estadístico totalmente al azar. Se verificaron los supuestos del Análisis de la Varianza a través del test de Wilk-Shapiro, y Levene (InfoStat 2008). A los fines de normalizar los resultados obtenidos se aplicó raíz cuadrada al número de pulgones por planta, para luego ser analizados mediante ANOVA con el PROC GLM

(SAS 1998) y el Test de Tukey, para determinar las diferencias entre medias. Según el siguiente modelo:

$$Y = G_i + E_{n(ijk)}$$

G= genotipos      E= error

## RESULTADOS

Al evaluar el comportamiento del PRT en la libre selección de las líneas DHR de trigo y cebada, se comprobó que el áfido presentó una conducta diferencial en ambos cereales. Como se observa en la Tabla 1, se registraron diferencias significativas entre las líneas de trigo ( $p < 0,01$ ) en la libre selección de hospederas de *D. noxia*, mientras que no se observaron diferencias en la preferencia por las líneas de cebada al PRT.

Tabla 1: Cuadrados medios de la raíz cuadrada del número de PRT en las líneas recombinantes dihaploides de Trigo y cebada. \*\*  $p < 0,001$ ; ns: no significativo  $p > 0,05$

<b>Líneas Recombinantes Dihaploides de Trigo</b>				
	<b>gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Genotipo	92	2,10	1,42	0.0042**
Error	980	1,47		
<b>Líneas Recombinantes Dihaploides de Cebada</b>				
Genotipo	19	0,68	0,68	0,82 ns
Error	39	0,99		

### Trigo

De las 95 líneas evaluadas de trigo (93 DHR y dos progenitores), que fueron sometidas al estudio de no preferencia del PRT, como se observa en la Figura 4, la mayoría de las mismas fueron seleccionadas por el áfido, comportándose de manera similar a la media. Entre ambos progenitores no se observaron diferencias significativas, mostrando rasgos de *antixenosis* para el PRT, con una herencia transgresiva negativa, ya que la mayoría de las DHR fueron más preferidas que los padres. Se destacan 10 líneas, que presentaron menos de tres pulgones por planta con un comportamiento antixenótico para el PRT.

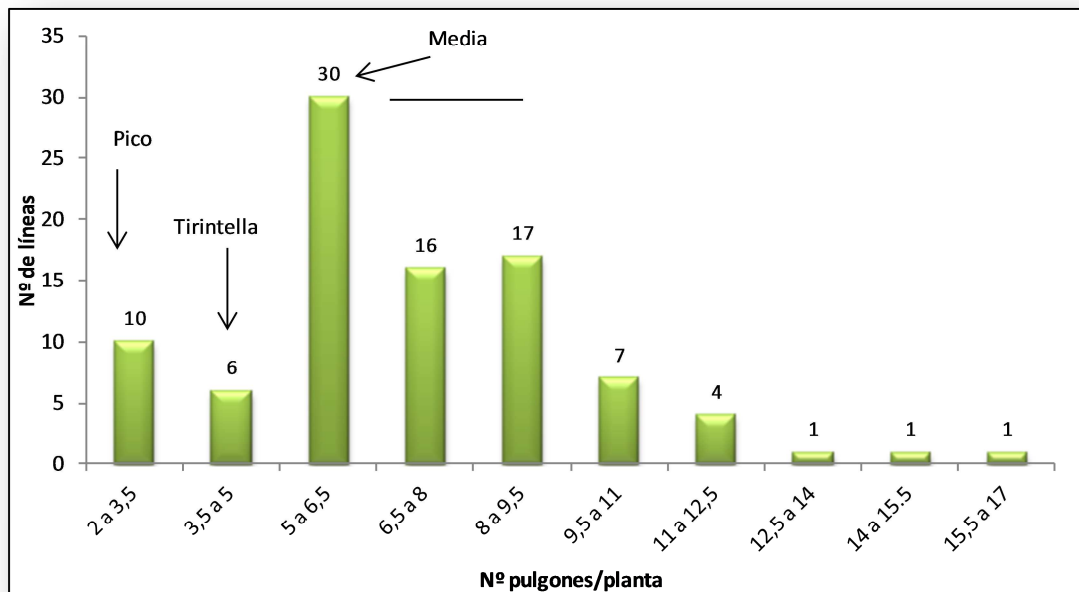


Figura 4: Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para la raíz cuadrada del número de pulgones por planta de trigo. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

### Cebada

Cuando se evaluó el comportamiento de libre selección de hospederas del PRT, frente a las 22 líneas de cebada (20 líneas DHR y dos progenitores), el áfido mostró una conducta similar en la totalidad de las mismas, razón por la que no se observaron diferencias significativas (Tabla 1).



---

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que a pesar de encontrar en las líneas de trigo diferencias estadísticamente significativas, la mayoría de las líneas se comportaron como los progenitores, existiendo sólo 14 genotipos que carecieron de este mecanismo de resistencia.

Estudios realizados por Ni et al., (1998), en los que evaluaron el efecto de la cera epicuticular de variedades de trigo, cebada y avena en la libre selección de *D. noxia*, encontraron que las dos variedades de trigo (Arapahoe – susceptible - y Halt resistente al PRT) poseen la misma distribución de la cera cuticular y la misma composición química. Los autores concluyeron que no existieron diferencias en la selección de los cuatro cereales por el PRT, aún luego de remover la cera con éter etílico, por lo cual, no podría atribuirse al contenido y/o composición de la cera epicuticular el efecto en la selección de dichos hospederos.

Estudios posteriores realizados por Wang et al., (2008), donde se evaluaron los contenidos de la cera cuticular de 16 variedades de trigo con diferente grado de resistencia a áfidos y en distintos estados fenológicos, encontraron que la misma está compuesta por 30 sustancias, entre ellas 10 ácidos grasos, 9 alcanos, 7 alcoholes grasos, 2 aldehídos y 2 dicetonas. Al comparar las diferencias en la composición de la cera cuticular entre los cultivares susceptibles y resistentes, no encontraron diferencias, aunque sí entre las variedades en conjunto. Dichos autores hallaron que hubo una tendencia en el incremento de los alcoholes grasos, ácidos grasos y aldehídos con el incremento en la resistencia a pulgones evaluados en distintos estados del crecimiento. Por ejemplo, en el período de germinado del trigo hubo un incremento en el contenido de octacosanol, triacontanol y de alcoholes totales en las variedades resistentes, mientras que en el estado de plántula, las variedades resistentes evidenciaron un incremento en los contenidos de octacosanol, ácido octadecanoico, ácido oleico, hexacosanal y octacosanal.

Algunos autores han considerado que un nivel de preferencia de 1-3 áfidos por planta indicaría alta antixenosis en trigo (Castro et al., 1999; 2001, Saldúa & Castro, 2011), valor que fuera obtenido en el presente trabajo.

Estudios realizados por Bianchi et al., 2011, encontraron en la variedad de trigo blando Chinese Spring (susceptible), que las ceras cuticulares están compuestas por distintos

componentes lipídicos como los n-alcanos, ésteres, aldehídos, alcoholes libres,  $\beta$  -dicetonas e hidroxí-  $\beta$  -dicetonas. Las líneas ditelosómicas 7AL y 7DS mostraron una disminución drástica en la cantidad de  $\beta$  -dicetonas e hidroxí  $\beta$  -dicetonas. Así este estudio ha proporcionado nuevas pruebas del papel de los genes en la determinación de los compuestos que conforman la cera cuticular. Por otro lado Havlickova (1993), encontró que elevados contenidos de dicetonas en algunas variedades de trigo estimularon la atracción del áfido *S. avenae*.

La diversidad y la variabilidad de los compuestos hallados en la cera cuticular de las variedades de trigo estudiadas por Wang et al., (2008), como así también el componente genético en la constitución de la misma (Bianchi et al., 2011), podrían explicar, en parte, las diferencias encontradas en el comportamiento del PRT frente a las líneas DHR de trigo evaluadas en el presente estudio, ya que se hallaron diferencias significativas, con una gran amplitud en la selección de las hospederas por el PRT.

Con respecto a la pubescencia foliar, estudios realizados sobre seis variedades resistentes de trigo hexaploide sintéticos, provenientes del cruzamiento de *Triticum dicoccum* Schrank y *Aegilops tauschii* (Coss.) Schmal, encontraron que los mismos presentaron un comportamiento antixenótico frente al PRT, en comparación con la variedad susceptible Seri M82, atribuida a una mayor pilosidad de las hojas en las variedades resistentes (Lage et al., 2004). En el mismo trabajo comprobaron además, que existió variabilidad en el comportamiento del áfido frente a las variedades resistentes, de manera similar a lo ocurrido con *D. noxia* en el presente estudio.

Por otro lado, de acuerdo a los resultados sobre la preferencia del PRT en las DHR de cebada evaluadas, son coincidentes con los obtenidos por Salas et al., (1991). En el mismo estudiaron el comportamiento alimentario de dos áfidos: *R. padi* y *D. noxia* en dos variedades de cebada, una con gramina y otra sin el compuesto. La gramina es un alcaloide indólico, presente en la epidermis y en el parénquima de la cebada, que disminuye la actividad alimentaria actuando como deterrente de los áfidos. En el caso de *D. noxia* no se encontraron diferencias entre los dos cultivares probados debido a que el PRT se alimenta principalmente del floema donde no se encuentra el alcaloide. Mientras que para *R. padi* la variedad con gramina disminuyó la duración de los sondeos de los tejidos, actuando la gramina como un antialimentario, ya que dicho compuesto se encuentra en el parénquima, lugar donde el áfido se alimenta en mayor

medida. Estos resultados sugieren que, debido a que las conductas alimentarias difieren entre los distintos áfidos, los mecanismos de resistencia basados en metabolitos secundarios en las distintas hospederas, afectarán diferencialmente a distintas especies de pulgones. Su utilización, en el caso de la no preferencia, permitiría encontrar una barrera importante para aquellos áfidos vectores de virus como *D. noxia*.

Por otro lado, estudios realizados sobre el comportamiento de agregación de los áfidos, determinaron que el mismo influye en la selección de los hospederos. Según Patterson (1998) en el áfido *Aphis craccivora*, las hembras migrantes fueron atraídas más que por los alleloquímicos, por las feromonas de agregación de las hembras colonizadoras tanto aladas como ápteras, marcando el rumbo de las posteriores colonizaciones. Según Petterson (1993), el pulgón de la avena *R. padi*, una vez realizada la colonización del hospedero y cuando el umbral de la densidad poblacional se ha superado, produce señales olorosas que actúan como repelentes para otras hembras ápteras de la misma especie. Esta estrategia permite disminuir la competencia cuando la planta huésped está decayendo en calidad como consecuencia del aumento de la población de áfidos. Este comportamiento podría explicar la variabilidad de los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que podría atribuirse no sólo a la atracción o rechazo por parte del PRT hacia una DHR de trigo o cebada, sino a la comunicación intraespecífica mediada a través de feromonas específicas del áfido.

## 2.2. ANTIBIOSIS

---

## INTRODUCCIÓN

Según Painter (1951) este tipo de resistencia se produce cuando, al alimentarse normalmente un insecto de la planta huésped, ella ejerce un efecto adverso sobre la biología del mismo. De esta forma, una planta resistente por antibiosis, afecta directa o indirectamente el potencial reproductivo del insecto, la duración de su ciclo inmaduro, la mortalidad (o supervivencia) de las formas jóvenes, reducción en el tamaño y peso del individuo, reducción de fecundidad, alteración de las proporciones sexuales, alteración en el tiempo de vida (Lara, 1991). La mortalidad de las formas jóvenes criadas sobre plantas resistentes, son observadas durante los primeros momentos de vida del insecto, siendo uno de los parámetros más característicos de ocurrencia de antibiosis junto con la reducción de tamaño y del peso. Los individuos criados en plantas susceptibles tendrán un mejor desarrollo, presentando un peso mayor que aquellos criados en plantas resistentes (Lara, 1991).

El efecto adverso que ejerce la planta sobre la biología del insecto, puede atribuirse a la presencia de sustancias tóxicas o inhibitoras del desarrollo, denominadas **antibióticas**, o a cualquier desbalance nutricional o a la ausencia de nutrientes esenciales (Lara, 1991). Los ácidos hidroxámicos (Hx) presentes en los cereales, principalmente en el trigo, tienen características antibióticas ante los áfidos. Esto fue demostrado en varios ensayos en los cuales se encontró una correlación inversa entre los niveles de Hx, las tasas de incremento poblacional y las tasas medias de crecimiento relativo de varias especies de áfidos, entre ellos *S.graminum* y *D. noxia* (Argandoña et al., 1980; 1981; Corcuera et al., 1985). Los áfidos alimentados sobre trigos con altos niveles de Hx, demoraron más tiempo en alcanzar el floema (Ramírez et al., 1999) y sólo un pequeño número de áfidos lograron alimentarse en forma sostenida (Givovich & Niemeyer, 1995; 1996).

El conocimiento de la biología y el potencial de crecimiento de una población de insectos plaga, resultan cruciales para el estudio de su dinámica y para establecer tácticas de manejo (Rabinovich, 1980).

El estudio de la antibiosis utiliza parámetros biológicos y poblacionales de los áfidos como la fecundidad potencial, que es una medida de la reproducción posible de un áfido, por ejemplo, el número de embriones maduros contenidos en un adulto, a diferencia de la fecundidad alcanzada o real, que es el número total de descendientes producidos por una hembra adulta. La fecundidad potencial puede ser de utilidad para

estimar el desempeño probable de los áfidos, ya que presenta una correlación fuertemente positiva con la fecundidad real (Dixon & Wratten, 1971, Dixon & Dharma, 1980).

La tasa intrínseca de crecimiento natural ( $r_m$ ) es un estimador estandarizado que expresa el potencial reproductivo de una población de insectos (Birch, 1948; Soutwood, 1994) y al mismo tiempo puede ser usado con carácter predictivo y comparativo. Este estadístico ha sido utilizado ampliamente en el estudio de enemigos naturales y sus huéspedes para la elaboración de estrategias de control (Orphanides & González, 1971), para evaluar el efecto de la temperatura (Landin & Wennergren, 1987, Liu & Yue, 2000), el estrés por sequía (Sumner et al., 1986), los contaminantes atmosféricos (Warrington et al, 1987;. Awmack et al., 1997), los efectos subletales de residuos de insecticidas (Kerns & Gaylor, 1992) y la posible resistencia de variedades o cultivares de vegetales económicamente importantes frente a poblaciones de insectos plaga (Awmack & Leather, 2007). El uso de las tasas de crecimiento en los áfidos, fue propuesta inicialmente por van Emden (1969) como un forma de medición de los efectos directos de las plantas en el comportamiento de los áfidos.

La tasa intrínseca de crecimiento,  $r_m$  (Wyatt & White, 1977), relaciona la fecundidad de una hembra de pulgón con el tiempo de desarrollo:

$$r_m = (\ln Md \times c)/d$$

Donde **Md** es el número de ninfas producidas por hembra adulta en un tiempo igual al requerido para llegar al estado adulto (**d**). La constante “**c**”, tiene un valor igual a 0.738 y es una aproximación de la proporción de la fecundidad total producida por una hembra en los primeros días de la reproducción. Es obvio que a partir de esta ecuación, un pequeño cambio en el tiempo (**d**), tendrá un efecto mayor en la  $r_m$  que un aumento de la fecundidad de una magnitud similar.

El supuesto fundamental de la ecuación de la  $r_m$ , es que una hembra produce el 95% de su progenie en los primeros días (d) de la reproducción. Si esta premisa no se cumple, por ejemplo, si una hembra muere unos pocos días después de iniciar la reproducción, los valores de  $r_m$  pueden sobreestimar la contribución de cada individuo al crecimiento de la población (Wojciechowicz-Zytko & van Emden, 1995).

Entre los factores que afectan el crecimiento y desarrollo de los áfidos se encuentran la calidad de la dieta, la etapa de crecimiento de la planta, la temperatura, el efecto materno, la presencia de sustancias tóxicas, entre otros (Douglas & van Emdem, 2007).

## HIPÓTESIS

En las líneas recombinantes dihaploides provenientes del cruzamiento entre Titintella y Pico en trigo, y de Angola y SW264 en cebada, existen genotipos que producen efecto de antibiosis en el áfido *D. noxia*, afectando sus parámetros biológicos y poblacionales.

## OBJETIVO GENERAL

Identificar el efecto que producen los distintos genotipos de trigo y cebada, en la fecundidad y supervivencia de clones de *D. noxia* seleccionados a partir de poblaciones del áfido provenientes de distintas localidades de Argentina.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### 2. 2. a. Material Vegetal

*Trigo (T. aestivum)*

Para evaluar el efecto de antibiosis en las poblaciones Argentinas de *D. noxia*, se realizaron ensayos con las mismas líneas recombinantes dihaploides (93 DHR), desarrolladas a partir de la F1 resultante del cruzamiento entre las variedades de trigo Tirintella y Pico, utilizadas para el estudio de no preferencia.

*Cebada (H. vulgare)*

De igual manera, para evaluar el efecto de antibiosis de la cebada sobre las poblaciones Argentinas de *D. noxia*, se utilizaron las mismas 20 líneas recombinantes dihaploides (DHR) utilizadas para el estudio de la no preferencia. Estas líneas se desarrollaron a partir de la F1 resultante del cruzamiento entre las variedades SW624 y Angola.

### 2. 2. b. Población de Áfidos

Los áfidos empleados fueron parte de una mezcla de todos los clones y poblaciones evaluados en los estudios del comportamiento reproductivo. La población mixta fue mantenida por dos generaciones en una mezcla de los genotipos a evaluar, con el objetivo de evitar el efecto del hospedante previo (Dixon, 1987).

### 2. 2. c. Ensayo de Antibiosis

El estudio del mecanismo de resistencia por antibiosis, se realizó en un insectario de la Cátedra de Terapéutica Vegetal bajo condiciones ambientales controladas ( $20 \pm 2$  °C y 16:8 hs de fotofase). Para tal fin, se sembraron dos semillas pregerminadas de las DHR de trigo por maceta. Se utilizaron 6 macetas de 300 cc de capacidad, por cada línea en estudio (repeticiones). Con el fin de evitar el efecto de migración de los áfidos entre plantas, las mismas se cubrieron con un tubo plástico de 20 cm de altura (Figura 5), en el cual se realizaron aberturas de ventilación cubiertas con una malla de red fina (voile). El estudio se inició cuando las plántulas poseían dos hojas verdaderas. Se empleó el método de tubo plástico para cubrir la totalidad de la planta, de manera que

los áfidos seleccionaran la parte de la planta preferida por ellos, evitando confinar al insecto en una determinada área como sucede con la utilización de las “cajas clip”. Este método mejora la seguridad en la conservación del insecto, aunque no minimiza los disturbios ocasionados a los mismos y a la planta en lo que se refiere al manejo de ellos. Se descartó además la utilización de discos de hojas, por considerar que en dicho método, si bien favorece la nutrición del áfido por una mayor movilización y asimilación de los nutrientes (Douglas & van Emdem, 2007), no refleja la realidad y somete a un nuevo estrés al hospedero. Además, el daño mecánico al efectuar el corte, puede provocar la inducción de compuestos de defensa de las plantas, que podrían afectar el ciclo del áfido.

En el caso de la evaluación de antibiosis en cebada, se procedió de manera similar.



Figura 5: Aislamiento de las plantas individuales con una ninfa neonata a partir de la cual se inició el estudio de la antibiosis.

Según la metodología empleada por Webster et al., (1987) y Castro (1994), inicialmente se ubicaron 2 pulgones adultos por planta, que se mantuvieron en las mismas hasta el comienzo de la parición, en un lapso aproximado de 24 horas. Trascurrido dicho tiempo, se retiraron con un pincel de cerdas finas todos los individuos menos uno (ninfa). A partir de ese momento se registraron diariamente los cambios de estadio de las ninfas, el número de individuos muertos y una vez alcanzado el estado adulto, los nacimientos hasta la muerte o hasta los tres días posteriores al final del ciclo reproductivo. La descendencia se contó y se removió en

cada observación continuando hasta la finalización del período reproductivo de la hembra adulta. Con el propósito de mantener las plantas en un estado fisiológico similar para que no afecte la nutrición del PRT, al aparecer signos de clorosis, se las reemplazó por nuevas plantas del mismo genotipo.

Los parámetros estudiados fueron: **a) Duración del estado pre-adulto (d)** definido como el tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta que la hembra comienza a parir (suma del estado ninfal y pre-reproductivo). **b) Longevidad (L)**, como la duración total del ciclo de vida. **c) Fecundidad (F)** definida como la descendencia total por hembra. **d) Md o tasa Reproductiva diaria:** Calculado como el número de ninfas nacidas por hembra en un período de tiempo igual a d. **e) Tasa intrínseca de incremento poblacional ( $r_m$ )** calculada por la fórmula  $r_m = \ln Md \times 0,738/d$  (♀/♀/ día).

#### 2. 2. d. Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados por ANOVA, previa verificación de los supuestos (Shapiro – Wilks modificado y Levene, InfoStat 2008), y las medias fueron comparadas por el Test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) (SAS, 1998). El ensayo fue un diseño completamente al azar en el cual cada maceta fue la unidad experimental principal, con seis macetas para cada DHR. Se aplicó un análisis de correlación a los fines de estudiar el grado de asociación entre los distintos parámetros evaluados.

$$Y = G_i + E_{n(i-j)}$$

G= genotipo

E= error

## RESULTADOS

### Trigo

Del análisis estadístico de los resultados obtenidos, surge que existieron diferencias altamente significativas entre las 93 DHR para todos los parámetros estudiados ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 2).

En la duración del período “d” (desde el nacimiento hasta la aparición del adulto), el progenitor susceptible (Tirintella) indujo en el PRT una duración del estado ninfal de nueve días, coincidente con la media de las DHR estudiadas. Mientras que el progenitor resistente (Pico) se diferenció significativamente de ambos (Figura 6). Del total de las líneas, 67 condicionaron en el áfido un comportamiento similar a la media. En otras 15, que no se diferenciaron del padre tolerante Pico, se observó un retraso en el inicio del período reproductivo, por lo cual podría inferirse que las mismas provocaron un leve efecto antibiótico sobre el PRT. El valor máximo del período “d” fue de 11,5 días (Figura 6), lo que estaría indicando que las DHR donde se criaron dichos áfidos produjeron un efecto de antibiosis significativo. Por otro lado, únicamente 11 líneas ocasionaron un acortamiento del período pre-reproductivo significativamente distinto a la media y a los padres (Figura 6).

Tabla 2: Cuadrados medios de los parámetros biológicos y poblacionales de *D. noxia* en trigo.

Parámetros	Fuente Variación	gl	CM	F	P
d	Genotipo	92	2,23	224,99	<0,0001***
	Error	186	0,01		
Longevidad	Genotipo	92	9472,31	73,33	<0,0001***
	Error	186	6,44		
Fecundidad	Genotipo	92	634,82	634,82	<0,0001***
	Error	186	1,0		
Md	Genotipo	92	48,73	2177,24	<0,0001***
	Error	186	0,02		
$r_m$	Genotipo	92	0,00002	19,99	<0,0001***
	Error	186	0,00001		

**d**: duración del estado pre-adulto (días). **Longevidad** (días). **Fecundidad**: Total de ninfas paridas en el período reproductivo (ninfas). **Md**: Número de ninfas nacidas en un período igual a d (ninfas/día).  $r_m$ : Tasa

intrínseca de incremento natural ( $\text{♀}/\text{♀}/\text{día}$ ). **gl**: grados de libertad; **CM**: Cuadrado Medio. \*\*\* altamente significativo  $p < 0,0001$ .

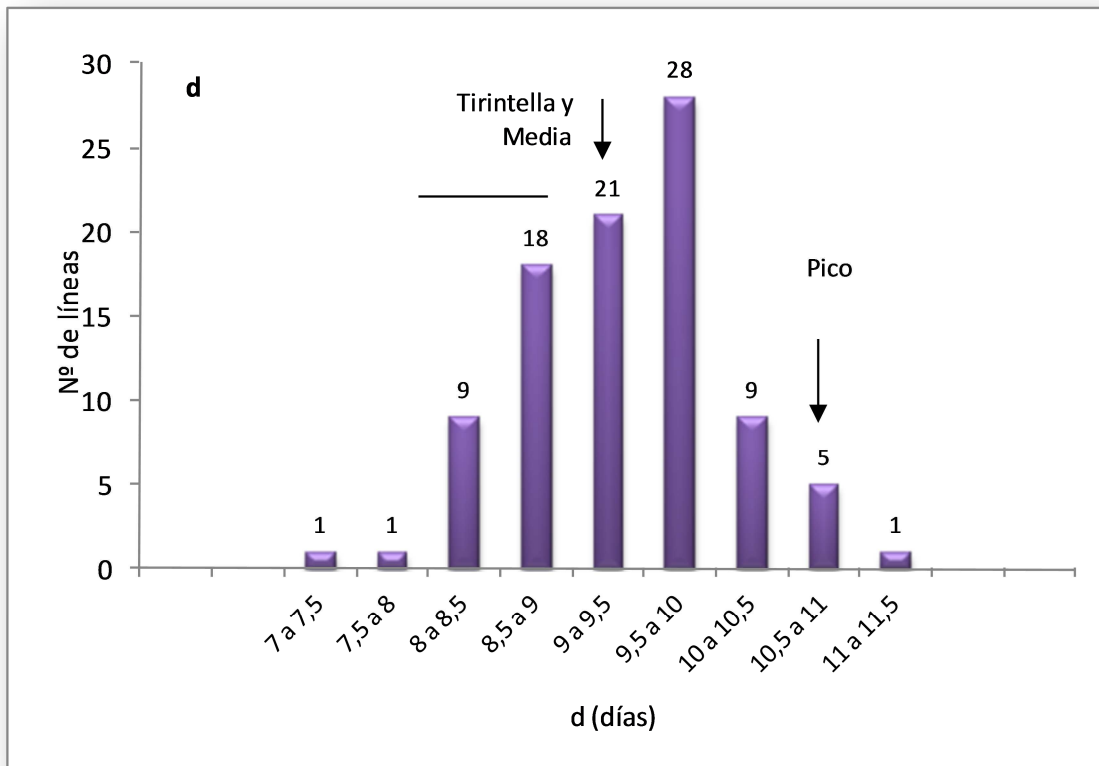


Figura 6: Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para el carácter duración del período preadulto "d". La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

La longevidad fue uno de los parámetros vitales del áfido más afectados por los genotipos evaluados, dado que la media de las DHR fue significativamente inferior a la duración del ciclo de los áfidos criados en los progenitores (Figura 7). Estos últimos no se diferenciaron estadísticamente entre sí, sin embargo la mayoría de las DHR indujeron un acortamiento de la longevidad, significativamente menor al determinado por ambos padres. Este hecho estaría indicando que este carácter tendría herencia transgresiva donde la descendencia presenta valores significativamente distintos al rango determinado por los padres. Del total de DHR, todas las líneas presentaron un comportamiento similar a la media (43 días), sólo en una de ellas el áfido presentó una elevada longevidad, con diferencias estadísticamente significativas. Del mismo modo sólo dos líneas extremas condicionaron en los áfidos una longevidad menor a los 30 días. (Figura 7).

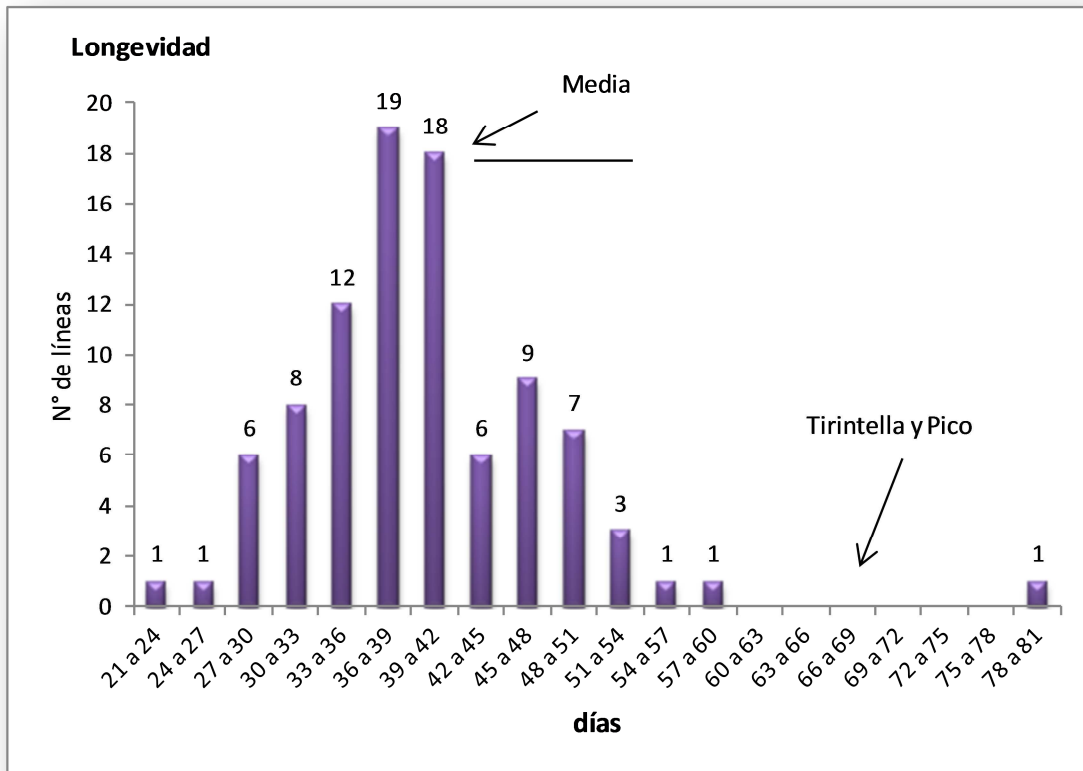


Figura 7: Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para el parámetro longevidad: Número de días desde el nacimiento hasta la muerte de la hembra. La línea horizontal indica el Desvío Estándar

En la **Fecundidad Total (FT)**, se observó que la media fue inferior al valor de ambos padres con una menor producción de ninfas en el total del periodo reproductivo. Entre los dos progenitores, no se registraron diferencias (Figura 8). De las 93 DHR, 28 presentaron un comportamiento no significativamente distinto a la media. Por otro lado, se observó que en 16 DHR la FT fue significativamente menor a la de ambos padres, provocando en el áfido una disminución significativa del número de ninfas producidas, evidenciando un efecto antibiótico transgresivo (Figura 8). Estas últimas líneas mencionadas serían factibles de ser usadas en planes de mejora de la resistencia al PRT en trigo.

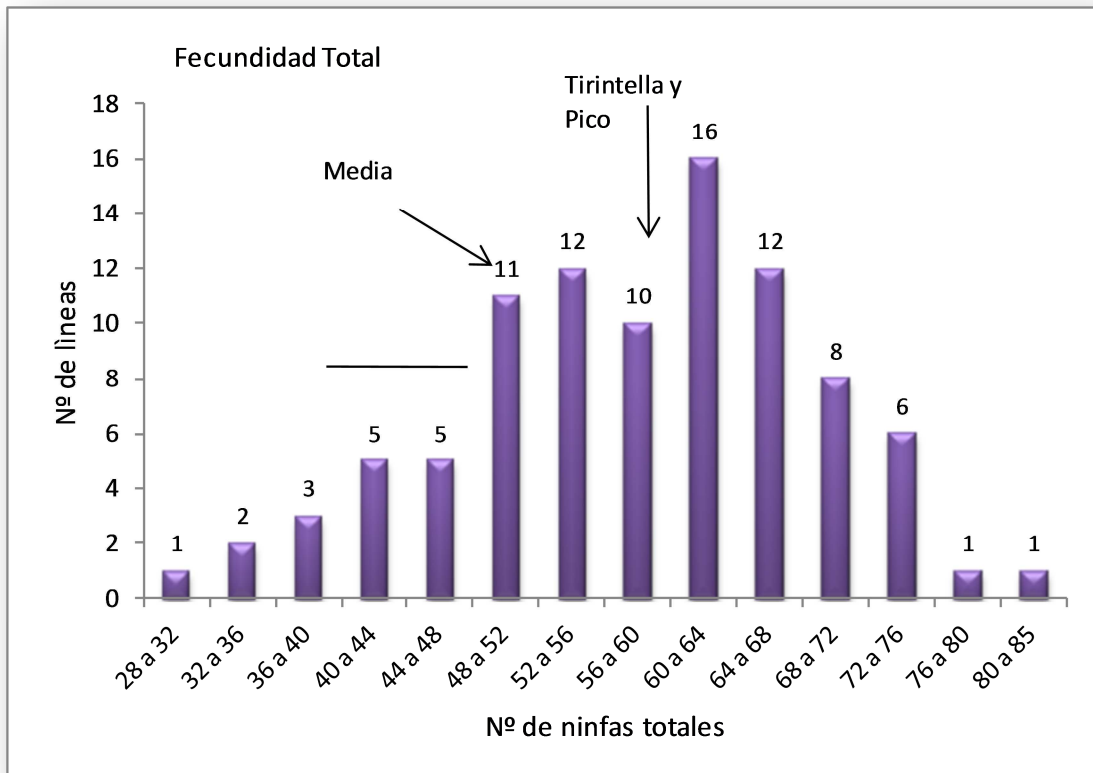


Figura 8: Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para el parámetro Fecundidad Total: Número de ninfas paridas por hembra en el período reproductivo. La línea horizontal indica el Desvío Estándar

El parámetro **Md**, número de ninfas nacidas por hembra en un período de tiempo igual a **d**, surge que de las 93 DHR evaluadas y ambos progenitores, 76 líneas afectaron de manera similar a los áfidos (Figura 9). Dichas líneas indujeron en las hembras de PRT la producción de un número de ninfas no significativamente diferente a la media (21,38 ninfas) y al padre susceptible Tirintella (Figura 9). Por otro lado, el progenitor resistente Pico, se diferenció significativamente de la media poblacional y junto a cuatro DHR indujeron en *D. noxia* un efecto antibiótico con una disminución del número de ninfas paridas en el período “d”. (Figura 9). Este efecto posiblemente es explicado por el mayor valor del parámetro **d** (Figura 6) determinado en los áfidos criados en ese padre y en las DHR mencionadas. De manera contrastante, 51 DHR indujeron en el áfido una mayor eficiencia reproductiva significativa, con un **Md** superior a la media y al progenitor susceptible Tirintella (Figura 9). Como puede observarse en la Figura 9, la mayoría de las DHR indujeron en el áfido un mayor **Md** que el padre susceptible. En este último caso también se observa herencia transgresiva aunque no benéfica para el control de las poblaciones del PRT.

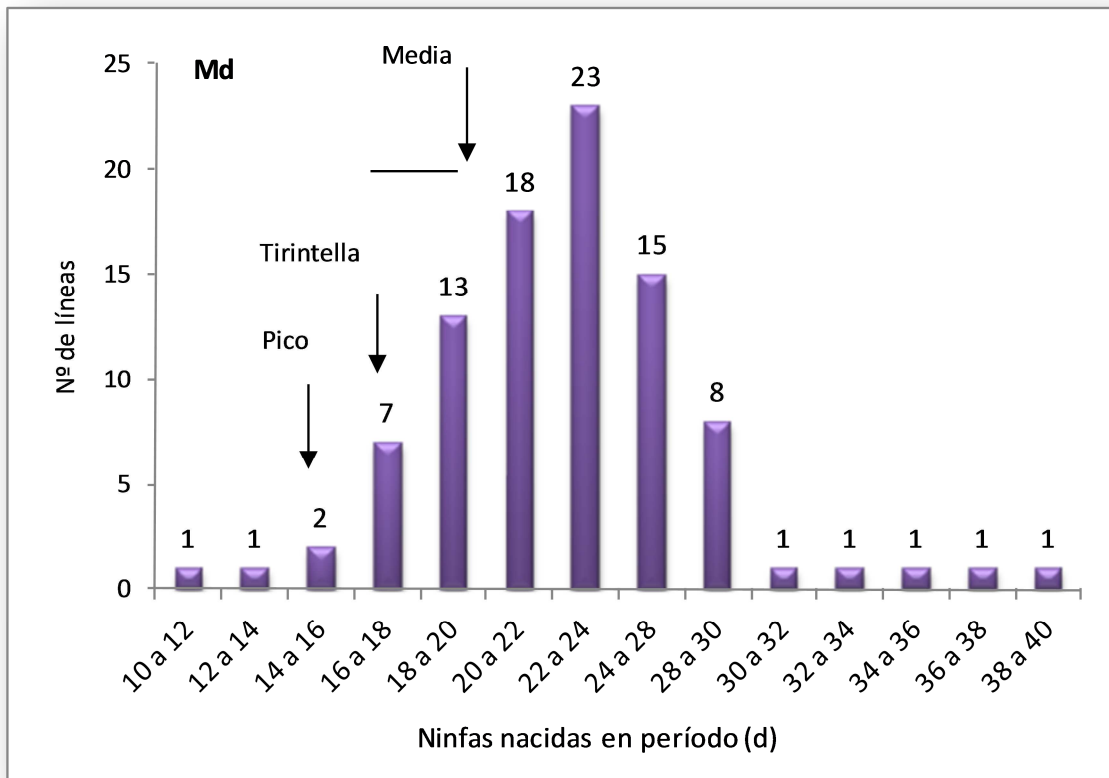


Figura 9: Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores para el parámetro Md: Número de ninfas nacidas en un período igual a d. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

Con respecto a la **tasa intrínseca de incremento natural** " $r_m$ ", existieron diferencias significativas entre ambos padres, el padre tolerante indujo en el PRT los menores registros de  $r_m$ , mientras que el padre susceptible no se diferenció de la media (Figura 10). Del total de líneas evaluadas, 38 tuvieron un  $r_m$  similar a la media, mientras 13 de ellas condicionaron en el áfido una tasa estadísticamente inferior y similar a la determinada en el padre resistente Pico. Por otro lado, 22 líneas indujeron un incremento en la tasa intrínseca con valores significativamente superiores al del padre susceptible Tirintella indicando un comportamiento no antibiótico (Figura 10).



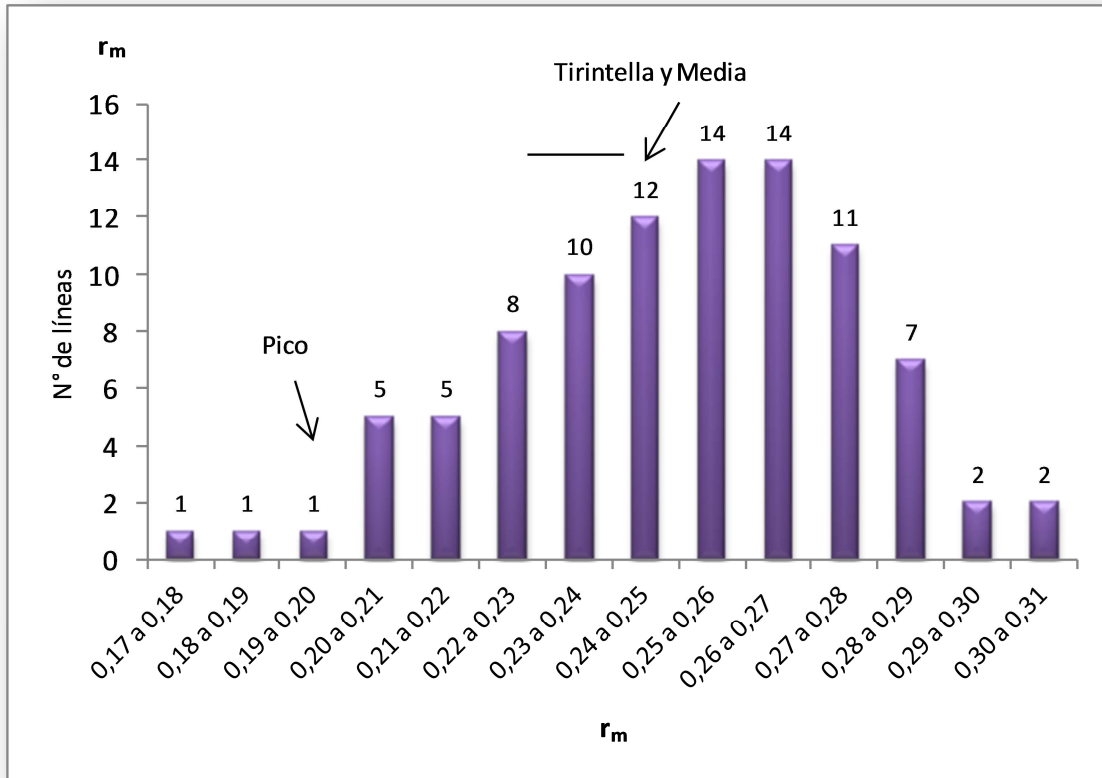


Figura 10: Distribución de frecuencias de las 93 DHR de trigo y ambos progenitores (Tirintella y Pico) para el parámetro Tasa intrínseca de incremento natural  $r_m$ ; Número de ninfas paridas por hembra por día. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

Los diferentes parámetros estudiados estuvieron correlacionados mostrando distintos niveles de asociación entre ellos. Los únicos parámetros que no mostraron correlación fueron **d** (duración del estado pre-adulto) con la tasa Reproductiva diaria **Md** ( $r = 0,16$ ), mientras que la duración del estado pre-reproductivo **d** presentó una fuerte correlación negativa con la Tasa intrínseca de incremento poblacional  $r_m$  ( $r = - 0,79$ ). Por otro lado, el **Md** tuvo una asociación positiva con la tasa intrínseca de incremento poblacional  $r_m$ , ( $r = 0,47$ ). La **fecundidad** y la **longevidad** presentaron una fuerte correlación positiva ( $r = 0,75$ ).

## Cebada

Existieron diferencias altamente significativas en todos los parámetros de vida de los áfidos criados en las DHR de cebada ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 3).

Tabla 3: Cuadrados medios de los parámetros biológicos y poblacionales de *D. noxia* en cebada.

Parámetros	Fuente Variación	gl	CM	F	P
<b>d</b>	Genotipo	19	4,32	4,49	<0,0001***
	Error	39	0,96		
<b>Longevidad</b>	Genotipo	19	226,17	7,34	<0,0001***
	Error	39	30,81		
<b>Fecundidad</b>	Genotipo	19	559,76	6,86	<0,0001***
	Error	39	81,59		
<b>Md</b>	Genotipo	19	4,32	4,49	<0,0001***
	Error	39	0,96		
<b>r<sub>m</sub></b>	Genotipo	19	0,0019	2,48	<0,0001***
	Error	39	0,0008		

**d**: duración del estado pre-adulto (días). **Longevidad** (días). **Fecundidad**: Total de ninfas paridas en el periodo reproductivo (ninfas). **Md**: Número de ninfas nacidas en un período igual a **d** (ninfas/día). **r<sub>m</sub>**: Tasa intrínseca de incremento natural ( $\frac{\text{♀}}{\text{♀}}/\text{día}$ ). **gl**: grados de libertad; **CM**: Cuadrado Medio. \*\*\* altamente significativo  $p < 0,0001$ .

Del análisis de los resultados obtenidos en la duración del **período “d”** (desde el nacimiento hasta la aparición del adulto), surge que ambos progenitores condicionaron una duración del estado ninfal de nueve días, coincidente con la media de las 20 DHR estudiadas (Figura 11). Del total de las líneas, 16 tuvieron un comportamiento similar los padres, mientras que únicamente dos líneas presentaron un acortamiento del período pre-reproductivo significativamente distinto a la media y a los padres (Figura 11). En sólo cuatro líneas se observó un significativo nivel de antibiosis si bien el valor máximo del período **d** fue de 11,5 días (Figura 11), que estaría indicando un efecto de antibiosis leve si se lo compara con la media.

Dado que el valor **d** indica el lapso que media entre dos generaciones, las líneas que condicionaron un retraso en el inicio de la fase reproductiva, serían las más adecuadas para incluir en un plan de mejora en cebada.

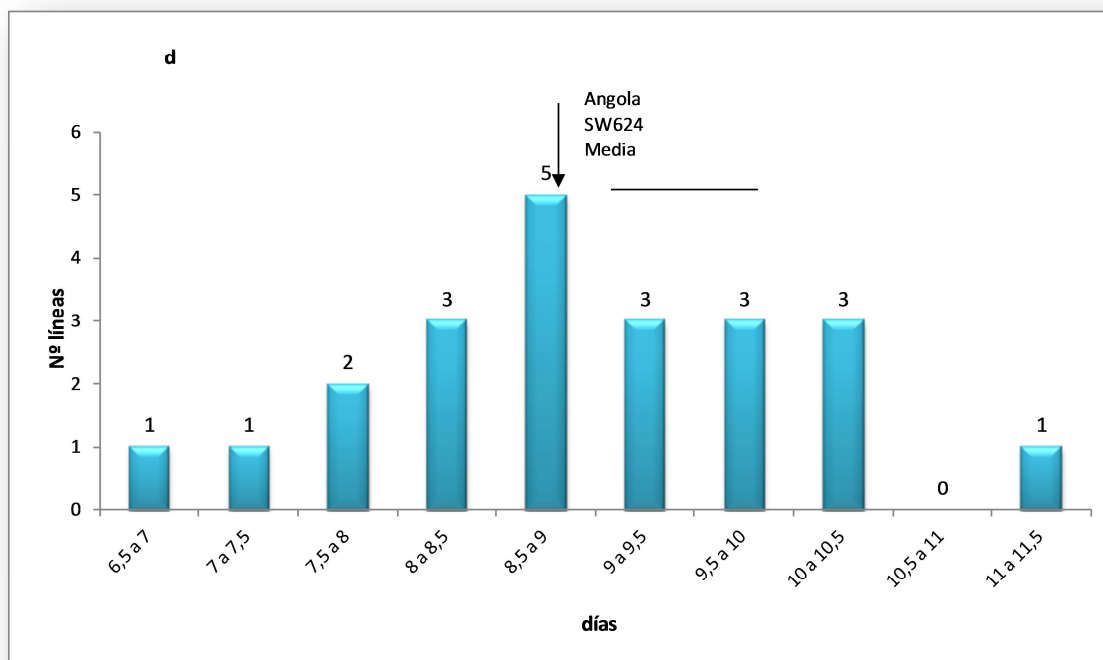


Figura 11: Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el carácter duración del período ninfa "d". La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

Con respecto a la **longevidad** del PRT, en 11 DHR el áfido presentó una longevidad similar a la alcanzada en los progenitores (Angola y SW26) y que fueron coincidentes con la media (Figura 12). Por otro lado, se registró que el PRT en cuatro líneas sufrió un significativo acortamiento de su ciclo de vida. De manera similar, cuatro DHR indujeron en el pulgón un incremento en la longevidad, significativamente superior a la media. No se observaron diferencias estadísticas entre ambos padres (Figura 12).

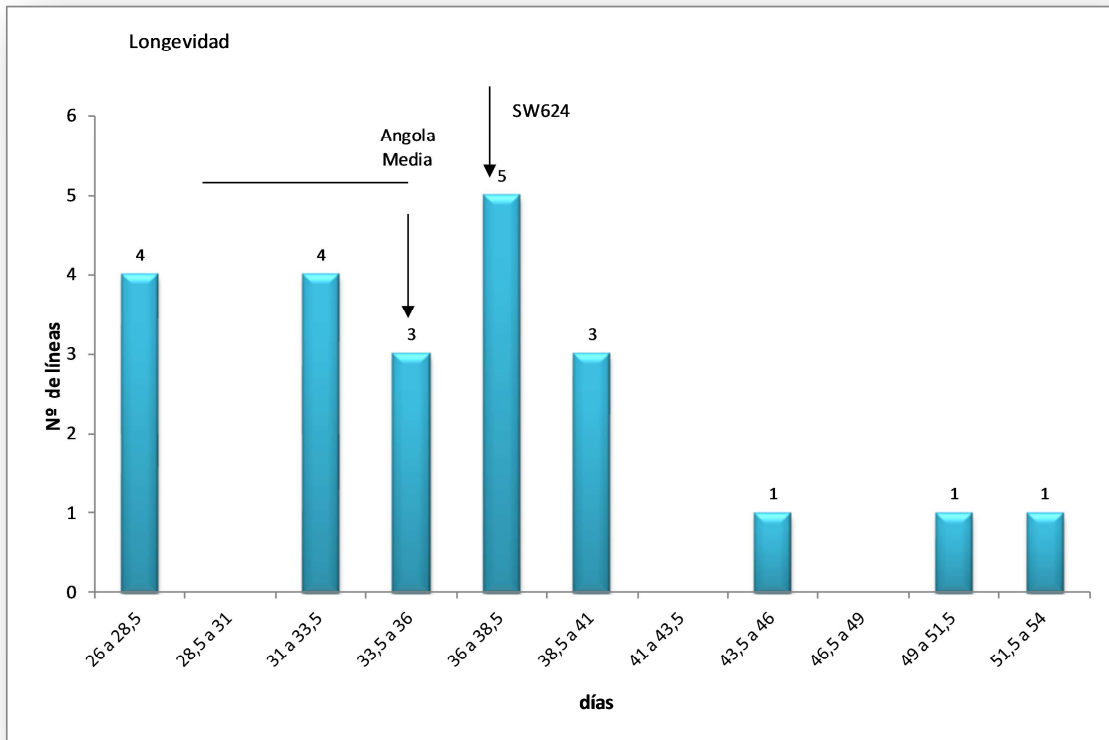


Figura 12: Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el parámetro longevidad: Número de días desde el nacimiento hasta la muerte de la hembra. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

En la **Fecundidad Total**, se observó que el PRT produjo un número total de ninfas paridas similar en 15 líneas, mostrando valores equivalentes a la media y al padre Angola (Figura 13). Mientras que tres de ellas, al igual que el padre SW624, indujeron una mayor fecundidad, diferenciándose estadísticamente del resto. De manera contrastante, cuatro líneas DHR se destacaron por inducir en el PRT una reducción del 50% en la Fecundidad Total, evidenciando un elevado efecto antibiótico (Figura 13). Como puede observarse en la Figura 13, no existieron diferencias significativas entre ambos progenitores.

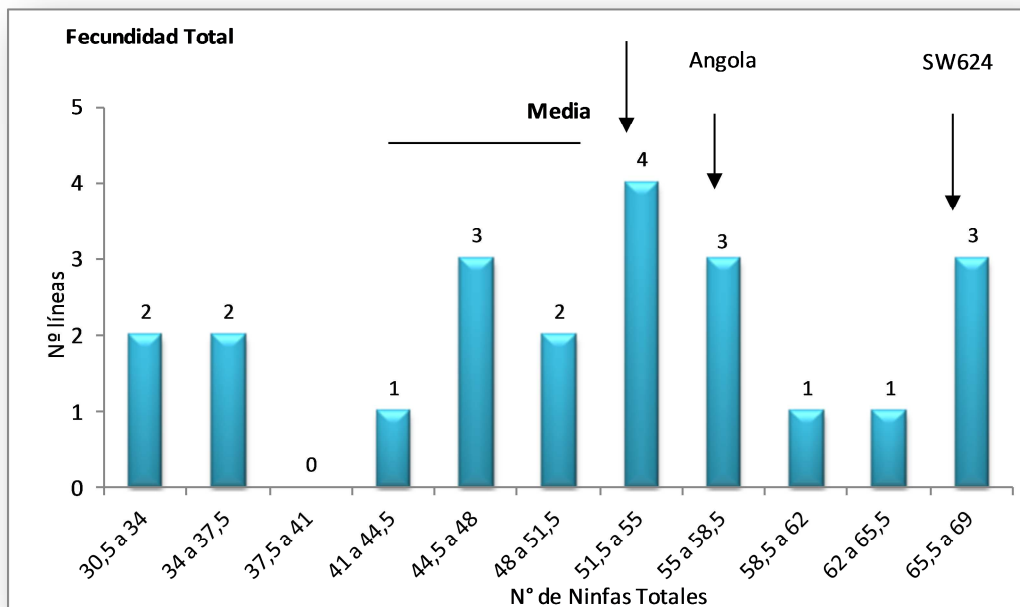


Figura 13: Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el parámetro Fecundidad Total: Número de ninfas paridas por hembra en el período reproductivo. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

Con respecto al parámetro **Md**, número de ninfas nacidas por hembra en un período de tiempo igual a  $d$ , del total de DHR tres líneas condicionaron en las hembras la producción de un número de ninfas significativamente inferior a la media y a ambos padres. El comportamiento del áfido fue similar en ambos progenitores, los cuales no se diferenciaron estadísticamente (Figura 14). Por otro lado, solamente en dos DHR, *D. noxia* tuvo una mayor producción de ninfas significativamente mayor a la media (Figura 14).

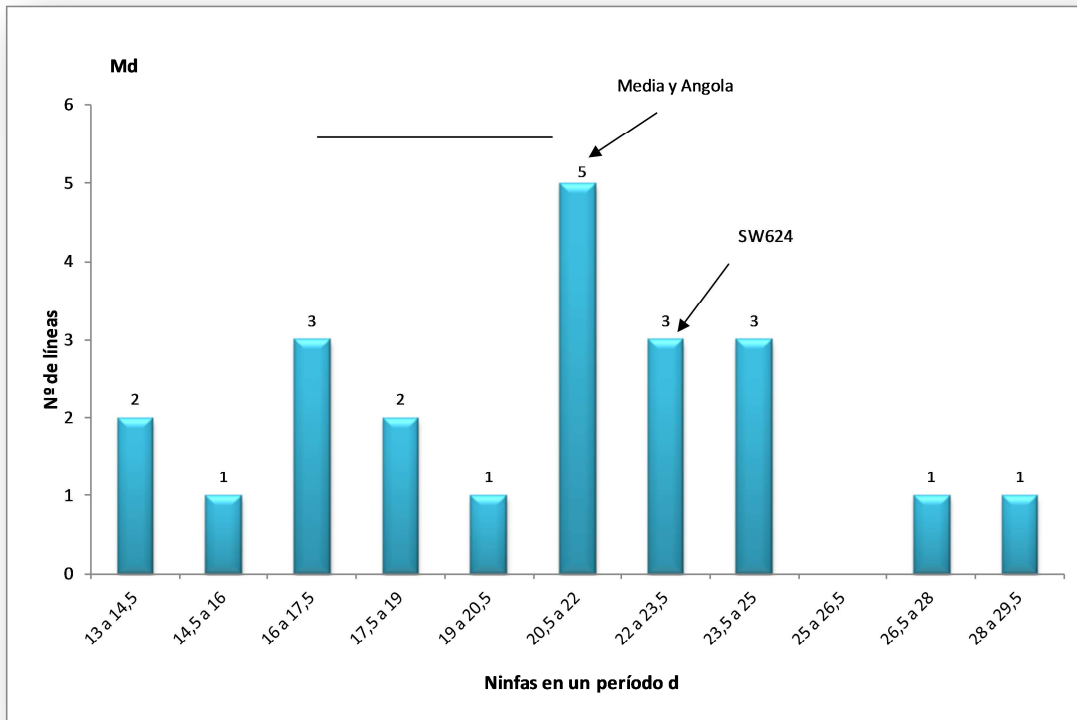


Figura 14: Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el parámetro Md: Número de ninfas nacidas en un período igual a d. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

Con respecto a la **tasa intrínseca de incremento natural** " $r_m$ ", no existieron diferencias significativas entre ambos padres (Figura 15). En cambio, la media de las DHR presentó diferencias significativas al compararlos con los progenitores (Figura 15). Del total de líneas evaluadas 15 indujeron en el PRT una  $r_m$  similar a la media, mientras que otras dos condicionaron tasas estadísticamente superiores. Por otro lado, cinco líneas provocaron en el áfido un fuerte efecto antibiótico ya que condicionaron una significativa reducción de la  $r_m$  (Figura 15). Esto podría atribuirse a que en esas mismas líneas se registró un mayor período **d** y un menor **Md** que intervienen en su cálculo.

En cebada el análisis de correlación arrojó que los parámetros más fuertemente asociados fueron el período **d** con la tasa **Md** ( $r = 0,60$ ) y la fecundidad con la longevidad ( $0,72$ ). En el resto de los parámetros los valores fueron significativamente inferiores.

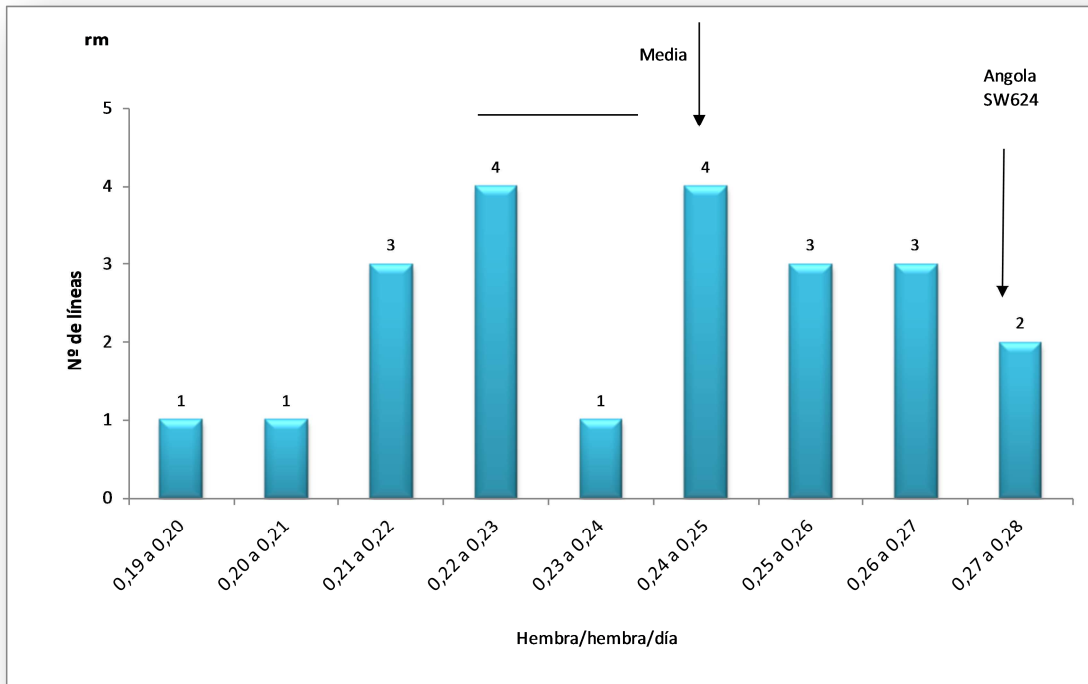


Figura 15: Distribución de frecuencias de las 20 DHR de cebada y ambos progenitores para el parámetro Tasa intrínseca de incremento natural  $r_m$ : Número de ninfas paridas por hembra por día. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

## DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, tanto en trigo como en cebada, el PRT presentó un comportamiento variable en los parámetros biológicos y poblacionales estudiados.

### Trigo

En **trigo**, de las 93 DHR sólo 15 líneas provocaron un alargamiento del período pre-reproductivo (**d**), que se tradujo en una disminución equivalente del  $r_m$ , debido a que el mismo se ve más afectado por una variación del período (**d**), que por un cambio en el número de ninfas nacidas en dicho tiempo (**Md**).

Con respecto a la **fecundidad total** del PRT en trigo se registró la misma proporción de DHR (15) que disminuyeron la producción total de ninfas en el ciclo de vida del áfido, ya que la misma se encuentra relacionada con la **longevidad**, uno de los parámetros más afectados, debido a que la mayoría de las líneas indujeron en el PRT un acortamiento de su ciclo vital.

Estudios realizados por Castro et al. (1999) en los mismos parámetros biológicos y poblacionales del PRT en 26 cultivares de trigo, en condiciones de temperatura y fotoperíodo similares, arribaron a resultados contrastantes en relación al presente trabajo. El número de días necesarios para el inicio de la etapa reproductiva varió entre 4,10 a 9,5 días, mientras que en el presente estudio, la máxima duración del período **d** fue de 11,5 días y la mínima de 7 días, por lo que podría inferirse que la mayoría de las DHR indujeron en el áfido un efecto antibiótico, prolongando el comienzo del período reproductivo. Por el contrario, la **longevidad**, a pesar de ser uno de los parámetros más afectados, sufrió un alargamiento con respecto a los resultados obtenidos por Castro et al., (1999), ya que la duración máxima en el presente estudio fue de 82 días con un mínimo de 21,4 días, versus los 65,5 y 16,4 días respectivamente, registrados por dichos autores.

Al comparar la **fecundidad total**, se observó una leve disminución del parámetro tanto en el máximo (94,9 vs. 84) como en el mínimo (36,17 vs. 28) en relación a trabajos previos (Castro et al., 1999). De manera similar el parámetro **Md** osciló entre un máximo de 65,5 a 16,4 ninfas en el período **d** (Castro et al., 1999), en el presente



estudio los valores fueron de 40 y de 12 ninfas/día, respectivamente. **La tasa intrínseca de incremento poblacional** presentó una disminución importante en comparación con el estudio mencionado, ya que en el mismo la  $r_m$  osciló entre 0,48 a 0,28, mientras que en el presente ensayo se registraron valores entre 0,31 a 0,17, evidenciando un mayor efecto antibiótico de las DHR de trigo sobre la fecundidad, el Md y la  $r_m$  del PRT.

Las diferencias encontradas en los parámetros podrían atribuirse no sólo a las líneas de trigo sobre las cuales se estudió el comportamiento de *D. noxia* en ambos trabajos, sino que además podría explicarse por la variabilidad genética de las poblaciones de los áfidos utilizados. En el trabajo de Castro et al., (1999) se empleó una población proveniente de Tres Arroyos, mientras que en el presente trabajo se utilizó una mezcla de seis poblaciones, aumentando la variabilidad genética del insecto.

Dentro de los factores que pueden afectar la fecundidad y supervivencia de los áfidos, se encuentran aquellos de índole física y química de la planta huésped. Estudios realizados por Mayoral Canalejas (1995) sobre el efecto de los ácidos hidroxámicos en variedades de trigos (duro y blando), centeno, cebada y triticale en los parámetros biológicos y poblacionales de *D. noxia*, demostraron que no existió ninguna correlación entre las concentraciones de DIMBOA y DIBOA en los extractos de las plantas y los parámetros biológicos calculados. El trigo blando Chinese Spring, de alto contenido en DIMBOA, y la cebada Albacete, sin DIMBOA, fueron los cultivares más susceptibles al PRT, ya que en ambos la supervivencia en el periodo pre-reproductivo fue muy elevada y la duración del mismo fue corta. Además en ambos cultivares el áfido presentó los mayores valores de  $r_m$ . En dicho estudio se pudo determinar que a partir de un umbral mayor a 8,5 mg/g de peso seco, el DIMBOA ejerció una acción repelente sobre *D. noxia*, pero una vez que los pulgones alcanzaron el floema se alimentaron de forma similar, independientemente de los niveles de DIMBOA encontrados. Por lo cual infieren, que otros mecanismos de defensa de tipo físico y/o químico deben estar implicados en la resistencia de los cereales a este pulgón (Mayoral Canalejas, 1995).

Por otro lado, en el mismo estudio, encontraron una correlación positiva entre los niveles de sacarosa en el floema de cultivares de trigo blando y trigo duro sobre la  $r_m$ , lo que estaría sugiriendo que los niveles de sacarosa podrían contribuir a enmascarar la acción deterrente del DIMBOA, y por lo tanto ser uno de los nutrientes implicados en la susceptibilidad de los mismos al PRT (Mayoral Canalejas, 1995).

Otros factores que pueden incidir en el comportamiento biológico y reproductivo del PRT, son las respuestas de las plantas a la alimentación sostenida del áfido, como son las defensas inducidas, que involucran al ácido jasmónico, al ácido salicílico, al etileno, al ácido abscísico, y al ácido giberélico. La producción de dichas sustancias es variable en los distintos hospederos y por lo tanto la respuesta de los pulgones a las mismas sigue la misma tendencia de variabilidad (Smith et al., 2010; Wu & Baldwin 2010, Botha et al., 2006).

Según estudios realizados por Botha et al. (2006), la defensa contra el PRT se debe, a la producción de especies reactivas de oxígeno (*Reactive Oxygen Species* ROS), como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que induce la acumulación celular de ácido salicílico (SA), el cual activa la expresión de proteínas relacionadas a la patogénesis (PR). Otros estudios indican que en variedades de trigo resistentes, son varios los productos involucrados con las defensas inducidas que se acumulan en el apoplasto, incluyendo las proteínas PR β-1, 3-glucanasas, quitinasas y peroxidasas (van der Westhuizen et al. 1998a, b). Dichos autores afirman que la resistencia no es expresada constitutivamente, pero es inducida por la infestación de *D. noxia* y que además, el nivel de respuesta varía en los diferentes cultivares resistentes.

Estudios realizados sobre el líquido del lavado intercelular de trigo resistente al PRT cv. Tugela (portador de genes de resistencia de la serie *Dn*), mostraron que las proteínas fueron inducidas dentro de los 6 días de la infestación. Por otro lado, los cambios en la producción de etileno se observaron en las primeras 24 horas después de la infestación del áfido, hechos que no ocurrieron en la línea isogénica susceptible (Botha et al., 1998). Coincidentemente, los cambios en la expresión de la transcripción forman parte de dos fases, una respuesta inmediata (respuesta de hipersensibilidad, HR) 24 h después de la infestación con PRT (Botha et al, 1998; Botha et al., 2006), y una segunda respuesta de larga duración que prevalece en el tejido durante un período prolongado de tiempo, es decir una resistencia sistémica adquirida (RSA) (van der Westhuizen et al. 1998a, b), que responderían a la teoría del gen por gen de Flor (1971) (Botha et al., 2006). Por otro lado, estudios realizados por Castro et al., (2004) y Ricciardi et al., (2010) demostraron que los mecanismos de resistencia por antixenosis, antibiosis y tolerancia en trigo puede explicarse además de los R genes por QTL (Quantitative Traits Loci) ubicados en los cromosomas 7DS, 7DL, 4A y 5B.

## Cebada

El comportamiento del PRT fue similar a lo evaluado con las líneas de trigo, ya que en las DHR de cebada, el áfido vio afectado sus parámetros biológicos y poblacionales de manera estadísticamente significativa.

En lo que respecta al período **d** sólo dos DHR ocasionaron un alargamiento del período pre-reproductivo, evidenciando un efecto antibiótico sobre el pulgón. De manera similar la **fecundidad, longevidad, Md** y  $r_m$  del PRT se vieron afectados cuando el insecto fue criado en un total de cinco líneas, de las 20 DHR empleadas.

Los estudios realizados sobre el crecimiento y desarrollo del PRT sobre distintos hospederos y condiciones ambientales son numerosos y diversos en los resultados. Por ejemplo, estudios realizados por Ma & Bechinski (2009) sobre los parámetros demográficos de *D. noxia* en cebada a distintas temperaturas y estados fenológicos de las plantas, arribaron a resultados similares al del presente trabajo, con un valor de la  $r_m$  de 0,278 a 20 °C y al estado de dos hojas verdaderas.

Una medida de la aceptación por los pulgones de un hospedero, luego de haberlo seleccionado, es la eficiencia en la producción (parición) de ninfas que realizan sobre el mismo. Según Powell et al., (2006), la larviposición se inicia en los pulgones aproximadamente a los 30 minutos de haber insertado los estiletes en el tejido vegetal. Estos estudios indican que el parto es estimulado por señales químicas que (a) se detectan en los tejidos vegetales periféricos antes de ponerse en contacto con el floema y por lo tanto son eficaces sin una ingesta mayor, (b) son eficaces en baja concentración, y (c) dan lugar al inicio de la reproducción antes de una ingestión significativa de los nutrientes. Un análisis detallado de cómo interactúan con los estiletes en los tejidos periféricos es importante para interpretar los mecanismos de selección y aceptación de la planta huésped y las implicancias de las mismas sobre el crecimiento y desarrollo de los áfidos.

Estudios realizados por Mayoral Canalejas (1995) sobre el comportamiento de alimentación de *D. noxia* en la cebada “Albacete”, que carece de DIMBOA y DIBOA, fue similar al observado en cultivares de trigo con bajos niveles de DIMBOA, ya que el tiempo total de “no prueba del floema” fue inferior al que presentaron los pulgones con elevada concentración de DIMBOA, donde los pulgones emplearon mucho tiempo en acceder y alimentarse del floema. El retraso en el acceso al floema en cebada ya

había sido descrito previamente por Tjallingii & Mayoral (1992). Estos resultados sugieren que los factores que dificultan el acceso al floema en la cebada se localizan en la epidermis o el mesófilo de la planta, ya que una vez que los pulgones aceptan el floema se alimentan ininterrumpidamente. Se han descrito varios factores de resistencia a pulgones en cebada, como las ceras, la pectina y la gramina. Dicho efecto se ha observado además en el áfido *S. graminum* y en *R. padi* en los cuales se produjo un retraso en la ingestión de floema en plántulas de cebada con alto contenido en gramina (Zúñiga et al, 1986).

Otros estudios realizados por Carrillo Gill (2009), señalan que la presencia de cistatinas o fitocistatinas en la cebada (*H. vulgare*), poseen un efecto endógeno que desencadenan la muerte celular programada (reacción hipersensitiva HR), actuando como proteínas de defensa contra patógenos y plagas, entre ellos los pulgones. En *A. pisum*, la ingesta de altas concentraciones de cistatina produce la muerte del pulgón, mientras que en *M. persicae* retrasa el desarrollo sin afectar la descendencia, este áfido toleraría más el efecto de la cistatina por una sobreproducción de proteasas digestivas. Por lo expuesto, son múltiples los factores que pueden incidir en el crecimiento y desarrollo del PRT.

### 2.3. TOLERANCIA

## INTRODUCCIÓN

La tolerancia, como categoría de resistencia a los áfidos, comprende aquellos mecanismos que le permiten a la planta tolerar elevadas poblaciones de insectos sin evidenciar pérdidas en su rendimiento y/o calidad (Van Emdem, 2007). Hesler (2005), encontró en tres variedades de triticale (*Triticocereale* spp.), que luego del ataque del pulgón de la avena (*R. padi*), no se observaron diferencias entre las plantas dañadas y las no atacadas por el áfido.

La tolerancia indica la capacidad de la planta para soportar o compensar los daños producidos por los insectos (Smith, 1989). Una planta tolerante tiene capacidad de superar el ataque de un herbívoro, ya sea a través de la regeneración de los tejidos destruidos, emisión de nuevos macollos o de hojas, de manera que no exista una disminución significativa de la calidad y cantidad de su producción. Los estudios de resistencia de plantas para encontrar fuentes de tolerancia requieren del conocimiento de la forma de ataque del insecto y de las reacciones fisiológicas que las plantas pueden poseer para evitar el daño causado (Lara, 1991).

Existen muchos factores que afectan las respuestas de la planta al daño provocado por los áfidos, entre ellos, el tiempo de infestación (estación o estado de crecimiento de la planta), la duración de la infestación, el estrés ambiental (especialmente sequía) y el estado nutricional del hospedante (Burd et al., 1998). En trigo, la principal respuesta de la planta al ataque de *D. noxia* implica un desbalance hídrico expresado como una pérdida de turgencia y reducción del crecimiento. Las plantas resistentes recuperan rápidamente las tasas de crecimiento cuando los áfidos son removidos de las mismas (Burd & Burton, 1992; Tocho, 2010).

Los síntomas de la alimentación de *D. noxia* sobre cultivares susceptibles de trigo incluyen estrías longitudinales blancas o amarillas (Burd & Elliott, 1996), que en infestaciones severas producen una drástica reducción en el área foliar efectiva (Walters et al., 1980).

Numerosos investigadores han estudiado los cambios fotosintéticos provocados por la alimentación de los herbívoros en plantas de cereales resistentes y susceptibles y los efectos sobre la eficiencia fotosintética de las plantas (Miller et al., 1994; Ni et al., 2002; Macedo et al., 2003). Esta puede ser alterada por la infestación causando la

reducción en el contenido de clorofila (Riedell, 1989; Gellner et al., 1991), por reducción en el área foliar, provocada por el enrollamiento de hojas (Miller et al., 1994) y por bloqueo en el transporte de electrones en el fotosistema II (Burd & Elliott, 1996).

El catabolismo de la clorofila se diferencia en dos tipos. Uno de ellos está asociado con la senescencia progresiva y natural de las plantas, mientras que el otro se debe a la clorosis provocada por la alimentación de herbívoros, deficiencias nutricionales o infecciones patógenas (Ni et al., 2002, Tocho, 2010).

En la degradación de la clorofila participan varias enzimas, entre ellas la clorofiloxidasa, clorofilasa y la Mg-dequelatasa (Janave, 1997; Matile et al., 1999). Algunos ensayos *in vitro* mostraron un incremento considerable de la actividad de la enzima Mg-dequelatasa en extractos de plantas infestadas con *D. noxia* en comparación con plantas no infestadas o infestadas con *R. padi*, demostrando la diferencia en la degradación de la clorofila por vía natural o por la alimentación de diferentes áfidos (Ni et al., 2001). En ensayos posteriores se observó una actividad menor de dicha enzima en los trigos susceptibles en comparación con los resistentes (Tao et al., 2004) y mayor actividad de la clorofilasa en líneas de trigo infestadas con *R. padi* en relación a aquellas atacadas por *D. noxia* (Tocho, 2010).

El contenido de pigmentos fotosintéticos puede determinarse por espectrofotometría (Tocho, 2010), y además, puede ser determinado por un método rápido, fácil y no destructivo utilizando un clorómetro SPAD (SPAD-502, Medidor de clorofila, Cámara Minolta, Osaka, Japón). La pérdida de clorofila medida con el SPAD fue empleada por Deol et al., (1997) y Flinn et al., (2001), como una medida para estimar la tolerancia. Las plantas necesitan clorofila para producir biomasa, por eso, si la planta no sufre una pérdida excesiva de clorofila como resultado de la alimentación del áfido, podría ser considerada tolerante (Lage et al., 2003, Tocho, 2010). La inyección de enzimas salivales causa intensa clorosis en plantas susceptibles (Dorschner et al., 1987). Si bien la pérdida de peso seco es considerada la medición óptima para estimar la tolerancia bajo la infestación de *S. graminum*, la medición de la clorofila provee una estimación de la habilidad de la planta de sobrevivir al ataque de áfidos y continuar su normal crecimiento cuando la presión de estos disminuye, situación comúnmente observada en el campo (Tocho, 2010).

La compensación es un mecanismo de tolerancia, observada en algunas líneas de trigo que demostraron un mayor crecimiento cuando fueron atacadas por *S. graminum*

o *D. noxia*. Este crecimiento compensatorio como respuesta al ataque de pulgones, puede conducir sin embargo, a un retraso en la cosecha (Castro et al., 2001, van Emdem, 2007).

Los síntomas que surgen como resultado de la reacción de la planta a la saliva de los áfidos, pueden variar tanto con los genotipos particulares de los pulgones como con los de la planta hospedera. Por lo tanto, algunos de los genotipos de trigo mostraron ser especialmente tolerantes al biotipo E de *S. graminum* (Morgham et al., 1994). Un mecanismo interesante de la tolerancia en las variedades de trigo a *S. graminum* fue propuesto por Maxwell & Painter (1962), quienes compararon dos cultivares “Dickson” (tolerante) y “Pawnee” (susceptible). Estos dos cultivares difieren en la fecha de cese en la expansión de la hoja bandera, de cuya fotosíntesis depende en gran parte el rendimiento de grano. Puesto que los áfidos tienden a alimentarse en el envés de la hoja, el crecimiento no se inhibe, mientras que la superficie dorsal de la hoja sigue creciendo. La hoja por lo tanto, se enrolla fuertemente, lo que reduce el área foliar efectiva expuesta a la radiación solar. En el cultivar “Dickson”, el crecimiento de las hojas se detiene antes, y el daño por los áfidos, por lo tanto, no causa el rizado de la hoja con la consecuente pérdida de área foliar efectiva.



## HIPÓTESIS

En las líneas recombinantes dihaploides provenientes del cruzamiento entre Tirintella y Pico en trigo, y de Angola y SW264 en cebada, existen genotipos tolerantes al daño producido por áfido *D. noxia*.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar el nivel de agresividad de *D. noxia*, a través de ensayos de tolerancia de las mismas fuentes de resistencia empleadas con antelación, mediante evaluación del daño del área foliar fotosintetizante, pesos frescos y secos aéreos y contenido total de clorofila.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.3 .a. Material vegetal

#### *Trigo (T. aestivum)*

Para evaluar la agresividad de las poblaciones Argentinas de *D. noxia*, se realizaron ensayos de tolerancia en 93 líneas recombinantes dihaploides (DHR) y ambos padres. Éstas se desarrollaron a partir de la F1 resultante del cruzamiento entre dos variedades, Tirintella y Pico, contrastantes por su tolerancia a pulgón ruso. Dicho procedimiento se realizó en el John Innes Center por el Dr. John Snape. Las plantas F1 obtenidas se polinizaron con polen de maíz para luego recuperar el embrión haploide a los diez días de haber crecido en el medio de cultivo, siendo trasladado a suelo al mes. En pleno macollaje, se les aplicó colchicina por raíz para dihaploidizarlos (Ellerbrok *et al*, 1999). La selección de los progenitores (contrastantes por su nivel de resistencia a *S. graminum* y *D. noxia*) se realizó en la Cátedra de Genética (Fac. Cs. Agrarias y Forestales de la UNLP) durante el año 2006 (Ferraris, 2006).

#### *Cebada (H. vulgare)*

Para evaluar la agresividad de las poblaciones Argentinas de *D. noxia*, se realizaron ensayos de tolerancia en 20 líneas recombinantes dihaploides (DHR) producto del cruzamiento de Angola y SW624, que fueran utilizadas en los estudios de no preferencia y antibiosis.

### 2.3. b. Población de áfidos

Se emplearon los mismos áfidos que para los ensayos de no preferencia y antibiosis, compuestos por una mezcla de todos los clones y poblaciones evaluados en los estudios del comportamiento reproductivo. La población mixta fue mantenida en idénticas condiciones que las poblaciones y clones estudiados con antelación.

### 2.3. c. Ensayos de tolerancia

#### *Material Vegetal*

La agresividad del PRT, se evaluó a través de ensayos de *tolerancia*, utilizando las mismas fuentes de resistencia y líneas susceptibles empleadas para evaluar *no preferencia* y *antibiosis*, según la metodología propuesta por Webster *et al.*, (1987) modificada por Castro *et al.*, (2001).

## Metodología

### Trigo

Los ensayos se realizaron en invernáculo, en la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, (36° 36' L.S., 57° 57' L.O.). Para tal fin se utilizaron 50 semillas de cada línea recombinante (93 líneas) y de cada uno de los progenitores (Tirintella y Pico). Las semillas se pusieron en remojo 2 horas antes de pregerminarlas, en cápsula de Petri durante 5 días a temperatura ambiente.

Las semillas germinadas se sembraron en bandejas de 50 cm x 70 cm con un sustrato de tierra, a razón de 31 genotipos por bandeja, formando 31 parcelas distribuidas aleatoriamente, con 15 plantas cada una (repeticiones), (Figura 16).



Figura 16: Bandejas con las DHR de trigo, y sus correspondientes progenitores, en las que se evaluó la tolerancia de las mismas al daño del áfido.

Las plantas de cada genotipo se separaron en dos grupos: CONTROL (plantas testigos) e INFESTADAS con *D. noxia*, ubicando las bandejas respectivas en cámaras de cría distintas. La infestación (10 pulgones adultos/planta) se realizó en el estado de segunda hoja expandida. Antes de la infestación, se procedió a la cosecha de 5 plantas de cada genotipo en cada bandeja, en las que se determinó el Peso Fresco Aéreo (PFA); Peso Seco Aéreo (PSA); Área Foliar (AF) y el Contenido Total de Clorofila (CTC). Esta última determinación se realizó utilizando el medidor SPAD 502 (MINOLTA), de acuerdo a la metodología seguida por Martínez & Guiamet (2003). Este instrumento permite obtener de una manera no destructiva, el contenido de

clorofila a través de la transmitancia de las hojas a dos longitudes de onda (650 nm y 940 nm).

La tolerancia a la injuria de los áfidos se evaluó a través de un período de infestación, cuya extensión dependió del nivel de tolerancia que presentaron los distintos genotipos (entre 15 y 21 días).

Cuando las plantas infestadas de un genotipo particular (en comparación con su testigo) presentaron más del 50% del área foliar clorótica, se dio por finalizado el ensayo para ese genotipo. Luego se procedió a cosechar tanto las plantas infestadas como los controles y se realizaron las determinaciones anteriormente mencionadas. Se calcularon los incrementos relativos de crecimiento en cada genotipo. Para ello al valor final de cada parámetro se le restó el correspondiente al testigo.

#### *Cebada*

En la cebada se procedió a la siembra y manipulación de la semilla de igual manera que en trigo, pero en este caso previamente se desvistió el grano. Se evaluaron los mismos parámetros y crecimientos relativos indicados para trigo. La distribución de las parcelas y las repeticiones siguieron el mismo diseño que en trigo, aunque para 20 DHR y ambos progenitores (Angola y SW64).

#### **2.3 .d. Análisis estadísticos**

Se aplicó un diseño estadístico totalmente al azar. Los resultados fueron analizados por ANOVA, previa verificación de los supuestos (Shapiro – Wilks modificado y Levene, InfoStat 2008; PROC GLM, SAS 1998) y el Test de Tuckey ( $\alpha=0,05$ ) para determinar las diferencias entre medias. Según el siguiente modelo:

$$Y = G_i + E_{n(ijk)}$$

G= genotipos      E= error

## RESULTADOS

### Trigo

De acuerdo a los resultados obtenidos existieron diferencias altamente significativas entre los genotipos ( $p < 0,001$ ) en las diferencias del área foliar (**AF**), peso fresco (**PF**), peso seco (**PS**) y contenido total de clorofila (**CTC**), en las plantas sometidas a la infestación con *D. noxia* (Tabla 4).

**Tabla 4:** Cuadrado medio de los genotipos de trigo y el error de los parámetros Incremento Relativo del Área Foliar de las líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRAFPR-T); Incremento Relativo del Peso Fresco líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRPFPR-T); Incremento Relativo del Peso Seco líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRPSPR-T) y el Incremento Relativo del Contenido Total de Clorofila de las líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRCTCPR-T). \*\*\*  $p < 0,0001$ .

Parámetros	Fuente Variación	gl	CM	F	P
IRAFPR-T	Genotipo	92	0,04	2,21	<0,0001***
	Error	33	0.0195		
IRPFPR-T	Genotipo	92	0,04	4.32	<0,0001***
	Error	110	0.0094		
IRPSPR-T	Genotipo	92	0,035	5,91	<0,0001***
	Error	94	0.0059		
IRCTCPR-T	Genotipo	92	0,016	4.65	<0,0001***
	Error	110	0.0035		

De las 93 DHR y los dos progenitores evaluados, sólo una línea presentó un valor de incremento relativo de **AF** no significativamente distinta a su testigo (Figura 17). En términos de AF la tolerancia fue escasa dado que ninguna de las DHR evidenció un incremento de ésta luego de la infestación, hecho debido posiblemente al enrollamiento que sufren las hojas ocasionado por el PRT. Por otra parte no se observaron diferencias en el incremento del área foliar entre ambos progenitores.

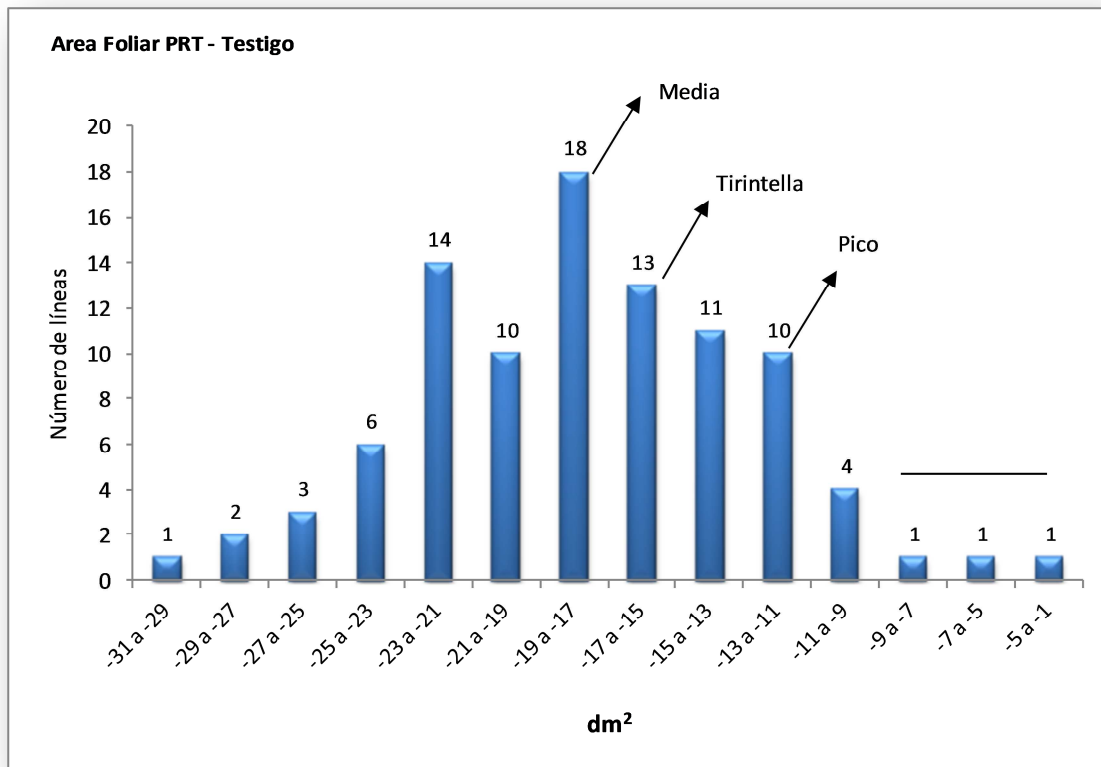


Figura 17: Evaluación del incremento relativo del AF en 93 DHR de trigo. Se indica los valores promedio (X) de la población y de ambos padres (Tirintella; Pico) con flechas y el Desvío Estándar (DE) con una línea horizontal.

Como puede observarse en la Figura 17, la mayoría de las DHR presentaron herencia transgresiva negativa, dado que sufrió una mayor diferencia en el incremento del AF, es decir, una mayor pérdida del AF con relación a ambos progenitores.

Con respecto a la medición del **PF**, existieron diferencias significativas en el incremento del peso entre Tirintella y Pico (Figura 18). En el PF se observó que 65 líneas fueron similares al padre Tirintella, dado que el incremento relativo del PF no fue significativamente distinto de cero. En cambio, de las 93 DHR, 25 tuvieron un comportamiento similar al padre tolerante Pico y sólo se observaron dos líneas, que bajo infestación, presentaron un incremento relativo del PF mayor que su testigo. El resto de las líneas se comportaron como susceptibles, dado las altas diferencias con respecto a sus testigos.

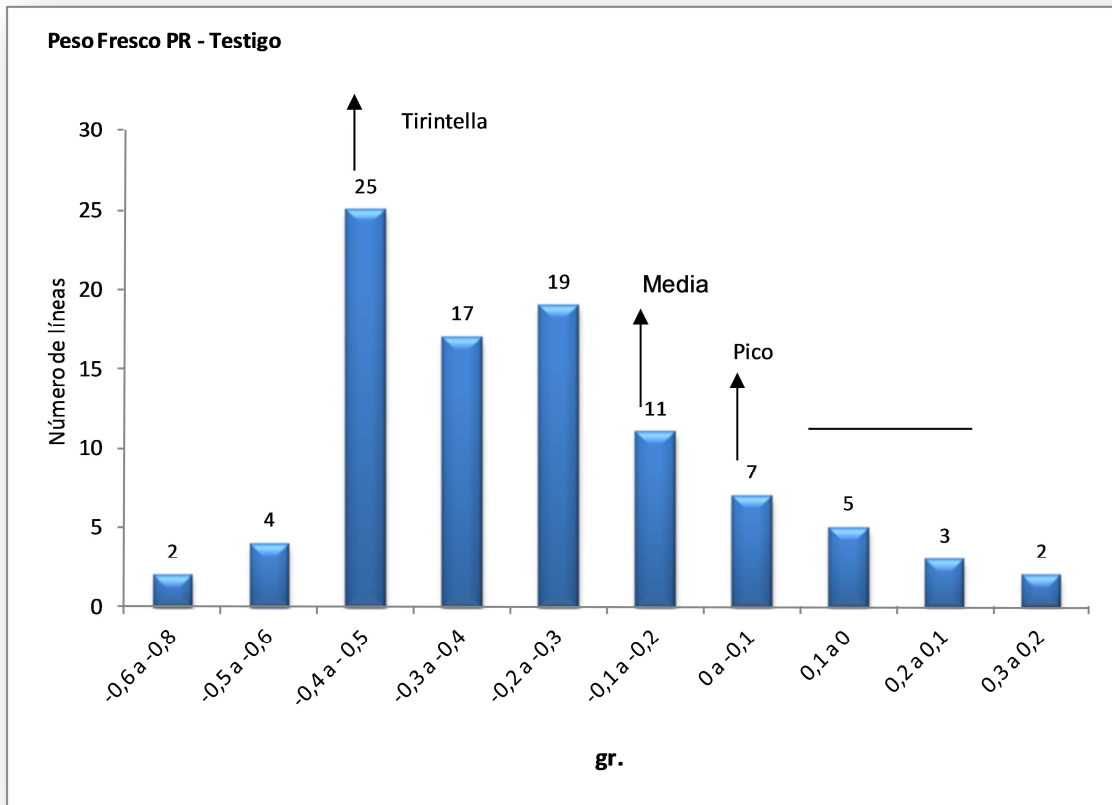


Figura 18: Evaluación del incremento relativo del PF en 93 DHR de trigo. Se indica los valores promedio de la población y de ambos padres (Tirintella; Pico) con flechas y el Desvío Estándar con una línea horizontal.

Al evaluar el **PS**, la línea progenitora Tirintella presentó un incremento de peso significativamente menor que el padre Pico. Al igual que para el PF, Tirintella se comportó como susceptible, dada las diferencias con su testigo (Figura 19). Se observó además que del total de DHR, 44 líneas bajo infestación tuvieron un incremento relativo de **PS** no significativamente distinto al de sus testigos, mostrando un comportamiento de tolerancia. Otras cinco DHR mostraron un incremento relativo de **PS** significativamente superior al del testigo, además las mismas presentaron un incremento mayor al del padre tolerante Pico, comportándose como muy tolerantes. El resto de las plantas que evidenciaron diferencias significativas resultaron susceptibles al daño del PRT (Figura 19).

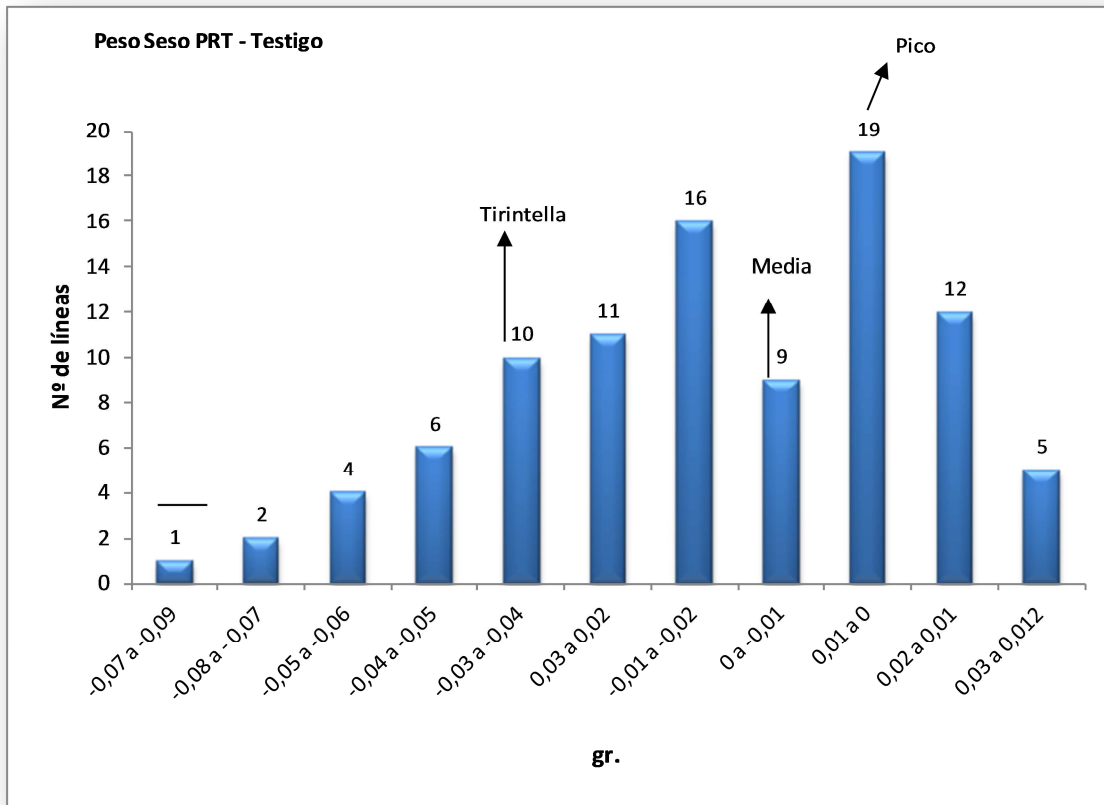


Figura 19: Evaluación del incremento relativo del PS en 93 DHR de trigo. Se indica los valores promedio de la población y de ambos padres (Tirintella y Pico) con flechas y el Desvío Estándar con una línea horizontal.

En el estudio del contenido total de clorofila (**CTC**), no existieron diferencias en el incremento del contenido total entre ambos progenitores (Figura 20). Del total de líneas evaluadas bajo infestación, 82 mostraron un comportamiento similar a sus testigos en la diferencia del CTC. Otras 9 presentaron un contenido superior a sus testigos y al padre tolerante Pico, mostrándose muy tolerantes bajo infestación. Cuatro líneas evidenciaron un comportamiento de susceptibilidad, dado que presentaron una pérdida de clorofila que además, resultó inferior a la del padre susceptible Tirintella.



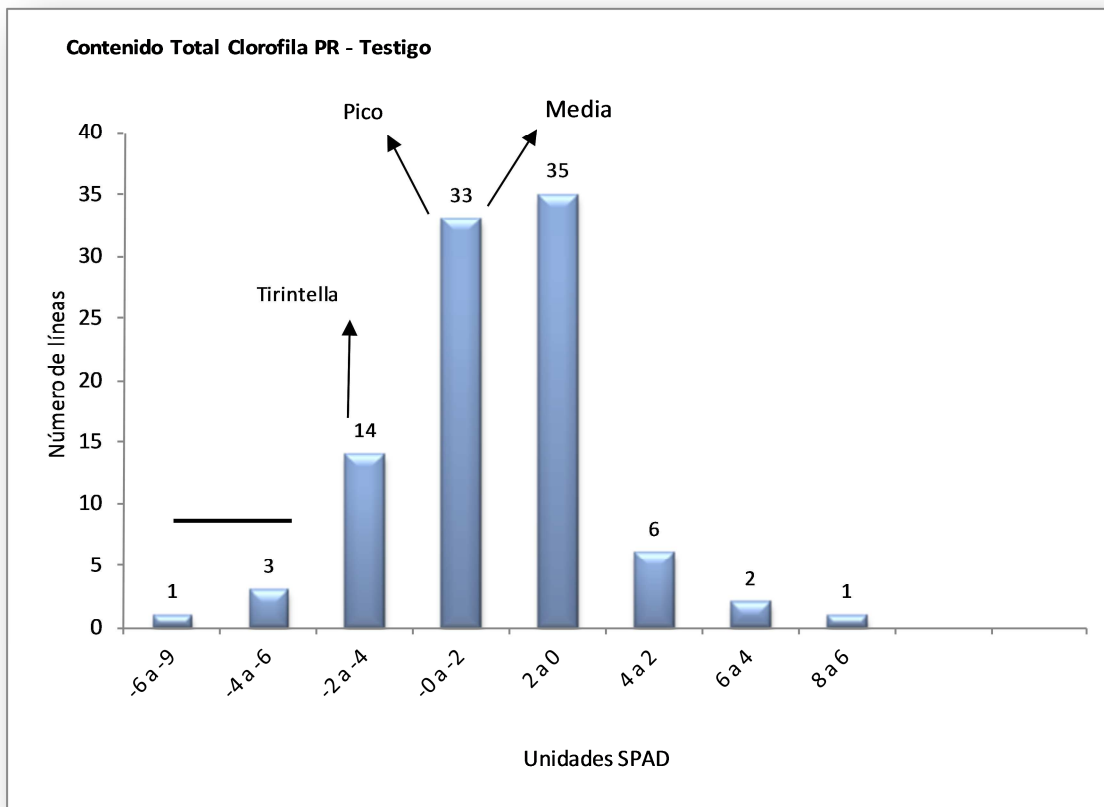


Figura 20: Evaluación del incremento relativo del CTC en 93 DHR de trigo. Se indica los valores promedio de la población y de ambos padres con flechas y el Desvío Estándar con una línea horizontal.

## Cebada

Del análisis estadístico de los resultados obtenidos surge que existieron diferencias altamente significativas ( $p < 0,001$ ) entre los genotipos para el área foliar (**AF**), el peso fresco (**PF**), el peso seco (**PS**) y el contenido total de clorofila (**CTC**) (Tabla 5).

Tabla 5: Cuadrado medio de los genotipos de cebada y el error de los parámetros Incremento Relativo del Área Foliar de las líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRAFPR-T); Incremento Relativo del Peso Fresco líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRPFPR-T); Incremento Relativo del Peso Seco líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRPSPR-T) y el Incremento Relativo del Contenido Total de Clorofila de las líneas infestadas con PRT menos el Testigo (IRCTCPR-T). \*\*\*  $p < 0,0001$ .

Parámetros	Fuente Variación	gl	CM	F	P
IRAFPR-T	Genotipo	19	83.52	83,02	<0,0001***
	Error	47	1.404		
IRPFPR-T	Genotipo	19	0.0656	0,065	<0,0001***
	Error	47	0.009		
IRPSPR-T	Genotipo	19	0.0003	2,60	0,0025**
	Error	47	0.0001		
IRCTCPR-T	Genotipo	19	42.268	10,38	<0,0001***
	Error	70	4.070		

Al evaluar el **AF** de las DHR de cebada se observaron diferencias significativas en el incremento relativo de la misma entre ambos progenitores (Figura 21); además, del total de líneas evaluadas, 11 de ellas tuvieron un comportamiento superior al del padre tolerante Angola, para el incremento de **AF** (Figura 21), de las cuales siete evidenciaron un aumento del área foliar luego de la infestación con PRT. El 50% de las líneas resultaron tolerantes a la reducción del área foliar.

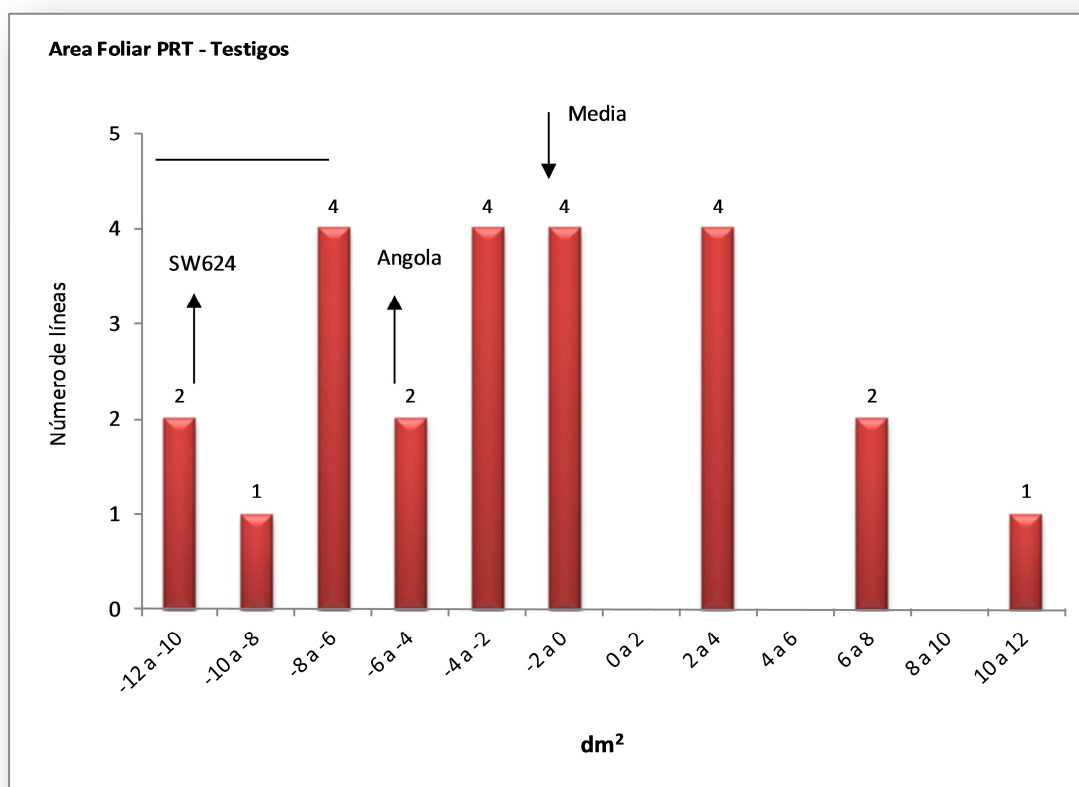


Figura 21: Evaluación del incremento relativo del AF en 20 DHR de cebada. Se indica los valores promedio de la población y de ambos padres (Angola y SW624) con flechas y el Desvío Estándar con una línea horizontal.

En la evaluación del incremento de **PF** no existieron diferencias significativas entre ambos padres (Angola y SW624) (Figura 22). Para éste carácter el padre que tuvo una mayor tolerancia a la injuria del áfido fue SW624 luego de la infestación con PRT, a diferencia de los ocurrido para el incremento relativo del área foliar, en el que presentó pérdidas. De las líneas evaluadas, 10 presentaron valores positivos en ésta variable luego de la infestación, comportándose todas ellas como tolerantes.

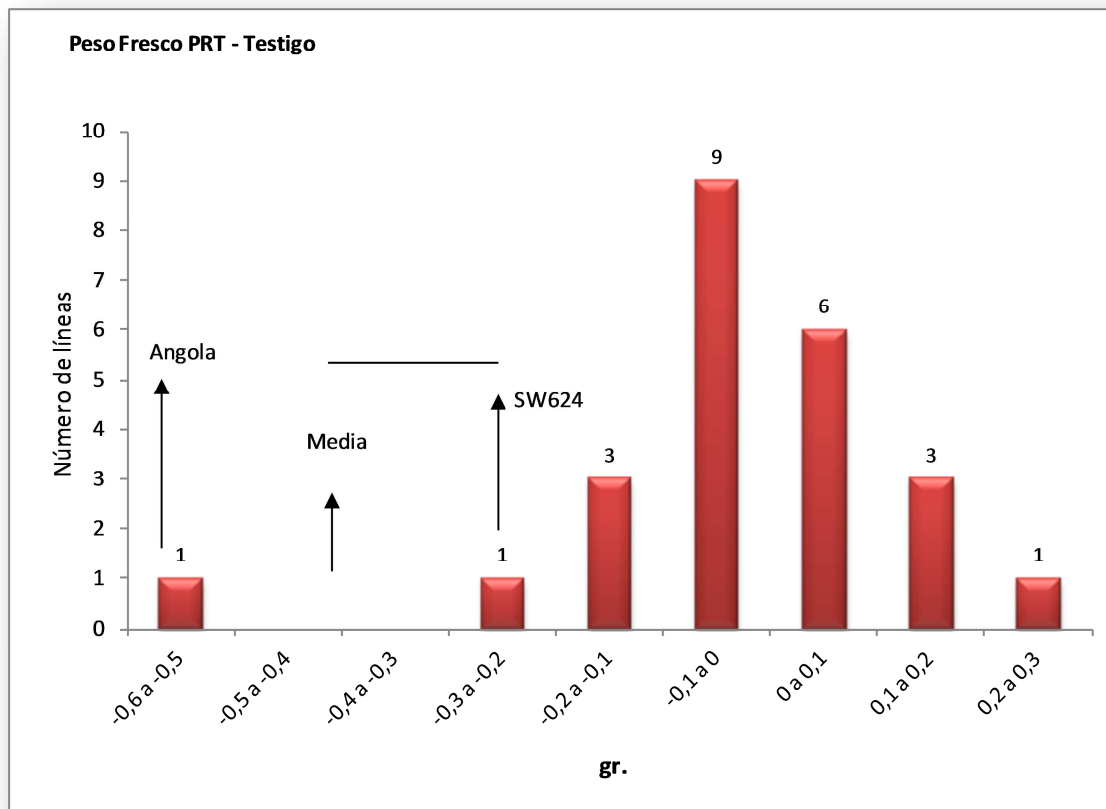


Figura 22: Evaluación del incremento relativo del PF en 20 DHR de cebada. Se indica los valores promedio de la población y de ambos padres (Angola y SW624) con flechas y el Desvío Estándar con una línea horizontal.

Por otro lado a partir de las mediciones del **PS**, se observó que ambos progenitores presentaron un comportamiento similar en el incremento relativo del **PS**, y no se observaron diferencias significativas entre los mismos (Figura 23). En dicho parámetro, 13 líneas mostraron un **PS** superior al del padre que evidenció una mayor tolerancia (Angola). Si bien el incremento relativo de peso luego de la infestación con PRT fue pequeño, no sufrieron pérdidas con respecto sus testigos.

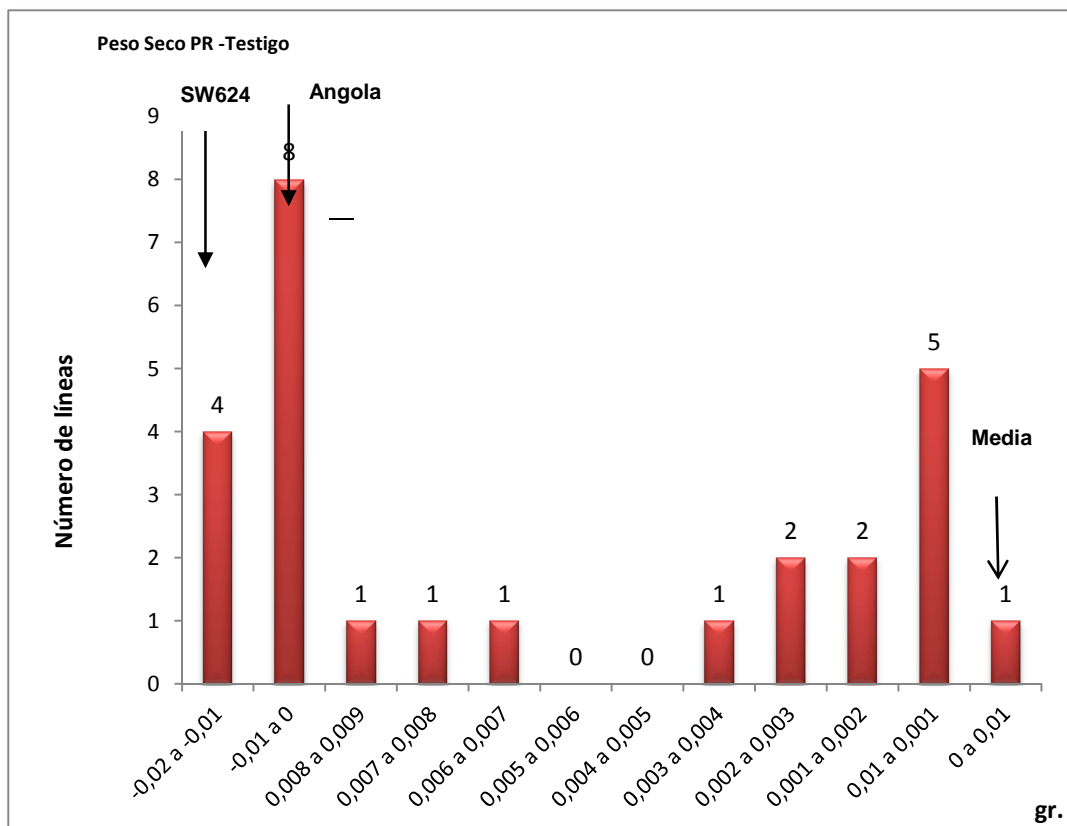


Figura 23. Evaluación del incremento relativo del Peso Seco (PS) en 20 DHR de cebada. Se indica los valores promedio de la población y de ambos padres (Angola y SW624) con flechas y el Desvío Estándar con una línea horizontal.

A partir de la medición del **CTC** surge que existieron diferencias significativas en el incremento relativo de la misma entre ambos progenitores (Figura 24). Nueve líneas sufrieron una disminución en el **CTC** comportándose como susceptibles. En cambio, otras 11 DHR tuvieron valores similares o superiores a sus testigos y resultaron con un comportamiento equivalente al padre tolerante Angola. De ellas, dos DHR presentaron un CTC significativamente superior a dicho progenitor (Figura 24). En este parámetro aproximadamente el 50% de las DHR fueron similares o mejores que ambos padres.

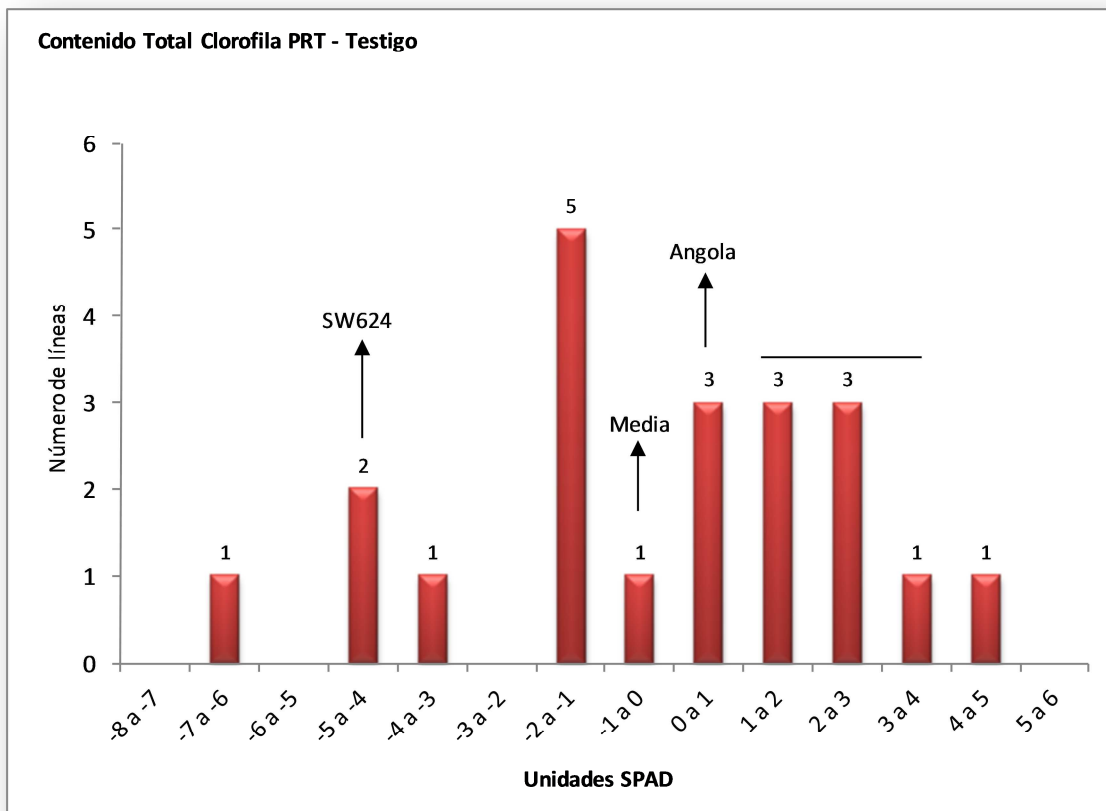


Figura 24: Evaluación del incremento relativo del CTC (Contenido Total de Clorofila) en 20 DHR de cebada. Se indica los valores promedio de la población y de ambos padres (Angola y SW624) con flechas y el Desvío Estándar con una línea horizontal.

## DISCUSIÓN

### Trigo

Si bien el incremento de **AF** resultó negativo en la mayoría de las líneas, esto no se debió a la falta de crecimiento bajo infestación sino al enrollamiento de las hojas. La existencia de tolerancia en las DHR al PRT, quedó evidenciada en los incrementos relativos de los restantes parámetros de crecimiento como el **PS** y el **CTC**.

El incremento relativo del **PF** resultó no significativo únicamente en dos DHR de trigo. Ésta variable estaría indicando que es el metabolismo del agua el más afectado por el daño del PRT, dado que al evaluar la variación en el **PS**, en 50 de las 93 líneas la materia seca no fue disminuida por el ataque del mismo. En cambio, cuando se calculó el incremento de **PF**, sólo 18 DHR presentaron un incremento similar al de sus testigos. Por ello es el metabolismo del agua el que fue afectado.

El incremento de **PS** no disminuyó o fue superior a los testigos en 50 DHR, lo que está demostrando que en ellas no se produjo una disminución del crecimiento de la biomasa aérea. Esto pone en evidencia que a pesar de una menor área foliar fotosintetizante el metabolismo de carbohidratos de éstas plantas no se vio reducido.

Con relación al incremento del **CTC** no hubo pérdidas en las líneas infestadas con pulgón ruso, de las 93 líneas totales, 88 se comportaron como tolerantes o muy tolerante.

Con respecto al comportamiento de los progenitores, en el estudio del **AF** y del **CTC**, no se observaron diferencias entre ambos para dichos componentes de la tolerancia, mientras que para el **PF** y **PS** se observaron diferencias significativas entre Tirintella, que se comportó como susceptible, y Pico como tolerante al PRT. Como consecuencia de esta diferente estabilidad en la expresión de la tolerancia de ambos padres, las DHR segregaron mostrando comportamientos similares a uno u otro progenitor, y aún con expresión de tolerancia superior al padre más tolerante o inferior al padre más susceptible. Esta característica es común en muchas especies vegetales en la herencia de caracteres complejos (de base poligénica). Se reconoce como herencia transgresiva (que excede el rango de ambos padres) y puede basarse en la composición que reúne los mejores alelos de cada poligen para aportar al carácter en

cuestión (Tocho, 2010). Además, la expresión exacerbada del crecimiento frente al ataque de insectos, recibe el nombre de crecimiento compensatorio y es típico de los genotipos tolerantes (Castro et al., 1988; van Emden 2007).

Según Gallun (1975), los diferentes mecanismos de resistencia presentes en una variedad específica definirán, en parte, la durabilidad de la misma en condiciones de campo e influirán en la formación de biotipos. La antibiosis y la antixenosis causan una mayor presión de selección sobre los insectos plaga al afectar directamente su comportamiento y biología. Gould (1998), encontró en los programas de mejora de los cultivos, al utilizar la resistencia por factores antibióticos, una adaptación de los insectos a los cultivares resistentes. Cuando los mecanismos de resistencia se manejan correctamente, es posible retrasar la adaptación de las plagas y la consecuente aparición de biotipos. El mecanismo de resistencia por tolerancia en sí, al no afectar la biología de la plaga, es poco probable que ejerza presión de selección para un biotipo, pero puede ser un mecanismo poco adecuado para ser utilizado en el manejo de los áfidos vectores de virus, dentro de los cuales se encuentra el PRT (van Emdem, 2007). Gallun (1975) propuso que el uso de germoplasma diversificado en programas de mejoramiento de la resistencia, puede ser la mejor manera de prevenir o retrasar la adaptación de las plagas de insectos.

Con respecto al efecto de los mecanismos de resistencia sobre los enemigos naturales, el DIMBOA, un ácido hidroxámico estudiado ampliamente en relación a la resistencia a los áfidos de cereales, es tóxico para la vaquita depredadora *Eriopis connexa* Germar, produciendo mortalidad en aquellas variedades de maíz con alto contenido del ácido hidroxámico. Sin embargo en variedades con niveles intermedios de DIMBOA, se produce una menor mortalidad del Coccinélido, debido a que el predador puede detectar el compuesto en los pulgones y por lo tanto, evitar la ingestión de una dosis tóxica (Martos et al., 1992).

En el caso de la avispa *Aphidius rhopalosiphi* De Stefani - Perez, como parasitoide del pulgón amarillo del trigo *M. dirhodum*, se comprobó que cuando parasitaron al áfido alimentado sobre una variedad de trigo resistente, luego de diez generaciones, el tamaño de los adultos de *A. rhopalosiphi* disminuyó de un 15 a un 50%. Sin embargo, cuando parasitaron al mismo áfido criado sobre una variedad de trigo susceptible, recuperaron su tamaño en una generación (van Emden, 2007). Esto estaría demostrando que si bien los distintos mecanismos de resistencia podrían causar un efecto sobre la supervivencia y fecundidad de los enemigos naturales, estos pueden



ser reversibles y menos nocivos que los efectos de los insecticidas de síntesis, por lo tanto su utilización en el Manejo Integrado de Plagas constituye una herramienta más amigable con el cuidado del ambiente.

La selección asistida con marcadores moleculares (SAMM), es una herramienta eficaz que permitió en los últimos años la creación de cultivares con una resistencia duradera en el tiempo, a partir de la selección de aquellos genotipos que presenten varios mecanismos de resistencia (antixenosis y/o antibiosis y/o tolerancia). La resistencia de las plantas basadas en varios mecanismos de resistencia es útil para evitar la aparición de biotipos (Ennahli et al., 2009). Los marcadores moleculares han permitido identificar y clasificar los genes que otorgan resistencia en los cultivos de mayor importancia como el trigo (Ricciardi et al., 2010). Castro y colaboradores (2004) a través de la utilización de DHR lograron identificar genes cuantitativos (QTL) en el cromosoma 7D del trigo, que le confieren resistencia por antibiosis a *S. graminum*. En estudios posteriores (Castro et al., 2005) identificaron QTLs que le confieren antixenosis a *S. graminum* y *D. noxia*, ubicados en el cromosoma 6A del trigo.

Estudios realizados por Ricciardi et al., (2010) a los fines de asociar con marcadores moleculares genes de resistencia al PRT en DHR de trigo, encontraron resultados similares al del presente estudio, ya que registraron una disminución del AF con incremento del PS y del CTC. Los autores a través de la utilización de marcadores moleculares determinaron que la tolerancia al PRT se asoció significativamente con varios QTL, que no habían sido informados previamente. Los mismos se localizaron en los cromosomas 4DS, 5DS 3BS, 1AS, 3AL y 7AL. Dichos nuevos genes se denominaron *QDn.unlp*, siguiendo las reglas de nomenclatura de genes en el trigo (Ricciardi et al., 2010).

Según estudios de numerosos autores (Baldwin & Preston, 1999; Agrawal et al. 2002, Zhang & Turner, 2008, Ricciard et al., 2010), el incremento en las tasas de los PS y el CTC, entre otros parámetros de crecimiento, podría atribuirse a la alimentación del áfido, el cual origina cambios en la planta, mediante la inducción de la expresión de diferentes genes que el crecimiento vegetal. Así la reducción de los tejidos de la hoja por daños de diferentes plagas, pueden ocasionar un aumento en las tasas de fotosíntesis. La tolerancia implica aumentos en el crecimiento y la fotosíntesis, a los fines de compensar los daños causados por las plagas (Karban & Baldwin, 1997).

## Cebada

Las DHR de cebada evaluadas en el presente estudio, evidenciaron una mayor tolerancia al PRT que las líneas de trigo, en el cual ninguna de las líneas recombinantes incrementó el **AF** luego de la infestación con *D. noxia*. En dicho parámetro un 35% de las DHR de cebada presentaron un incremento luego de la infestación. Al igual que lo ocurrido con el **AF**, el incremento del **PF** fue superior en las DHR de cebada que en trigo. Mientras en las líneas de trigo sólo el 2% de las plantas infestadas tuvieron un incremento del **PF**, en cebada el 86% de las DHR presentaron ese comportamiento. Esto pondría en evidencia que la cebada, en general, se comporta como más tolerante a la injuria del áfido, el cual produce efectos menos perjudiciales en el metabolismo del agua. Esto fue corroborado con los incrementos relativos del **PS** y del **CTC**. A pesar de haber presentado valores bajos de **PS**, la mayoría de las líneas de cebada no perdieron peso luego de la infestación. En el incremento relativo del **CTC**, el 50% de los genotipos tuvieron un comportamiento similar o superior al de sus testigos.

En el caso de las plantas de cebada infestadas con PRT se detectaron 9 QTLs asociados a dos caracteres. Estos QTLs se distribuyeron en 3 cromosomas (1H, 2H y 3H) (Tocho, 2010). Los factores ambientales, sin embargo pueden afectar a la tolerancia más que otros tipos de resistencia (Pedigo, 1989), probablemente por la presencia de genes menores que regulan en parte dicho mecanismo.

El conocimiento de las respuestas fisiológicas de la cebada al PRT es fundamental para comprender la respuesta de defensa de la cebada a la lesión de los áfidos y la identificación de los mecanismos de resistencia. Estudios realizados por Gustsche et al., (2008) señalan el impacto de la alimentación de *D. noxia* en cebada utilizando dos cultivares uno resistente "Sidney" y uno susceptible "Otis". Dichos autores realizaron mediciones de la fluorescencia de la clorofila, el contenido de clorofila y la asimilación de carbono a 1, 3, 6, 10 y 13 días posteriores a la introducción del PRT. Todos los parámetros de fluorescencia de la clorofila evaluados fueron similares entre las plantas infestadas y los controles de ambas variedades, y concluyeron además que la alimentación de *D. noxia* repercute negativamente en la capacidad fotosintética con un efecto mayor en la cebada susceptible. Por otro lado encontraron a partir de las curvas de acumulación de carbono, que la compensación se produce en la cebada resistente a los 10 días de la infestación. Las diferencias observadas en las curvas de asimilación de carbono entre el control y las plantas infestadas muestran que la

alimentación de *D. noxia*, probablemente disminuya el contenido de clorofila y la eficiencia fotosintética de las plantas como un efecto secundario pero no como el principal desencadenante de la disminución de la función de la planta hospedera.

## RESULTADOS SALIENTES MECANISMOS DE RESISTENCIA

- El PRT mostró un comportamiento diferencial en la selección de las DHR evaluadas en trigo, algunas líneas ejercieron un fuerte efecto antixenótico sobre el insecto. En la cebada, en cambio, ninguno de los genotipos presentó un marcado efecto de antixenosis sobre el áfido.
- En las líneas de trigo y cebada existen genotipos que producen en *D. noxia* un efecto de antibiosis afectando sus parámetros biológicos y poblacionales.
- Las DHR de trigo y cebada, en las que el áfido alargó el período pre-reproductivo (d), condicionaron al mismo tiempo una menor longevidad y fecundidad. Estos dos últimos parámetros fueron menores inclusive que en los áfidos criados sobre el padre tolerante, evidenciando un efecto de herencia transgresiva.
- Los genotipos de trigo por otro lado, indujeron un aumento de la tasa reproductiva diaria (Md) condicionando herencia transgresiva negativa, dado que la mayoría registró una mayor producción de ninfas/día, superior al padre susceptible. De manera similar, la tasa de incremento poblacional  $r_m$ , no se vio disminuida significativamente por lo que se infiere que el mayor aporte a la producción de ninfas se produce en los primeros días del período reproductivo.
- El mayor efecto antibiótico de las líneas de trigo sobre el PRT, se tradujo en una menor longevidad y por ende en una menor producción de ninfas totales (fecundidad).
- Con respecto a los progenitores de trigo empleados, presentaron un comportamiento diferencial en los distintos parámetros evaluados. Así para la tasa Md, la longevidad y fecundidad no se observaron diferencias entre Tirintella y Pico, mientras que para la tasa  $r_m$  y el período d, Pico se comportó como el progenitor tolerante.
- Las líneas DHR de cebada condicionaron un período pre-reproductivo similar al obtenido en los genotipos de trigo, entre 9 a 11 días, con un leve efecto antibiótico sobre el PRT.

- Entre un 20 a 25% de las DHR de cebada indujeron en el PRT un efecto antibiótico a través de una disminución de la longevidad, fecundidad total, y de las tasas  $Md$  y  $rm$ .
- No se evidenciaron diferencias entre los progenitores de cebada empleados en el estudio.
- Se identificaron distintos tipos de tolerancia de los genotipos de trigo y cebada frente a la injuria del PRT.
- En las DHR de trigo se observó una disminución del AF y del PF, con un incremento del PS y del CTC, por lo que se infiere que fue el metabolismo del agua el más afectado en dichos genotipos.
- Al comparar los progenitores Tirintella y Pico, para el AF y el CTC se comportaron de manera similar, mientras que para los Pesos Fresco y Seco, Pico al igual que para la antibiosis se comportó como tolerante. Dado el comportamiento diferencial de los padres, las DHR segregaron mostrando conductas similares a uno u otro progenitor o evidenciando herencia transgresiva, superando al padre tolerante o al susceptible.
- Las DHR de cebada se comportaron como más tolerantes al daño del PRT que el trigo, dado que se observó un incremento del AF y del PF luego de la infestación en alguna de ellas, por lo tanto hay líneas más tolerantes al PRT que en trigo.
- De igual manera para el PS y el CTC, se observaron líneas de cebada que tuvieron un incremento de los valores luego de haber sido dañadas por una carga constante del PRT.

## CONCLUSIONES

- El cribado de líneas experimentales recombinantes dihaploides provenientes del cruzamiento entre los cultivares “Tirintella” y “Pico” en trigo, y de “Angola” y “SW264” en cebada, permitió identificar materiales inéditos que producen efecto de no preferencia y de antibiosis en *D. noxia*, afectando tanto la selección de dichas hospederas como sus parámetros biológicos y poblacionales. Por otro lado, numerosas líneas DHR de trigo y cebada sufrieron la injuria del PRT afectando su crecimiento.
- Con respecto a los progenitores de trigo y cebada seleccionados, se observó que en algunas evaluaciones en los tres mecanismos de resistencia, no existieron diferencias entre el padre susceptible y el seleccionado como tolerante al PRT. Esto podría atribuirse a la variabilidad genética de las poblaciones de *D. noxia* empleadas en esta tesis, dado que se utilizó una mezcla de seis poblaciones provenientes de regiones de Argentina, contrastantes por sus condiciones agroecológicas.

## 2.5 BIBLIOGRAFÍA



**BIBLIOGRAFIA**

Agrawal, G., R. Rakwal, N. Jwa & V. Agrawal. 2002. Characterization of a novel rice gene and modulation of its expression by components of the stress signalling pathways. *Physiologia Plantarum*. 116: 87–95.

Argandoña, V. H., H. M. Niemeyer & L. J. Corcuera. 1981. Effect of content and distribution of hydroxamic acids on infestation by the aphid *Schizaphis graminum*. *Phytochemistry*. 20: 673-676.

Argandoña, V.H., J. G. Luza, H. M. Niemeyer & L. J. Corcuera. 1980. Role of hydroxamic acids in the resistance of cereals to aphids. *Phytochemistry*. 19: 1665-1668.

Awmack C.S. & S. R. Leather. 2007. Growth and Development. In: *Aphids as Crop Pests*. (eds H. van Emden and R. Harrington). London. UK. pp.135-151. ISBN 9780851998190.

Awmack, C.S., R. Harrington & S. R. Leather. 1997. Host plant effects on the performance of the aphid *Aulacorthum solani* (Homoptera: Aphididae) at ambient and elevated CO<sub>2</sub>. *Global Change Biology*. 3: 545–549.

Baldwin, I. T. & C. J. Preston. 1999. The ecophysiological complexity of plant responses to herbivores. *Planta*. 208: 137–145.

Bianchi, G., E. Lupotto, B. Borghi & M. Corbellini. 2011. Cuticular wax of wheat. *Planta* 148(4):328-331.

Birch, L. C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology*. 17: 15–26.

Blackman, R. L. & V. F. Eastop. 1984. *Aphids on the world's crops. An identification guide*. Ed. John Wiley & Sons Chichester. 466 pp.

Botha, A. M, M. A. C. Nagel, A. J. van der Westhuizen & F. C. Botha. 1998. Chitinase isoenzymes in near-isogenic wheat lines challenged with Russian wheat aphid, exogenous ethylene and mechanical wounding. *Botanical Bulletin Academia Sinica*. 39:99-106.

Botha, A. M., L. Lacock, C. van Niekerk, M. T. Matsioloko, F. B. du Preez, S. Loots, E. Venter, K. J. Kunert & C. A. Cullis. 2006. Is photosynthetic transcriptional regulation in *Triticum aestivum* L. cv. 'Tugela DN' a contributing factor for tolerance to *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae)? *Plant Cell Report*. 25: 41–54.

Burd, J. D. & N. C. Elliott. 1996. Changes in chlorophyll a fluorescence induction kinetics in cereals infested with Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economical Entomology*. 89:1332-1337.

Burd, J. D. & R. L. Burton. 1992. Characterization of plant damage caused by Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economical Entomology*. 85 (5): 2017-2022.

Burd, J.,D., R. A. Butts, N. C. Elliott & K. A. Shufran. 1998. Seasonal development, overwintering biology, and host plant interactions of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) in North América. In Quisenberry S.S. & F.B. Peairs (eds.). A response model for an introduced pest-the Russian wheat aphid. *Thomas Say Proceedings: Publications in Entomology*. Entomological Society of America, Lanham, MD. 65-69.

Carrillo Gil., L. 2009. Cistatinas de cebada: proteínas de defensa contra artrópodos. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Madrid. 213 pp.

Castro, A.M., C.P. Rumi & H.O. Arriaga. 1988. Influence of greenbug on root growth of resistant and susceptible barley genotypes. *Environmental and Experimental Botany*. 28: 61-72.

Castro, A. M, A. Vasicek, S. Ramos, A. Worland, E. Suarez, M. Muñoz, D. Gimenez & A. Clúa. 1999. Different types of resistance against greenbug, *Schizaphis graminum* Rond., and the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* Mordvilko, in wheat. *Plant Breeding*. 118: 131-137.

Castro, A. M, S. Ramos, A. Vasicek, A. Worland, D. O. Giménez, A. A. Clúa., E. Suárez. 2001. Identification of wheat chromosomes involved with different types of resistance against greenbug and Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Mordvilko) *Euphytica*. 118, 3: 321-330.

Castro, A. M. 1994: Characterization of greenbug population and clones from Argentina. In: The importance of *Hordeum chilense* for breeding aphid resistance in cereals. PhD. Thesis, 165 pp., University of Córdoba, Spain, pp. 98 -128.

Castro, A. M., A. J. Worland, A. Vasicek, C. Ellerbrook, D. O. Giménez, E. Tocho, M. S. Tacaliti, A. Clúa & J. W. Snape. 2004. Mapping quantitative trait loci for resistance against greenbug and Russian wheat aphid. *Plant Breeding*. 123: 361–366.

Castro, A. M., A. Vasicek, C. Ellerbrook, D. O. Giménez, E. Tocho, M. S. Tacaliti, A. Clúa & J. W. Snape. 2004. Mapping quantitative trait loci in wheat for resistance against greenbug and Russian wheat aphid. *Plant Breeding*. 123: 361-365.

Castro, A. M., A. Vasicek, M. Manifesto, D. O. Giménez, M. S. Tacaliti, O. Dobrovolskaya, M. S. Röder, J. W. Snape & A. Börner. 2005. Mapping antixenosis genes on chromosome 6A of wheat to greenbug and to a new biotype of Russian wheat aphid. *Plant Breeding*. 124: 229–233.

Castro, A. M., S. Ramos, A. Vasicek, A. Worland, D. Giménez, A. A. Clúa & E. Suárez. 2001. Identification of wheat chromosomes involved with different types of resistance against greenbug (*Schizaphis graminum*, Rond.) and the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Mordvilko). *Euphytica*. 118: 321-330.

Corcuera, L. J., C.B. Queirolo & V. H. Argandoña. 1985. Effects of 2-β-D-glucosyl-4-hydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one on *Schizaphis graminum* (Rondani) (Insecta. Aphididae) feeding on artificial diets. *Experientia*. 41: 514-516.

Dent, D. 2000. Host Plant Resistance. In: *Insect Pest Management*. Cambridge University Press. London UK. pp138-194.

Deol, G. S., J. C. Reese & B. S. Gill. 1997. A rapid, nondestructive technique for assessing chlorophyll loss from greenbug (Homoptera: Aphididae) feeding damage on sorghum leaves. *Journal of the Kansas Entomological Society*. 70: 305-312.

Dixon, A.F.G, 1987. Parthenogenetic Reproduction Rate of Increase in Aphids. In Minks A.M. y P. Harrewijn (eds.), *Aphids: their Biology, Natural Enemies and Control*, World Crop Pest, Elsevier, Amsterdam: pp.269-287.

Dixon, A.F.G. & S. D. Wratten. 1971. Laboratory studies on aggregation, size and fecundity in the black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. Bulletin of Entomological Research. 61: 97-111.

Dixon, A.F.G. & T. R. Dharma. 1980. Number of ovarioles and fecundity in the black bean aphid, *Aphis fabae*. Entomologia Experimentalis et Applicata 28: 1-14.

Dorschner D.W., J. D. Ryan, R. C. Johnson & R. D. Eikenbary. 1987. Modification of host nitrogen levels by the greenbug (Homoptera: Aphididae): its role in resistance of winter wheat to aphids. Environmental Entomology. 16:1007-1011.

Douglas, A. E. & H. F. van Emden 2007. Nutrition and Symbiosis. In: Aphids as Crop Pests. (eds H. van Emden and R. Harrington). London. UK. 115-130. ISBN9780851998190.

Ellerbrook, C., V. Korzun & A. J. Worland. 1999. Using precise genetic stocks to investigate the control of *Stagnospora nodorum* resistance in wheat. In: M. Van Ginkel, A. McNab, and J. Krupinsky (eds), *Septoria and Stagnospora nodorum* diseases of cereals: a compilation of global research, 134-139. CIMMYT, Mexico DF.

Ennahli, S., M. El Bouhssini, S. Grandó, R. Anathakrishnan, T. Niide, L. Starkus, S. Starkey & C. M. Smith. 2009. Comparison of categories of resistance in wheat and barley genotypes against biotype 2 of the Russian wheat aphid *Diuraphis noxia* (Kurdjumov). Arthropod-Plant Interactions 3: 45–53.

Ferraris, A. 2006. Actividad Optativa Evaluación de la tolerancia a áfidos en 24 cultivares Europeos. Fac. Cs. Agrs. Y Forestales. UNLP. Informe 56 pp.

Ferraris, A. 2006. Actividad optativa Evaluación de la tolerancia a áfidos en 24 cultivares Europeos. Curso Genética. Facultad Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP.

Flinn, M, C. M. Smith, J. C. Reese & B. Gill. 2001. Categories of resistance to greenbug biotype I in *Ae. Tauschii* germplasm. Journal of Economical Entomology. 94(2): 558-563.

Flor, H. H. 1971. Currents status of the gene-for- gene concept. Annual Review of Phytopathology. 9: 275-296.

Gallun, G., K. J. Starks, D. Guthrie. 1975. Plant resistance to insects attacking cereals. *Annual Review of Entomology*. 20: 337-57.

Gallun, R. L. & Khush, G. S. 1980. Genetic factors affecting the expression and stability of resistance. In: Maxwell, F.G. and Jennings, P.R. (eds) *Breeding Plants Resistant to Insects*. John Wiley and Sons, Chichester, pp. 63–86.

Gellner, J. L., R. W. Kieckhefer & W. E. Riedell. 1991. Seedling and mature plant response to aphid feeding in spring wheat, p. 303. In: Peters D.C., J.A. Webster & C.S. Chlouber (eds.). *Aphid-plant interactions-populations to molecules*. Proceeding. OSU Centennial Event, 12-17 August 1990, Stillwater, OK, Okla. State Univ. Div. Agric., Agric. Res. Stn. Rep. MP-132.

Givovich, A. & H. M. Niemeyer. 1995. Comparison of the effect of hydroxamic acids from wheat on five species of cereal aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 74: 115-119.

Givovich, A. & H. M. Niemeyer. 1996. Role of hydroxamic acids in the resistance of wheat to the Russian wheat Aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae). *Journal of Applied Entomology*. 120: 537-539.

Givovich, A., H. Niemeyer, J. Sandström & J. Pettersson. 1994. Presence of hydroxamic acid glucosides in wheat phloem sap, and its consequences for the performance of *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera: Aphididae). *Journal of Chemical Ecology* 20, 1923–1930.

Givovitch, A. & H. M. Niemeyer. 1991. Hydroxamic acids affecting barley yellow dwarf virus transmission by the aphid *Rhopalosiphum padi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 59, 79–85.

Gould, F. 1998. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *Annual Review of Entomology*. 43, 701-726.

Gutsche, A. R., T. M. Heng-Moss, L. G. Higley, G. Sarath & D. W. Mornhinweg. 2008. Physiological responses of resistant and susceptible barley, *Hordeum vulgare* to

the Russian wheat aphid, *Diurpahis noxia* (Mordvilko). *Arthropod Plant Interactions*. 3(4): 233-240.

Hardie, J., M. Holyoak, N. J. Taylor & D. C. Griffiths. 1992. The combination of electronic monitoring and video-assisted observations of plant penetration by aphids and behavioural effects of polygodial. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 63 233–239.

Hashimoto, T., J. Kohno & Y. Yamada. 1987. Expositation in vivo of hyoscynamine to scopolamine does not involve a dehydration step. *Plant Physiology*. 84: 144-147.

Havlickova, H. 1993. Level and Nature of the Resistance to the Cereal Aphid, *Sitobion avenae* (F.), in Thirteen Winter Wheat Cultivars. *J. Agronomy & Crop Science* 171: 133-137.

Hesler, L. S. 2005. Resistance to *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) in three triticale accessions. *Journal of Economic Entomology*. 98: 603-610.

Hori, M. 1999. Role of host-plant odours in the host-finding behaviours of aphids. *Applied Entomology and Zoology*. 34, 293–298.

InfoStat. 2008. InfoStat, versión 2008. Manual del usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición. Editorial Brujas. Córdoba. Argentina. 334 pp.

Janave, M. T. 1997. Enzymatic degradation of chlorophyll in cavendish bananas: in vitro evidence for two independent degradative pathways. *Plant Physiology and Biochemistry*. 35: 837-846.

Karban, R. & I. T. Baldwin 1997. Induced responses to herbivory. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA. 330 pp.

Keen, N. T. 1975. Specific elicitors of plant phytoalexin production: determinants of race specificity in pathogens? *Science*. 187:74-75.

Kennedy, J. S. 1986. Some current issues in orientation to odour sources. In: Payne, T.L., Birch, M.C. and Kennedy, C.E.J. (eds) Mechanisms in Insect Olfaction. Clarendon Press, Oxford, pp. 11–25.

Kennedy, J.S., C. O. Booth & W.J.S. Kershaw. 1963a. Host finding by aphids in the field. I. Gynoparae of *Myzus persicae* (Sulzer). Annals of Applied Biology. 47: 410–423.

Kennedy, J.S., C.O. Booth & W.J.S. Kershaw. 1963b. Host finding by aphids in the field II. *Aphis fabae* Scop. gynoparae and *Brevicoryne brassicae* L.; with a re-appraisal of the role of host-finding behaviour in virus spread. Annals of Applied Biology 47: 424–444.

Kerns, D. & M. Gaylor. 1992. Sublethal effects of insecticides on cotton aphid reproduction and color morph development. Southwestern Entomologist. 17: 245–250.

Klingauf, F., K.Nocker-Wenzel & U. Rottger. 1978. Die Rolle periferer Pflanzenwachse für den Befall durch phytophage Insekten. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 85: 227–237.

Kogan, M. & E. Ortman. 1978. Antixenosis a new term proposed to define Painter's "non preference" modality of resistance. Bulletin of Entomological Society of America. 24: 175-176.

Kogan, M. & J. Paxton. 1983. Natural inducers of plant resistance to insects. En: Plant resistance to insects. American Chemical Society. Hedin P. A. Ed. Washington DC. EE.UU. pp.154-171.

Kogan, M. 1975. Plant resistance in pest management. En: Introduction to Insect Pest Management. Eds: Robert Metcalf & William Luckman. Plenum, New York. pp: 103-142.

Lage, J., B. Skovmand & S. B. Andersen. 2003. Expression and suppression of resistance to greenbug (Homoptera: Aphididae) in synthetic hexaploid wheats derived from *Triticum dicoccum* x *Aegilops tauschii* crosses. Journal of Economical Entomology. 96: 202-206.

- Lage, L., B. Skovmand & S.B. Andersen. 2004. Resistance categories of synthetic hexaploid wheats resistant to the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*). *Euphytica* 136: 291–296.
- Landin, J. & U. Wennergren. 1987. Temperature effects on population growth of mustard aphids. *Swedish Journal of Agricultural Research*. 17: 13–18.
- Lara, F. M. 1991. *Princípios de resistência de plantas a insetos*. São Paulo, Ícone, 2 ed., 336p.
- Levin, D. A. 1971. Plant phenolics: An ecological perspective. *American Naturalist*. 105: 157-181.
- Liu, T. & B. Yue. 2000. Effects of constant temperatures on development, survival and reproduction of apterous *Lipaphis erysimi* (Homoptera: Aphididae) on cabbage. *Southwestern Entomologist* 25:91-99.
- Loxdale, H. D., J. Hardie, S. Halbert, R. Footitt, N. A. C. Kidd & C. I. Carter. 1993. The relative importance of short- and long-range movement of flying aphids. *Biology Review*. 68: 291-311.
- Ma, Z. & E. Bechinski. 2009. Life tables and demographic statistics of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) reared at different temperatures and on different host plant growth stages. *European Journal of Entomology*. 106: 205–210.
- Macedo, T.B., L. G. Higley, X. Ni & S. S. Quisenberry. 2003. Light activation of Russian wheat aphid-elicited physiological responses in susceptible wheat. *Journal of Economical Entomology*. 96: 194-201.
- Martos, A., A. Givovich & H. M. Niemeyer. 1992. Effect of DIMBOA, and aphid resistance factor in wheat, on the aphid predator *Eriopsis connexa* Germar (Coleoptera, Coccinellidae). *Journal of Chemical Ecology*. 18: 469-479.
- Matile P., S. Hsteiner & H. Thomas. 1999. Chlorophyll degradation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 50: 67-95.



Maxwell, F. G. & R. H. Painter. 1962. Auxin content of extracts of certain tolerant and susceptible host plants of *Toxoptera graminum*, *Macrosiphum pisi*, and *Therioaphis maculata*, and relation to host plant resistance. *Journal of Economic Entomology*. 55: 46–56.

Mayoral Canalejas, A. M. 1995. Papel de los ácidos hidroxámicos de cereales en el control de *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae). Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas. 177 pp.

Miles, P. 1999. Aphid saliva. *Biological Review*. 74: 41-85.

Miller H., D. R. Porter, J. D. Burd, D. W. Mornhinweg & R. L. Burton. 1994. Physiological effects of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) on resistant and susceptible barley. *Journal of Economical Entomology*. 87: 493-499.

Moericke, V. 1955. Über die Lebensgewohnheiten der geflügelten Blattläuse (Aphidina) unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens beim Landen. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*. 37: 29–91.

Morgham, A.T., P.E. Richardson, R.K. Campbell, J.D. Burd, R.D. Eikenbary & L.C. Sumner. 1994. Ultrastructural responses of resistant and susceptible wheat to infestation by greenbug biotype E (Homoptera: Aphididae). *Annals of the Entomological Society of America*. 87: 908-917.

Müller, F.P. 1984. Die Rolle des Lichtes bei dem Ansiedlungsverhalten zweier Rassen der Blattlaus *Acyrtosiphon pisum* (Harris). *Deutsche Entomologische Zeitschrift*. 31: 201–214.

Ni X., S.S. Quisenberry, J. Markwell, T. Heng-Moss, L. Higley, F. Baxendale, G. Sarath, y R. Klucas. 2001. In vitro enzymatic chlorophyll catabolism in wheat elicited by cereal aphid feeding. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 101:159-166.

Ni, X., S. S. Quisenberry, B. D. Siegfried & K. W. Lee. 1998. Influence of cereal leaf epicuticular wax on *Diuraphis noxia* probing behavior and nymphoposition. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89: 111–118, 1998.

Ni, X., S.S. Quisenberry, T. Heng-Moss, J. Markwell, L. Higley, F. Baxendale, G. Sarath, y R. Klucas. 2002. Dynamic change in photosynthetic pigments and chlorophyll degradation elicited by cereal aphid feeding. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 105: 43-53.

Niemeyer, H. M. 1990. The role of secondary plant compounds in aphid-host plant interactions. In: *Aphid Plant Genotype Interactions*. Campbell R. K. & R. D. Eikenbary Eds. Amsterdam – The Netherlands. pp. 187-196.

Orphanides, G. M. & D. Gonzalez. 1971. Fertility and life table studies with *Trichogramma pretiosum* Riley and *T. retortidum* (Hym: Trichogrammatidae). *Annual Review of Entomological Society of America*. 64(4):824-834.

Painter, R. H. 1951. *Insect resistance in crop plants*. The University Press of Kansas, Lawrence, 520 pp.

Pedigo, L. P. 1989. *Entomology and pest management*. MacMillan Pub. Co., New York, 646 pp.

Pettersson J., A. Quiroz & F. A. Elham. 1996. Aphid antixenosis mediated by volatiles in cereals. *Acta Agriculturae Scandinavica* 46: 125-140.

Pettersson, J. 1993. Odour stimuli affecting autumn migration of *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Homoptera). *Annals of Applied Biology* 122, 417–425.

Pettersson, W.; F.Tjallingii & J. Hardie. 2007. Host-plant Selection and Feeding. En: *Aphids as Crop Pests*. 87-113.

Pickett, J. & R. T. Glinwood. 2007. Chemical Ecology. En: *Aphids as crops pest*. Van Emdem. pp 235-260.

Powell, G., C. R Tosh & J. Hardie. 2006. Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary and applied. *Annual Review of Entomology*. 51: 309-330.

Powell, G., S.P Maniar, J. A. Pickett & J. Hardie. 1999. Aphid responses to non-host epicuticular lipids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 115–123.

Powell, G., T. Pirone & J. Hardie. 1995. Aphid stylet activity during potyvirus acquisition from plants and an *in vitro* system that correlates with subsequent transmission. *European Journal of Plant Pathology*. 101: 411–420.

Prado, E. & W. F. Tjallingii. 1997. Effects of previous plant infestation on sieve element acceptance by two aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 82: 189–200. Pub. 524 p.

Rabinovich, J. E. 1980. Introducción a la ecología de las poblaciones animales. México, C.E.C.S.A. 313 p.

Ramírez, C.C, P. P. Caballero & H. M. Niemeyer. 1999. Effect of previous exposure to hydroxamic acids in the probing behavior of the aphid *Sitobion fragariae* (Walker) on wheat seedlings. *Journal of Chemical Ecology*. 25 (4): 771-779.

Ricciardi M, E. Tocho, M. S. Tacaliti, A. Vasicek, D. O. Giménez, A. Paglione, J. Simmonds, J. W. Snap, M. Cakir & A. M. Castro. 2010. Mapping quantitative trait loci for resistance against Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop & Pasture Science*. 61, 1- 8.

Riedell, W. E. 1989. Effects of Russian wheat aphid infestation on barley plant response to drought stress. *Physiolgia Plantarum*. 77: 587-592.

Riveros Angarita, A. S. 2001. Moléculas activadoras de la inducción de resistencia, incorporadas en programas de agricultura sostenible. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 61: 4 – 11.

Salas, M. L., V. Argadoña & L. Corcuera. 1991. Conducta alimentaria del Pulgón Ruso del Trigo, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) y del pulgón de la avena, *Rhopalosiphum padi* L. (Homoptera: Aphididae) y efecto del contenido de Gravina en cebada. *Agricultura Técnica (Chile)*. 51(4): 356-361.

Saldúa L. V. & A. M. Castro. 2011. Expresión de la antibiosis y de la antixenosis contra el pulgón negro de los cereales (*Sipha maydis*) en cultivares comerciales de trigos. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*. 110 (1): 1- 11.

- SAS, Institute. 1988. SAS/STAT guide for personal computers, version 6.03 carry NC.
- Smith C. M & E. V. Boyko. 2007. The molecular bases of plant resistance and defense responses to aphid feeding: current status. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 122: 1–16.
- Smith, C. M., S. S. Quisenberry & du Toit F. 1999. The value of conserved wheat germplasm possessing arthropod resistance. *Global Plant Genetic Resources for Insect Resistant Crops*. Ed: S.L. Clement & S. S. Quisenberry. pp. 25–49. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Smith, C. M., X. Liu, L. J. Wang, M. S. Chen & S. Starkey. 2010. Aphid Feeding Activates Expression of a Transcriptome of Oxylin-based Defense Signals in Wheat Involved in Resistance to Herbivory. *Journal of Chemical Ecology*. 36:260–276.
- Southwood, T. R. E. 1994. *Ecological methods*. 2da ed. London, UK. Chapman & Hall
- Sumner, L. K., R. J. Dorschner, R. Eikenbary, R. Johnson & R. McNew. 1986. Reproduction of *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae) on resistant and susceptible wheat genotypes during simulated drought stress induced with polyethylene glycol. *Environmental Entomology*. 15: 756-762.
- Tao, W., S. S. Quisenberry, X. Ni & V. Tolmay. 2004. Aphid (Hemiptera: Aphididae) Resistance in wheat near-isogenic lines. *Journal of Economical Entomology*. 97(2): 646-653.
- Teetes, G. L., G. C. Peterson, K. F. Nwanze & B. B. Pendelton. 1999. Genetic diversity of sorghum: a source of insect-resistant germplasm. *Global Plant Genetic Resources for Insect Resistant Crops*. Ed. SL Clement & SS Quisenberry. pp. 63–85. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Tjallingii F. W. 2006. Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. *Journal of Experimental Botany*. 57(4): 739–745.
- Tjallingii, W .F. & A. M. Mayoral. 1992. Criteria for host-plant acceptance by aphids. In: Menken, S. B. J., J. H. Visser & P. Harrewijn (eds). *Proceedings of the 8th Symposium on Insect–Plant Relationships*. Kluwer, Dordrecht, pp. 280–282.

Tjallingii, W. F. 1978. Mechanoreceptors of the aphid labium. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 24: 531–537.

Tocho, E. F. 2010. Identificación y caracterización de la resistencia a *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemíptera: Aphididae) y a *Diuraphis noxia* (Hemíptera: Aphididae) en cebada cervecera (*Hordeum vulgare*). Tesis Doctoral. Universidad Nacional De La Plata. Facultad De Ciencias Naturales y Museo. 188 pp.

Tocho, E., M. Collado, M. Barragán, M. S. Tacalitti & A. M. Castro. 2004. Estudio de la variabilidad genética de la resistencia a pulgón verde (*Schizaphis graminum*) y a pulgón Ruso (*Diuraphis noxia*) en cebada. VI Congreso Nacional de trigo. Bahía Blanca, 22-24 de Octubre de 2004. pp. 383-384.

van der Westhuizen, A. J., X. M. Qian & A. M. Botha. 1998a. Differential induction of apoplastic peroxidase and chitinase activities in susceptible and resistant wheat cultivars by Russian wheat aphid infestation. *Plant Cell Reports*. 8:132–137.

van der Westhuizen, A.J., X. M. Qian & A. M. Botha. 1998b.  $\beta$ -1,3-glucanases in wheat and resistance to the Russian wheat aphid. *Physiologia Plantarum*. 103:125–131.

van Emden H. & Harrington R. 2007 (editores). *Aphids as Crop Pests*. CABI Publishing. . 717 pp. ISBN 978 0 85199 819 0.

van Emden, H.F., V.F. Eastop, R.D. Hughes & M. J. Way. 1969. The ecology of *Myzus persicae*. *Annual Review of Entomology* 14: 197-270.

Walters, M. C., F. Penn, F. du Toit, T. C Botha, K. Aalbersberg, P.H. Mewitt & S. W. Broodryk. 1980. The Russian wheat aphid. *Farming in South Africa. Leaflet Series, Wheat G3*: 1-6.

Wang, M., J. Chen, D. Cheng & G. Yuan. 2008. Epicuticular wax on wheats leaves and its relationship with cultivars resistance to wheat aphids. *Chinese Journal Applied and Environmental Biology*. 14(3): 341-346.

Warrington, S., T. Mansfield & J. Whittake. 1987. Effect of sulfur dioxide on the reproduction of pea aphids, *Acyrtosiphon pisum*, and the impact of sulfur dioxide and aphids on the growth and yield of peas. *Environmental Pollution*. 48: 285–294.

Webster J. A., K. J. Starks & R.L Burton. 1987. Plant resistance studies with Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae), a new United States wheat pest. *Journal of Economic Entomology*. 80: 944-949.

Webster J.A., K.J. Starks & R.L Burton. 1987. Plant resistance studies with Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae), a new United States wheat pest. *Journal of Economical Entomology*. 80: 944-949.

Wensler, R. J. D. 1962. Mode of host selection by an aphid. *Nature, London* 195: 830-831.

Wensler, R.J.D. 1974. Sensory innervation monitoring movement and position in the mandibular stylets of the aphid *Brevicoryne brassicae* L. *Journal of Morphology*. 143: 349-364.

Wojciechowicz-Zytko, E. & H. F. van Emden. 1995. Are aphid mean relative growth rate and intrinsic rate of increase likely to show a correlation in plant resistance studies? *Journal of Applied Entomology*. 119: 405-409.

Woodhead, S., D. E. Padgham & E. A. Bernays. 1980. Insect feeding on different sorghum cultivars in relation to cyanide and phenolic acid content. *Annual Applied Biology*. 95: 151-157.

Wu, J. & I. T. Baldwin. 2010. New Insights into Plant Responses to the Attack from Insect Herbivores. *Annual Review of Genetic*. 44:1–24.

Wyatt, I.J. & P. F. White. 1977. Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. *Journal of Applied Ecology* 14: 757-766.

Yun, D., R. A. Bressan & P. Hasegawa. 1997. Plant antifungal proteins. *Horticultural Review*. 14: 39-87.

Zhang, Y. & J. G. Turner. 2008. Wound-induced endogenous jasmonates stunt plant growth by inhibiting mitosis. *PLoS ONE* 3, e3699. Disponible en: <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0003699#s3>. Fecha de última revisión 1/11/2011.

Zúñiga, G. E. & L. J. Corcuera. 1986. Effect of gramine in the resistance of barley seedlings to the aphid *Rhopalosiphum padi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 40: 259-262.

## CAPÍTULO 3: COMPOSICIÓN BIOTÍPICA DE *D. noxia*



## INTRODUCCIÓN

El concepto de biotipo ha sido desarrollado hace más de 100 años, siendo Walsh en 1864 quien realizó el primer aporte. A pesar de ello no existe una única definición de biotipo (Shufran & Payton, 2009). Numerosos autores como Eastop (1973), Gallun & Khush (1980), Diehl & Bush (1984), lo han definido según tres aspectos: i) el biotipo es una categoría infra específica, ii) los biotipos son morfológicamente indistinguibles, iii) los biotipos difieren en la expresión de sus atributos biológicos. Si bien se ha debatido por mucho tiempo la hipótesis que los biotipos son unidades taxonómicas o evolutivas, su utilización se aplica al manejo de plagas agrícolas, especialmente en los problemas que involucran a los cultivares de plantas resistentes. En estos casos un biotipo, es una población de insectos capaz de sobrevivir, reproducirse y provocar un daño a plantas cultivadas resistentes a poblaciones de la misma especie (Shufran & Payton, 2009).

Dado que no se los diferencia morfológicamente, los biotipos se determinan por la reacción que producen sobre la planta huésped, reconocida por su resistencia y/o por ser portadora de genes de resistencia (cultivares diferenciales). De esta manera se tipifica la injuria en: viva/muerta, resistente/susceptible, etc. (Porter et al., 1997). El número de posibles biotipos es solamente limitado por el número de huéspedes diferenciales,  $2^n$ , donde  $n$  es el número de huéspedes diferenciales (Diehl & Bush, 1984). En los últimos años, se han realizado escasos estudios orientados a determinar el origen de los biotipos (Shufran & Payton, 2009).

Desde el año 1978 en que el PRT se lo identificó como una plaga grave en el cultivo de trigo y cebada en Sudáfrica y los EE.UU., los mejoradores de plantas se abocaron a la búsqueda de fuentes de resistencia al áfido. Butts & Pakendorf (1984) y Du Toit & Van Niekerk (1985) determinaron que las fuentes de resistencia a *D. noxia* existen en las especies ancestrales de trigo diploide *Triticum monococcum*, *T. timopheevi*, *T. dicoccoides* y *T. tauschii*, y en los trigos aneuploides de *T. monococcum* y *T. durum*. Otras fuentes se identificaron en centeno (*Secale cereale*) y triticale (Nkongolo et al, 1989). Nkongolo et al., (1989) encontraron que las líneas de centeno y triticale, eran moderadamente resistentes al áfido, mientras que las líneas de trigo se comportaron desde susceptibles a resistentes. Por otro lado en los híbridos interespecíficos, se observó un elevado nivel de resistencia al PRT, por tal motivo los genes que le confieren resistencia, eran accesibles para su utilización en la mejora del cultivo de trigo (Nkongolo et. al., 1990). Debido a la herencia simple de dichos genes y a la

ausencia de ligamientos desfavorables, la transferencia de la resistencia al áfido desde líneas resistentes a los cultivares adaptados, no ha prestado mayores inconveniente (Saidi & Quick, 1996).

Existen al menos once genes de resistencia a *D. noxia*, se los denomina con la abreviatura *Dn* seguida por un número, que representa el orden de descubrimiento del gen (El Bouhssini, 2011) (Tabla 1). La resistencia genética en trigo fue reportada por primera vez en el año 1989 por Du Toit en dos líneas de trigo duro. A partir de ese momento la resistencia a dicho áfido fue identificada en varias líneas de trigo y especies relacionadas. Como ejemplos de ello, Du Toit en 1989 encontró que la resistencia al PRT en dos líneas de trigo estaba dada por genes simples dominantes: *Dn1*, posteriormente localizado en el cromosoma 7D (Schroeder-Teeter et al., 1994) y *Dn2* localizado en el mismo cromosoma (Ma et al., 1998) En *T. tauschii*, Nkongolo et al., (1991) reportaron un gen recesivo de resistencia a dicho áfido, *dn3* y en la línea PI372129 un gen dominante, *Dn4*, localizado en el cromosoma 1DL (Ma et al., 1998). Otros dos genes de resistencia dominantes, *Dn5* (Saidi, 1994) y *Dn6* (Saidi, 1996), fueron ubicados en plantas monosómicas de trigo en el cromosoma 7D (Du Toit, 1995). El gen *Dn7* es un gen derivado de centeno que fue transferido del cromosoma 1RS a la translocación 1RS/1BL de trigo (Marais et al., 1994). *Dn8* y *Dn9* son genes que se co-expresan junto a *Dn5* en la línea PI294994 (Liu et al., 2001). Los genes *Dnx* y *Dny* aun no están nominados. El primero de ellos se ubica en el cromosoma 7D de trigo y del segundo se desconoce su localización (Tocho, 2010). El primer cultivar de trigo comercial resistente a *D. noxia* liberado en Estados Unidos fue "Halt" en el año 1996 (Quick et al., 1996).

Gracias a la búsqueda de fuentes de resistencia en trigos hexaploides, que pueden ser utilizados fácilmente en los programas de mejoramiento, se informó por primera vez la resistencia al PRT en dos líneas, la PI 137739 de Irán y PI 262660 de Bulgaria (Du Toit, 1987, 1988). Desde entonces, la resistencia ha sido registrada en varios cultivares de *T. aestivum* y en germoplasma no mejorado en todo el suroeste y el centro de Asia y la región del Medio-Oriente (Nkongolo et al, 1989; Zemetra et al, 1990. Quick et al, 1991; Harvey & Martin, 1990; Smith et al, 1991, Porter et al, 1993).

Tabla 1. Genes y fuentes de resistencia a *D. noxia*

Gen	Fuente de germoplasma	Referencia
<b><i>Dn1</i></b>	PI 137739	Du Toit 1987
<b><i>Dn2</i></b>	PI 262660	Du Toit 1987
<b><i>dn3</i></b>	CO 03810	Nkongolo et al., 1989
<b><i>Dn4</i></b>	Yumar	Quick et al., 1991
<b><i>Dn5</i></b>	CO 950043	Du Toit 1988
<b><i>Dn6</i></b>	CI 6501	Harvey & Martin 1990
<b><i>Dn7</i></b>	94M370	Marais et al., 1998
<b><i>Dn8</i></b>	Karee- <i>Dn8</i>	Liu et al., 2001
<b><i>Dn9</i></b>	Betta- <i>Dn9</i>	Liu et al., 2001
<b><i>Dnx</i> y <i>Dny</i> aun no están nominados</b>		

Además de las líneas PI 137739 y PI 262660, la introducción de plantas de trigo (PI "Plant Introduccion") con elevados niveles de resistencia al PRT fueron las líneas PI 372129, PI 294994, PI 262605 y PI 243781 (Nkongolo et. al, 1989; Quick, 1989; Quick et al., 1991). A través del análisis del patrón de herencia de la resistencia en las líneas de trigo PI 137739, PI 262660, PI 372129 y PI 243781, se determinó que se debe a un único gen dominante heredado de manera independiente, que fueran designados como *Dn1*, *Dn2*, *Dn4* y *Dn6*, los cuales confieren resistencia (Du Toit, 1989b; Nkongolo et al., 1991; Saidi & Quick, 1994). Marais & Du Toit (1994) reportaron que un gen dominante, *Dn5*, que otorga resistencia controlada a la línea de trigo PI 294994. Por otro lado Liu et al. (2001) informaron sobre otros dos genes de resistencia en la misma línea, el *Dn8* y *Dn9*. Hasta el momento, un total de 11 genes de resistencia han sido reportados (Shufrán & Payton, 2009; Beyer et al., 2011) (Tabla 1).

Los estudios sobre los mecanismos de resistencia implicados en algunas de las líneas de trigo, han revelado que la antibiosis, antixenosis y/o la tolerancia están involucradas. La resistencia en PI 147739, PI 262660 y PI 294994 se atribuye principalmente a la antibiosis y antixenosis (Du Toit, 1987, 1989; Smith et al., 1992), mientras que PI 262660 presenta además cierta tolerancia (Du Toit, 1989). La resistencia en la línea PI 372129 se debe principalmente a la tolerancia en combinación con un bajo nivel de antixenosis (Quick, 1989; Nkongolo et al., 1989).

La Universidad de Colorado (USA), ha desarrollado para el mercado variedades de trigo resistentes al PRT como Halt, Prairie Red, Prowers 99 y Yuma, entre otras (Thomas et al., 2002). Todas ellas poseen el gen de resistencia *Dn4* provenientes de la línea PI 372129 (Turcikum 57). Halt es un trigo semi-enano rojo invernal que está adaptado a las zonas de producción del este de Colorado (Peairs, 1990). El mismo demostró un buen grado de resistencia debido principalmente a la tolerancia, ya que el PRT puede sobrevivir en densidades poblacionales similares a las observadas en las variedades susceptibles, pero no produce en las hojas ni enrollamiento ni clorosis internerval en forma de rayas, sólo puntiforme (Figura 1) (Thomas et al., 2002). Por tal motivo la variedad Halt demostró poseer una ventaja significativa en el rendimiento, con respecto a las variedades susceptibles TAM 107 y Arapahoe. En la actualidad en los EE.UU. y Sudáfrica, se siembran grandes extensiones con variedades de trigo resistentes al PRT. Sin embargo los últimos informes indican que los cultivares resistentes portadores del gen *Dn4* son susceptibles a un nuevo biotipo de PRT, designado como biotipo B (Peairs et al., 2003).

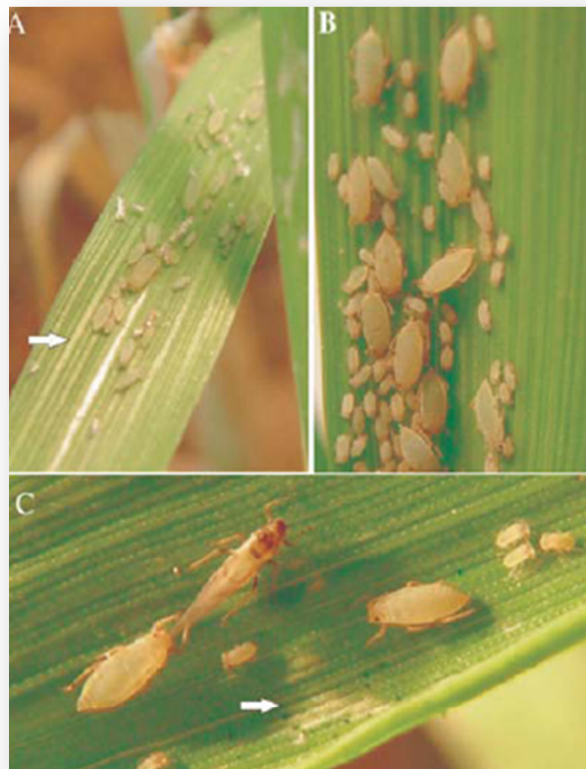


Figura 1. A: Hoja dañada por el PRT donde se observa clorosis internerval sin enrollamiento (hoja plana); B: hoja sin síntomas de clorosis internerval ni enrollamiento foliar a pesar de tener una colonia numerosa de PRT; C: clorosis puntiforme. Fuente: Botha et al., 2006.

Durante la estación de crecimiento del año 2003/2004, dos nuevos biotipos fueron reportados para el estado de Colorado, los cuales vencieron la resistencia basada en los genes *Dn4* (Haley et al., 2004) y *Dny* (Jyoti et al., 2005, Botha et al., 2006). Cuando se comparó la virulencia del biotipo 2 del PRT con la del B1, se encontró que el B2 fue el más virulento en todos los cultivares probados, y produjo lesiones en la planta más rápidamente que el B1, fundamentalmente a temperaturas más altas (Jyoti et al., 2005). Posteriormente, por lo menos cuatro nuevos biotipos aparecieron en Texas y en otros estados del centro-oeste de EE.UU y un nuevo biotipo se identificó en el sur de África (Botha et al., 2006).

El B2 es virulento a todos los genes *Dn* excepto el gen *Dn7* procedente del centeno. Las poblaciones de *D. noxia* en Asia, América del Norte y América del Sur también han demostrado poseer la capacidad de vencer la resistencia de diferentes genes de la serie *Dn*, especialmente *Dn4* (Puterka et al., 1992, Basky, 2003, Hawley et al., 2003, Smith et al., 2004).

El Centro Internacional de Mejoramiento de Trigo (CIMMYT), de El Batán, México, ha jugado un papel protagónico en el desarrollo de germoplasma de trigo. En el mismo se desarrolló la variedad de trigo hexaploide “Synthetic” gracias al cruzamiento de *T. turgidum* (trigo duro) con *Aegilops tauschii* y *T. dicoccum* con *Ae. tauschii* a los fines de generar mayores niveles de resistencia a varios tipos de estrés, tanto abióticos como bióticos (Sotelo, 2009). Es resistente al pulgón verde (*S. graminum*) biotipos E, I y K; *D. noxia* B1, y a varias enfermedades (Multani et al., 1988.; Lage et al., 2003, 2004, Ma et al., 1995, Smith & Starkey, 2003). Castro et al., (2005) identificaron en la variedad de trigo Synthetic, resistencia por antixenosis vinculada a un gen cuantitativo (QTL), cuando se lo expuso a una población del PRT virulenta a *Dn2* y *Dn4* en Argentina.

Dong et al., (1997) identificó a la variedad de trigo Cltr2401 (Cereal Introduccion triticeae) como resistente al B1 de *D. noxia* y detectó además dos genes, cada uno de los cuales se hereda como un gen dominante, que controlan dicha resistencia. En el año 2003, se observó que Cltr2401 es también resistente al B2 (Sotelo et al., 2009). Más recientemente, Collins et al. (2005) determinaron que el nivel de resistencia al B2 de Cltr2401 fue equivalente a la línea 94M370, que contiene *Dn7*.

El hábito de *D. noxia* de buscar refugio enrollando hojas, reduce la eficacia de los insecticidas y de los enemigos naturales. Por tal motivo, el uso de cultivares

resistentes al PRT es considerada una práctica viable desde el punto de vista biológico, ecológico y económico (Webster & Kenkel, 1999, Sotelo et al., 2009).

Uno de los requisitos para desarrollar cultivares resistentes a artrópodos es la identificación y categorización de fuentes de resistencia. En el mundo, más de 30.000 líneas de trigo y otros cereales han sido evaluadas para determinar su resistencia a *D. noxia*. De todas ellas cerca de 100 fuentes han sido identificadas por poseer distintos mecanismos de resistencia al áfido (Souza, 1998; Webster & Kenkel, 1999, Puterka et al., 2007). La resistencia a las poblaciones iraníes de *D. noxia*, se identificaron en genotipos de trigo, tetraploide y hexaploide (Assad, 2002; Estakhr & Assad, 2002)

Si bien los genotipos resistentes al PRT han sido desarrollados en América del Norte y Sudáfrica, han aparecido formas virulentas del áfido en África, Asia, Europa, América del Norte y América del Sur que han logrado vencer la resistencia de los genes *Dn* (Basky, 2003, Haley et al., 2004, Smith et al., 2004, Tolmay et al., 2007). Por lo tanto, existe una necesidad inmediata de identificar y caracterizar el comportamiento de las poblaciones argentinas de *D. noxia*, frente a las fuentes de resistencia a los nuevos biotipos a los fines de identificar la presencia de biotipos en Argentina, capaces de dañar las mismas.

## **HIPÓTESIS**

En las poblaciones Argentinas de *D. noxia*, existen biotipos del áfido con características diferenciales a las encontradas en otras partes del mundo, capaces de dañar cultivares de trigo portadores de fuentes de resistencia al PRT.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la composición biotípica de poblaciones Argentinas de *D. noxia*, mediante el empleo de cultivares diferenciales portadores de genes de resistencia biotipo-específicos.

## MATERIALES Y METODOS

### Ensayos de campo

#### *Población de D. noxia:*

Se utilizó la misma mezcla de seis poblaciones del PRT provenientes de distintas regiones del país, utilizadas para los estudios de los mecanismos de resistencia al PRT (Capítulo 2).

#### *Material vegetal*

Se utilizaron cultivares diferenciales de trigo, caracterizados por ser portadores de los distintos genes de la serie “Dn”, que otorgan resistencia a los biotipos designados en EE.UU., y de fuentes de resistencia de las que se desconocen dichos genes, denominadas “Líneas Novel” (Tabla 1). Dichos materiales, fueron provistos por el Dr. Lage del CIMMYT (Centro Internacional de Mejora de Maíz y Trigo de México), se sembraron el 15 de Julio de 2007 en un invernáculo de la Cátedra de Genética (Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP), bajo condiciones ambientales no controladas. A los fines de evitar contaminaciones con otras especies de áfidos y de proteger el material de los enemigos naturales, se cubrió la totalidad del ensayo con una malla de red fina (organza), tanto en los laterales como el techo de la superficie cultivada.

La siembra se realizó siguiendo un diseño de bloques al azar con 2 repeticiones, incluyendo 18 cultivares y fuentes de resistencia. Cada línea (diferenciales y noveles) se sembró a chorrillo, en una parcela de 30 x 30 cm, con aproximadamente 70 plantas. Se empleó como testigo susceptible el cultivar Seri y como testigos resistentes a Synthetic y Cltr2401 (Figura 1).





Figura 1. Disposición de las parcelas de los cultivares diferenciales y líneas Novel para la evaluación de la composición biotípica de *D. noxia*.

Al mes de realizada la siembra, cuando las plantas de trigo tenían dos a tres hojas verdaderas, se infestaron con 10 pulgones adultos ápteros por planta. Se realizaron observaciones semanales agregando insectos, en caso de ser necesario, en aquellas parcelas en las que se observó una baja densidad poblacional.

La primera observación se realizó a los 21 días de la infestación (Tabla 1), evaluando el nivel de daño, asignándose un puntaje en grados de 0 a 5, donde 0 correspondió a planta sana y 5 a planta muerta. En la evaluación del daño se consideró el nivel de estriado, el vigor y la altura de la planta. Además se evaluó el enrollamiento foliar, considerando si la hoja se encontraba enrollada (E) o plana (P). La segunda evaluación se realizó a los 51 días de iniciada la infestación, registrando los mismos parámetros que en la primera (Tabla 1). En todos los casos se evaluó planta a planta y se obtuvo un promedio por parcela.

### Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y Test de Tuckey previa transformación con raíz cuadrada ( $\alpha=0,05$ ) (InfoStat 2008)

### **Ensayos de laboratorio**

Se realizaron los ensayos de tolerancia en laboratorio, utilizando los mismos cultivares evaluados en el estudio de campo. El mismo se realizó bajo condiciones ambientales controladas, en el invernadero de la Cátedra de Terapéutica Vegetal (Fac. Cs. Agrarias y Forestales, UNLP) a 20 °C ( $\pm 2$ ) y 16:8 horas de fotoperíodo. Se estudiaron siguiendo la misma metodología empleada en el capítulo de mecanismos de resistencia (tolerancia) a través de los índices de crecimiento de las plantas como el área foliar (AF), el contenido total de clorofila (CTC) y peso seco aéreo (PS) en las plantas infestadas y sus correspondientes testigos. De manera similar, siguiendo la metodología empleada en el capítulo de no preferencia, se evaluó el nivel de antixenosis de los 18 cultivares de trigo, cuando fueron sometidos a una infestación controlada de PRT.

### **Análisis estadístico**

Se aplicó un diseño estadístico totalmente al azar. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el Test de Kruskal Wallis y por comparación de medias de a pares (InfoStat, 2008)

## RESULTADOS

### Ensayo de campo

#### Primera lectura

De la totalidad de los cultivares y fuentes de resistencia evaluadas, a los 21 días de iniciada la infestación, se observaron diferencias altamente significativas en el nivel de daño producido por el PRT (F: 174,40  $p < 0,0001$ ) (Tabla 1).

Los dos testigos resistentes (Cltr2401 y Synthetic) tuvieron un buen comportamiento en la primera lectura, con un grado de daño foliar menor a 1,5 y hoja plana (Figura 2), sin embargo, varias líneas presentaron un mayor grado de tolerancia frente a la injuria de *D. noxia* (Tabla 1). Dentro de estas últimas, la línea portadora del gen *Dn2* (que presentó hoja enrollada (Tabla 1) y la mayoría de las líneas Novel del CIMMYT (14, 2, 1, 15, 17 y 19) registraron un nivel de daño menor a 1,5 y hoja plana en la primera observación (Tabla 1).

Entre los cultivares que presentaron un comportamiento de tolerancia intermedia (con un daño entre 1,5 y 3,5) se ubicaron el cultivar portador del gen *Dn7* (Diferencial 7) junto a la línea CIMMYT 20, seguida por el testigo susceptible Seri, la línea Diferencial 3 (portadora del gen *dn3*), Diferencial 1 (con el gen *Dn1*) y Diferencial 5 (con el gen *Dn5*) (Tabla 2). En estas tres últimas líneas, se observó enrollamiento foliar. Por otro lado, dentro de los materiales más afectados se ubicaron la línea CIMMYT 33 y por último la línea Diferencial 4 (gen *Dn4*), siendo este el cultivar más dañado a los 21 días de iniciada la infestación (Tabla 1).



Figura 2. Hoja de trigo con daño por clorosis pero sin enrollamiento foliar en un cultivar resistente al PRT. Fuente: Prescott et al., 2001. CIMMYT, México.

Tabla 1: Diferenciales de trigo utilizados para la determinación de la composición biotípica de *D. noxia* en Argentina. Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente ( $\alpha=0,05$ ).

	Características	Genes resistencia	Infestación Hojas expandidas 20/08/2008	Daño 0 – 5 10/09/2008 1ª lectura	Tipo de Hoja	Daño 0 – 5 10/10/2008 2ª lectura
<b>Cltr2401 (TT)</b>	Resistente a B1 y B2	Desconocida	3 <sup>a</sup>	1,3 ef	Plana	2,5 d
<b>Synthetic (TT)</b>	Resistente a B1 y B2	Desconocida	2 <sup>a</sup>	1,2 de	Plana	2,5 d
<b>Seri (TS)</b>	Susceptible B1 y B2		3 <sup>a</sup>	2,4 h	Enrollada	4 g
<b>Diferencial 1</b>	Susceptible B2 Resistente a B1	Dn1	3 <sup>a</sup>	2,8 i	Enrollada	5 j
<b>Diferencial 2</b>	Resistente a B1 Susceptible a B2	Dn2	3 <sup>a</sup>	1 cd	Enrollada	4,2 h
<b>Diferencial 3</b>	Resistente a B1 Susceptible B2	dn3	3 <sup>a</sup>	2,5 h	Enrollada	5 j
<b>Diferencial 4</b>	Susceptible B2 Resistente a B1	Dn4	3 <sup>a</sup>	4,5 l	Enrollada	5 j
<b>Diferencial 5</b>	Resistente a B1 Susceptible B2	Dn5	3 <sup>a</sup>	3,35 j	Enrollada	5 j
<b>Diferencial 7</b>	Resistente a B1 y B2	Dn7	3 <sup>a</sup>	2 g	Plana	3 e
<b>CIMMYT 1</b>		Novel	2 <sup>a</sup>	0,75 bc	Plana	1,2 b
<b>CIMMYT 2</b>		Novel	3 <sup>a</sup>	0,5 b	Plana	2 c
<b>CIMMYT 14</b>		Novel	3 <sup>a</sup>	0,2 a	Plana	0,75 a
<b>CIMMYT 15</b>		Novel	3 <sup>a</sup>	1 cd	Plana	3,8 f
<b>CIMMYT 16</b>		Novel	3 <sup>a</sup>	3,8 k	Plana	5 j
<b>CIMMYT 17</b>		Novel	3 <sup>a</sup>	1,3 ef	Plana	5 j
<b>CIMMYT 19</b>		Novel	3 <sup>a</sup>	1,5 f	Plana	5 j
<b>CIMMYT 20</b>		Novel	3 <sup>a</sup>	2 g	Enrollada	5 j
<b>CIMMYT 33</b>		Novel	3 <sup>a</sup>	2,8 i	Plana	4,8 i

**B1:** Biotipo 1; **B2:** Biotipo 2; \* Collins et al., 2005; **TT:** Testigo Tolerante; **TS:** Testigo Susceptible.

Al comparar el nivel de daño de los cultivares diferenciales estudiados, la línea Diferencial 2 (gen *Dn2*) fue la que presentó mejor comportamiento, seguida por la Diferencial 7 (gen *Dn7*) (daño foliar de 1 y 2, respectivamente). En base a estos resultados podría inferirse que, dado que *Dn2* sólo es resistente al Biotipo 1 (B1) y que *Dn7* también es resistente a B2 y B5 (Tabla 3), los biotipos presentes en las poblaciones Argentinas de *D. noxia* serían el B1, B2\* y B5\*. Al B2 lo denominamos B2\* porque la línea Diferencial 2 (*Dn2*) no mostró susceptibilidad a ese biotipo local (Tabla 2). De igual modo, al B5 se lo identifica como B5\* puesto que el gen *Dn2* no otorga resistencia a ese biotipo (Tabla 2), sin embargo bajo infestación con las poblaciones

Argentinas dicho gen mantuvo resistencia (Tabla 2). Esto vuelve a corroborarse al observar que el cultivar diferencial con peor comportamiento fue el portador del gen *Dn4* (susceptible al B2, resistente al B5; Tabla 2). Por tal motivo en las poblaciones Argentinas del PRT, existiría el Biotipo 2\* y el Biotipo 5\*. Estos biotipos tendrían características diferentes al B2 y B5 encontrados en EE.UU., dada la reacción de los cultivares diferenciales portadores de *Dn1* (susceptible a todos los biotipos de EE.UU., que frente a las poblaciones locales de PRT mantuvo mayor resistencia que *Dn4* y *Dn5*, *Dn2*, *Dn4* y *Dn7* (Tabla 2). Por otro lado el testigo Seri, a pesar de su condición de susceptible a todos los biotipos de EE.UU., presentó un nivel de daño intermedio, confirmando las diferentes características de los biotipos B2\* y B5\* de las poblaciones locales.

Tabla 2: Respuesta de los distintos genes de resistencia a los 5 biotipos identificados en EE.UU. según Puterka et al., 2007.

GENES DE RESISTENCIA/ RESPUESTA DEL CULTIVAR									
BIOTIPOS	Dn1	Dn2	Dn3	Dn4	Dn5	Dn6	Dn7	Dn8	Dn9
<b>B1</b>	S	R	R	R	R	R	R	S	S
<b>B2</b>	S	S	S	S	S	S	R	S	S
<b>B3</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>B4</b>	S	S	S	R	S	R	S	S	S
<b>B5</b>	S	S	S	R	R	R	R	S	S

S: Susceptible; R: Resistente

### Segunda lectura

A los 51 días de la infestación, los genotipos evaluados presentaron diferencias altamente significativas (F: 1452,01;  $p < 0,0001$ ). Los menores niveles de daño (< 1,5) se observaron en las líneas Novel de CIMMYT 14 y 1, que mantuvieron un comportamiento similar a la primera lectura (Tabla 1).

Con un comportamiento intermedio en el nivel de daño (entre 1,5 y 3,5), se ubicaron Cltr2401, Synthetic, y la línea portadora de *Dn7* y CIMMYT 2, todas con hoja plana (Tabla 2). Finalmente, dentro de las líneas que presentaron mayores niveles de injuria producida por el PRT, se encontraron los cultivares diferenciales portadores de los genes de resistencia *Dn1*, *Dn3*, *Dn4* y *Dn5* que resultaron muertas y dentro de las líneas Novel las CIMMYT 15 y 33 (Tabla 1). Dentro de los diferenciales, se destaca la línea portadora del gen *Dn2*. La misma en la primera lectura tuvo un buen comportamiento (a pesar de tener las hojas enrolladas), en la segunda lectura

presentó un daño elevado (de 4,2 Tabla 1). Como puede observarse en la Tabla 1, el resto de las líneas estudiadas resultaron muertas.

El único cultivar diferencial que en la segunda lectura evidenció un comportamiento de tolerancia intermedia, fue la línea portadora del gen *Dn7* (que otorga resistencia a B2 y a B5). Por tal motivo podría inferirse que en nuestras poblaciones de PRT, estarían presentes el B2\* y el B5\* (biotipos locales). Los únicos materiales que mantuvieron resistencia a las poblaciones Argentinas del PRT, fueron los controles resistentes (Cltr2401 y Synthetic) y las líneas Noveles de CIMMYT 14, 1 y 2.

Estos datos indican nuevamente la presencia de nuevos biotipos en nuestras poblaciones, dado que ninguna de las otras fuentes *Dn* mantuvo un comportamiento de resistencia estable.

### **Evaluación de cultivares diferenciales en condiciones de laboratorio**

A los 6 días de la infestación existieron diferencias significativas entre los diferenciales y líneas noveles estudiadas (H: 173;  $p < 0,0001$ ). El cultivar Cltr2401, presentó un menor estriamiento foliar (Tabla 3), sin embargo a diferencia del estudio realizado a campo, los áfidos provocaron en laboratorio enrollamiento en las hojas.

La fuente de resistencia portadora del gen *Dn2*, mostró una tolerancia media en las nuevas condiciones de análisis. En cambio, el Diferencial 7 (*Dn7*) presentó un nivel de daño similar a Cltr2401, pero manteniendo la hoja plana. Otras líneas experimentales seleccionadas, fueron sin embargo menos afectadas que dichas fuentes (1, 17 y Synthetic), con un mejor comportamiento, que se evidenció por un menor estriado (Tabla 3). Además las líneas 17 y Synthetic no mostraron enrollamiento al igual que la fuente *Dn7*.

A los 21 días de infestación se determinaron diferencias significativas (H: 167,01;  $p < 0,0001$ ) manteniéndose el comportamiento descripto. Al evaluar el área foliar las líneas que menores pérdidas presentaron fueron Seri (testigo susceptible), 14, 20, 16, 19, 17 y 2. De todas ellas sólo la línea 17 y el cultivar Seri no enrollaron las hojas al igual que Synthetic.

En cuanto al contenido de clorofila se registraron diferencias altamente significativas (H: 177,89;  $p < 0,0001$ ). Los cultivares Seri, Synthetic y la fuente *Dn7*, fueron las que

mostraron una menor pérdida a los 21 días de la infestación. Sorprendentemente el control tolerante CINTR2401 evidenció niveles significativos de pérdida de clorofila aun en ausencia de estriado.

El PS fue posiblemente el parámetro más afectado por la injuria del PRT, encontrando diferencias altamente significativas (H: 177,7;  $p < 0,0001$ ). Para este parámetro, la línea 14 tuvo el mejor comportamiento con una menor pérdida, aunque fue considerable la disminución de su contenido de clorofila. Con estos resultados se demostró que ante las fuentes de resistencia de EE. UU., las poblaciones del PRT de Argentina no presentan un comportamiento equivalente a poblaciones de *D. noxia* de otras partes del mundo.

Al evaluar la preferencia de los insectos frente a los materiales ensayados se encontraron diferencias altamente significativas (H: 176,87;  $p < 0,0001$ ). Las líneas 1, *Dn7* y *Dn2* mostraron los mayores niveles de antixenosis. Los cultivares Synthetic, Cltr2401 y las líneas 18 y 19 fueron medianamente antixenóticas (intermedias); en cambio Seri y las líneas 2, 3 y 15 resultaron altamente preferidas.

Tabla 3. Evaluación de los cultivares diferenciales y fuentes de resistencia en condiciones de laboratorio.

Líneas	6 días infestación		21 días infestado PRT				21 días Testigos				Diferencias		
	Antix.	Daño	Daño	AF	CTC	PS	HE	AF	CTC	PS	AFT-PR	CTCT-PR	PST-PR
<b>Citr2401</b>	3 d	0,9-E a	E	8,23	7,9	19,5	1,8	11,61	18,4	33,5	3,38 f	10,5 k	14 l
<b>Synthetic</b>	3,3 e	1,2-P b	P	9,21	32	29	2	20,24	32,3	66,5	11,03 k	0,3 b	37,5 n
<b>Seri</b>	5,5 k	2-P d	P	8,64	21	20	2	8,60	20,7	26,5	-0,03 a	-0,3 a	6,5 f
<b>Dn1</b>	5,6 jk	2,5 E e	E	8,75	5,3	26,3	3,5	14,9	13	31	6,15 h	7,7 g	4,7 c
<b>Dn2</b>	2,2 c	2-E d	E	8,20	9,5	23,5	2,5	11,38	15,2	33	3,18 l	5,7 d	9,5 h
<b>Dn3</b>	3,4 f	2,5-E e	E	9,22	5	25	3	15,33	12,7	37,5	6,11 h	7,7 g	12,5 k
<b>Dn4</b>	8,75m	4-E g	E	5,06	8,75	19,7	5	16,33	15,7	33,5	11,27 kl	6,95 f	13,8 l
<b>Dn5</b>	7,6 l	3-E f	E	5,88	7,66	16,3	5	14,5	13,9	28,5	8,62 j	6,24 e	12,2 j
<b>Dn7</b>	1 b	1-P ab	P	10,36	13,9	32,5	2	17,84	14,3	36	7,47 i	0,4 b	3,5 b
<b>CIMMYT1</b>	0,66 a	1P ab	P	6,91	14,1	16,5	2,3	12,13	24,3	27	5,22 g	10,2 j	10,5 i
<b>2</b>	10 n	3E f	E	7,21	10,6	22,5	2,25	10,23	20	32	3,02 de	9,4 i	9,5 h
<b>14</b>	4 gh	1,5-E c	E	4,99	1,3	15,5	2,5	7,03	23,8	16	2,04 b	22,5 o	0,5 a
<b>15</b>	7,4 l	2,5-E e	E	5,86	17,5	19,5	3	17,8	20,3	30	11,93 m	2,8 c	10,5 i
<b>16</b>	4,1 h	2-E d	E	7,79	7	20,5	2,8	10,66	19,7	26	2,87 d	12,7 l	5,5 d
<b>17</b>	4,6 i	1,5-P c	P	13,68	13,6	35	3	16,85	29	40,5	3,17 ef	15,4 m	5,5 d
<b>19</b>	3,8 fg	2,7-E e	E	7,87	10	24,5	2,8	10,78	16,9	33,5	2,90 d	6,9 f	9 g
<b>20</b>	5,4 j	2-E d	E	7,46	12,1	21	3	9,88	20,8	27	2,42 c	8,7 h	6 e
<b>33</b>	10 n	4,5 P h	E	5,77	8,5	20,5	2,25	17,24	28,4	43,5	11,47 l	19,9 n	23 m

**Antix:** Antixenosis (Nº individuos); **D1-7:** Diferenciales; **CIMMYT 1-33:** Líneas Novel CIMMYT; **AF:** Área Foliar; **CTC:** Contenido Total Clorofila; **PS:** Peso Seco; **AFPRT-T:** Área Foliar infestada con Pulgón Ruso del Trigo menos el Testigo; **PSPRT-T:** Peso Seco infestada con Pulgón Ruso del Trigo menos el Testigo; **CTC-T:** Contenido Total Clorofila infestada con Pulgón Ruso del Trigo menos el Testigo. **E:** estriado, **P:** hoja plana. **HE** Hojas Expandidas



## DISCUSIÓN

Estudios realizados en EE.UU. por Weiland et. al., (2008), quienes evaluaron la virulencia de cinco biotipos del PRT (B1, B2, B6, B7 y B8), encontraron que los diferenciales de trigo portadores del gen *Dn7* y el cultivar CITr2401, fueron los que demostraron poseer resistencia a todos los biotipos evaluados. A estas conclusiones arribaron a través del grado de enrollamiento y de clorosis foliar a las tres/cuatro semanas de la infestación. Dado el comportamiento que evidenciaron en este estudio dichos diferenciales, que presentaron una tolerancia media, se estaría en condiciones de confirmar la presencia de, por lo menos, dos biotipos diferentes a los hallados en el país del norte.

A nivel mundial Smith et al., (2004) determinaron la presencia del B2 en República Checa, Chile y Etiopía, cuya aparición fue simultánea a la de los EE.UU. Esta aparición global del B2, no podría explicarse fácilmente (Shufrán & Payton, 2009). El hecho que ocurriera una nueva introducción de PRT, como se intentó justificar la aparición del nuevo biotipo en EE.UU., no es muy veraz. Se planteó que el B2 ingresó junto a la población original a comienzos de 1980, y por su baja frecuencia en la población no fue detectado. A partir del año 1996, momento en el cual comenzó a cultivarse el trigo "Halt" (portador del gen *Dn4*), la presión de selección de los nuevos trigos mejorados cultivados en gran escala, permitió el incremento poblacional de ese biotipo y su detección en el año 2003. En Argentina el único intento privado de incluir el gen *Dn4* a trigos comerciales, no llegó a la producción, dado que las líneas portadoras experimentales resultaron susceptibles (Castro, com. pers.).

Se encuentra ampliamente aceptado que, la presión de selección de los cultivares resistentes, constituye un desencadenante en la aparición de los biotipos (Burd et al., 2006). Esto es posible en países como EE.UU. y Sudáfrica, en donde los materiales de trigo mejorados con genes de resistencia, se encuentran ampliamente difundidos, sembrándose anualmente millones de hectáreas. No es el caso de Argentina, donde se cultivan variedades de trigo en los que en su proceso de mejora, no se han incorporado los genes de la serie *Dn*. Por tal motivo, deben existir otros factores desencadenantes de la aparición de biotipos.

Porter et al., (1997) realizaron una cronología entre la aparición de los biotipos y el comienzo de la utilización de cultivares comerciales resistentes al áfido, y encontraron que no existiría correlación entre ambos. Estudios más recientes afirman que las razas

adaptadas al huésped probablemente evolucionaron sobre gramíneas silvestres y luego invadieron los cereales cultivados. Por lo tanto, los hospederos no cultivados juegan un rol importante en el origen y mantenimiento de la diversidad de los biotipos (Anstead et al., 2003).

Si se lo compara con la evolución de los biotipos del “pulgón verde de los cereales” *S. graminum*, Burd & Porter (2006) realizaron un relevamiento de los biotipos del áfido en los EE.UU., encontrando cinco de los nueve biotipos iniciales y 13 biotipos nuevos. Sorprendentemente los más virulentos fueron los colectados sobre gramíneas silvestres. Los autores sugieren que para el desarrollo de cultivares resistentes en nuevos planes de mejora, no se tenga en cuenta el biotipo dominante sino los biotipos locales.

Estos conceptos son aplicables a las poblaciones empleadas en este trabajo, principalmente aquellas colectadas en Chos Malal, Junín de los Andes (Neuquén) y Junín (Mendoza) que no corresponden a zonas productoras de cereales, y en donde el PRT se encuentra sobre hospederos silvestres todo el año con climas sumamente rigurosos. Si bien la Población Chos Malal fue colectada en cebada, la misma se obtuvo en una pequeña parcela de no más de una ha, en una región que dista mucho de ser la zona típica productora de trigo o cebada de la Pampa Húmeda Argentina, donde se siembran ciento de miles de hectáreas de cereales.

## CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se concluye que la interacción del ambiente con el áfido, origina poblaciones del PRT que son características de cada región. Por tal motivo los cultivares mejorados en otros países, que utilizan la resistencia genética como estrategia de manejo del áfido, pueden comportarse como susceptibles ante las poblaciones Argentinas. Si bien algunas de la líneas Novel desarrolladas por el CIMMYT, podrían ser incorporadas en planes de mejora del cultivo de trigo en Argentina, los cultivares deberían ser desarrollados en nuestras condiciones de cultivo y con las poblaciones nativas de *D. noxia*.

**BIBLIOGRAFÍA**

Anstead, J. A., J. D. Burd & K. A. Shufran. 2003. Mitochondrial DNA sequence divergence among *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae) clones from cultivated and non-cultivated hosts: haplotype and host associations. *Bulletin of Entomological Research*. 92: 17-24.

Assad, M. T. 2002. Inheritance of resistance to the Russian wheat aphid in an Iranian durum wheat line. *Plant Breed*. 121: 180-181.

Basky, Z. 2003. Biotypic and pest status differences between Hungarian and South African populations of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Homoptera: Aphididae). *Pest Management Science*. 59: 1152-1158.

Beyer, B. M., S. D. Haley, N. L. V. Lapitan, J. H. Peng & F. B. Peairs. 2011. Inheritance of Russian wheat aphid resistance from tetraploid wheat accessions during transfer to hexaploid wheat. *Euphytica*. 179: 247–255.

Botha, A.M., L. Lacock, C. van Niekerk, M.T. Matsioloko, F.B. du Preez, S. Loots, E. Venter, K.J. Kunert & C.A. Cullis 2006. Is photosynthetic transcriptional regulation in *Triticum aestivum* L. cv. Tugela DN a contributing factor for tolerance to *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae)? *Plant Cell Reports*. 25(1): 41–54.

Burd, J. D., D. R. Porter, G. J. Puterka, S. D. Haley & F. B. Peairs. 2006: Biotypic variation among North American Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) populations. *Journal of Economic Entomology* 99:1862-1866.

Butts, P.A. & K.W. Pakendorf. 1984. Wheat breeding for resistance to *Diuraphis noxia*, methodology and progress. Pp. 47-52 In, Walters, M. C. (ed.), *Progress in Russian wheat aphid (Diuraphis noxia Mordv.) research in the Republic of South Africa*. Proc. of a Meeting of the Russian Wheat Aphid Task Team, Dept. Agric. Tech. Comm. 191. Govmt. Printer, Pretoria.

Castro, A. M., A. Vasicek, M. Manifiesto, D. O. Giménez, M. S. Tacaliti, O. Dobrovolskaya, M. S. Roëder, J. W. Snape & A. Börner. 2005. Mapping antixenosis genes on chromosome 6A of wheat to greenbug and to a new biotype of Russian wheat aphid. *Plant Breeding*. 124: 229-233.

Collins, M. B., S. D. Haley, F. B. Peairs, & J. B. Rudolph. 2005. Biotype 2 Russian wheat aphid resistance among wheat germplasm accessions. *Crop Science*. 45: 1877-1880.

Diehl, S. R., & G. L. Bush. 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annual Review of Entomology*. 29: 471-504.

Dong, H., J. S. Quick & Y. Zhang. 1997. Inheritance and allelism of Russian wheat aphid resistance in several wheat lines. *Plant Breeding*. 116: 449-453.

Du Toit, F. & H. A Van Niekerk. 1985. Resistance in *Triticum* species to the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Hemiptera: Aphididae). *Cereal Research Communications*. 13: 371–378.

Du Toit, F. 1987. Resistance in wheat (*Triticum aestivum*) to *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae). *Cereal Research Communications*. 15: 175-179.

Du Toit, F. 1988. Another source of Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) resistance in *Triticum aestivum*. *Cereal Research Communications*. 16:105-106.

Du Toit, F. 1989. Inheritance of resistance in two *Triticum aestivum* lines to Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*. 82: 1779-1781.

Du Toit, F., W.G. Wessels & G.F. Marais. 1995. The chromosome arm location of Russian wheat aphid resistance gene Dn5. *Cereal Research Communications* 23: 299-203.

Eastop V. F. 1973. Biotypes of aphids. *Bulletin of the Entomological Society of New Zeland*. 2: 40 – 51.

Estakhr, A. & M. T. Assad. 2002. The allelic relationships among Russian wheat aphid genes in Iranian wheat lines and known genes. *Journal of Agricultural Science*. 138: 281-284.

Gallun, R. L., & G. S. Khush. 1980. Genetic factors affecting expression and stability of resistance. En: F. G. Maxwell & P. R. Jennings [eds.], Breeding plant resistance to insects. Wiley, New York. 63-68 pp.

Haley, S. D., F. B. Peairs, C. B. Walker, J. B. Rudolph & T. L. Randolph. 2004. Occurrence of a new Russian crop pest management programs for aphids: greenbug resistance in Sorghum. Journal of Agricultural Entomology. 11: 255-270.

Haley, S. D., F. B. Peairs, C. B. Walker, J. B. Rudolph, & T. L. Randolph. 2004. Occurrence of a new Russian wheat aphid biotype in Colorado. Crop Science. 44: 1589-1592.

Harvey, T. L. & T. J. Martin. 1990. Resistance to Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia*, in wheat, (*Triticum aestivum*). Cereal Research Communications. 18: 127-129.

Hawley, C.; F. Peairs & R. Terri. 2003. Categories of Resistance at Different Growth Stages in Halt, a Winter Wheat Resistant to the Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology 96(1): 214-219.

InfoStat. 2008. InfoStat version 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Jyoti, J. L., J. A. Qureshi, J. P. Michaud & T. J. Martin. 2005. Virulence of two Russian wheat aphid biotypes to eight wheat cultivars at two temperatures. Crop Science. 46: 774-780.

Lage, J., B. Skovmand & S. B. Andersen. 2004. Field evaluation of Emmer wheat derived synthetic hexaploid wheat for resistance to Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology. 97: 1065-1070

Lage, J., B. Skovmand, & S. B. Andersen. 2003. Expression and suppression of resistance to greenbug (Homoptera: Aphididae) in synthetic hexaploid wheats derived from *Triticum dicoccum* x *Aegilops tauschii* crosses. Journal of Economic Entomology. 96: 202-206.

- Liu, X. M., C. M. Smith, B. S. Gill & V. Tolmay. 2001. Microsatellite markers linked to six Russian wheat aphid resistance genes in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 102: 504-510.
- Ma, Z.Q., A.Saidi, J.S. Quick & N. Lapitan. 1998. Genetic mapping of Russian wheat aphid resistance genes Dn2 and Dn4 in wheat. *Genome* 41: 303-306.
- Ma, H., R. P. Singh & A. Mujeeb-Kazi. 1995. Resistance to stripe rust in *Triticum turgidum*, *T. tauschii* and their synthetic hexaploids. *Euphytica* 82: 117-124.
- Marais, G.F., M. Horn & F. du Toit. 1994. Intergeneric transfer (rye to wheat) of a gene(s) for Russian wheat aphid resistance. *Plant Breeding*. 113: 265-271.
- Multani, D. S., H. S. Dhaliwal, P. Singh & K. S. Gill. 1988. Synthetic amphiploids of wheat as a source of resistance to karnal bunt (*Neovossia indica*). *Plant Breeding*. 101: 122-125.
- Nkongolo, K. K., J. S. Quick, A. E. Limin, D. B. Fowler, F. B. Peairs & W. L. Meyer. 1990. Russian Wheat Aphid (*Diuraphis noxia*) resistance in wheat and related species. *Canadian Plant Science* 70(3): 691-698.
- Nkongolo, K.K., J.S. Quic., W.L. Meyer & F.B. Peairs.1991. Sources and inheritance of Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Mordv.) resistance in *Triticum* species, amphiploids and *Triticum tauschii*. *Canadian Journal of Plant Science*. 71: 703-708.
- Peairs, F. B. 1990. Russian Wheat Aphid Management. *Proceedings, Aphid-Plant Interactions: Populations to Molecules*. USA. 233 pp.
- Porter, D. R., J. A. Webster & C. A. Baker. 1993. Detection of resistance to Russian wheat aphid in hexaploid wheat. *Plant Breeding*.110: 157-160.
- Porter, D. R., J. D. Burd, K. A. Shufran, J. A. Webster & G. L. Teetes. 1997. Greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes: selected by resistant cultivars or preadapted opportunists? *Journal of Economic Entomology*. 90:1055-1065.
- Prescott, J. M., P. A. Burnett, E. E. Saari, J. Ranson, J. Bowman, W. de Milliano, R. P. Singh & G. Bekele. 2001. *Wheat Diseases and Pests: A Guide for field identification*.

Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo. Lisboa 27, Apdo. Postal 6-641, 06600 Mexico, D.F., Mexico. <http://agrikhalsa.bizhat.com/wheat.pdf>.

Puterka G. J., J. D. Burd, D. Porter, K. Shufran, C. Baker, B. Bowling & C. Patrick. 2007. Distribution and diversity of Russian Wheat Aphid (Hemiptera: Aphididae) biotypes in North America. *Journal of Economic Entomology*. 100(5):1679-1684.

Puterka G.J., J.D. Burd & R.L. Burton. 1992. Biotypic variation in a worldwide collection of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*. 85: 1497-1506.

Quick J.S., G. E. Ellis & R.M. Normann. 1996. Registration of "Halt" wheat. *Crop Science*. 36: 210-216.

Quick, J. S. 1989. Results of the first uniform Russian wheat aphid seedling test. En: *West Society of Crop Science Ed: Abstract Bozeman, M. T.* pp. 21.

Quick, J. S., K. K. Nkongolo, W. L. Meyer, F. B. Pears & B. Weaver. 1991. Russian Wheat Aphid Reaction and Agronomic and Quality Traits of a Resistant Wheat. *Crop Science*. 31:50-53.

Saidi, A. & J.S. Quick. 1994. Inheritance of Russian Wheat Aphid resistance in three winter wheats. *Proceedings of the 6th Russian wheat aphid conference, Fort Collins, Colorado USA (Pearis F.B., Kroening MK y Simmons CL eds)*: 126-132.

Saidi, A. & J. S. Quick. 1996. Inheritance and allelic relationships among Russian wheat aphids resistance gene in winter wheat. *Crop Science* 36: 256-258.

Schroeder-Teeter S., Zematia R.S., Schotzko D.J., Smith C.M. y Rafi M. 1994. Monosomic analysis of Russian Wheat Aphid resistance in *Triticum aestivum* line PI 137739. *Euphytica* 74: 117-120

Shufran K. & L. Payton. 2009. Limited genetic variation within and between Russian Wheat Aphid (Hemiptera: Aphididae) Biotypes in the United States *Journal of Economic Entomology*. 102(1): 440-445.



Smith, C. M. & S. Starkey. 2003. Resistance to greenbug (Heteroptera: Aphididae) biotype I in *Aegilops tauschii* synthetic wheats. *Journal of Economic Entomology*. 96: 1571-1576.

Smith, C. M., D. J. Schotzko, R. S. Zemetra & E. J. Souza. 1992. Categories of Resistance in Wheat Plant Introductions Resistant to the Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae) Resistance in Wheat. *Journal of Economic Entomology*. 85: 1480-1484.

Smith, C. M., D. J. Schotzko, R. S. Zemetra, E. J. Souza & S. Schroeder-Teeter. 1991. Identification of Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae) Resistance in Wheat. *Journal of Economic Entomology*. 84: 328-332.

Smith, C. M., T. Belay, C. Stauffer, P. Stary, I. Kubeckova & S. Starkey. 2004. Identification of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) biotypes virulent to the Dn4 resistance gene. *Journal of Economic Entomology*. 97: 1112-1117.

Sotelo P., S. Starkey, P. Voothuluru, G. E. Wilde & C. M. Smith. 2009. Resistance to Russian Wheat Aphid Biotype 2 in CIMMYT Synthetic Hexaploid Wheat Lines. *Journal of Economic Entomology*. 102(3): 1255-1261.

Souza, E. J. 1998. Host plant resistance to Russian wheat aphid (Homoptera Aphididae) in wheat and barley, pp. 122-147. In: S. S. Quisenberry and F. B. Peairs (eds.), *Response model for an introduced pest the Russian wheat aphid*. Thomas Say Publication in Entomology, Entomological Society of America, Lanham, MD.

Thomas, J., G. Hein, D. Baltensperger, L. Nelson & S. Haley. 2002. Managing the Russian Wheat Aphid with resistant varieties. File NF307 under: Insect and Pests. C-5, Field Crops. Nebraska Cooperative Extension. University of Nebraska, Lincoln, NE.

Tocho, E. F. 2010. Identificación y caracterización de la resistencia a *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemíptera: Aphididae) y a *Diuraphis noxia* (Hemíptera: Aphididae) en cebada cervecera (*Hordeum vulgare*). Tesis Doctoral. Universidad Nacional De La Plata. Facultad De Ciencias Naturales y Museo. 188 pp.

Tolmay, V. L., G. J. Prinsloo & R. C. Lindeque, 2007. Preliminary evidence of a resistance-breaking biotype of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Homoptera: Aphididae), in South Africa. *African Entomology*. 15: 228-230.

Webster J.A., K.J. Starks & R. L Burton, 1987. Plant resistance studies with Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae), a new United States wheat pest. *Journal of Economic Entomology*. 80: 944-949.

Webster, J. A. & P. Kenkel. 1999. Benefits of managing small-grain pests with plant resistance, pp. 87-114. In: B. R. Wiseman and J. A. Webster (eds.), *Economic, environmental and social benefits of resistance in field crops*. Thomas Say Publication in Entomology, Entomological Society of America, Lanham, MD.

Weiland, A., F. Peairs, T. Randolph, J. Rudolph, S. Haley & G. Puterka. 2008. Biotypic Diversity in Colorado Russian Wheat Aphid (Hemiptera: Aphididae) Populations. *Journal of Economic Entomology*. 101(2): 569-574.

Zemetra, R. S., D. Schotzko, C. M. Smith & E. J. Souza. 1990. Seedling resistance to the Russian wheat aphid in wheat germoplasm. *Cereal Research Communications*. 18: 223-227.

## **CONCLUSIÓN GENERAL**

## CONCLUSIÓN GENERAL

A partir de los resultados obtenidos se concluye que en Argentina, el Pulgón Ruso del Trigo presenta como estrategia reproductiva la partenogénesis facultativa, a través de la cual a partir de un clon proveniente de una única hembra adulta, se originan en distintas proporciones, hembras partenogenéticas y sexuadas. Dicha variabilidad intraclonal se observó en todas las poblaciones estudiadas y le permite a *D. noxia* liberar variabilidad genética, que le otorga una gran capacidad de adaptación a distintos ambientes, y a generar biotipos capaces de dañar cereales mejorados con diferentes genes de resistencia.

La coexistencia de más de un biotipo en las poblaciones Argentinas del Pulgón Ruso del Trigo, a pesar de no existir una presión de selección por la siembra de grandes extensiones con un único gen de resistencia, estaría indicando que *D. noxia* es un áfido que se encuentra en una permanente evolución como producto de su variabilidad genética.

El PRT, si bien es una plaga de trigo y cebada en zonas semiáridas, posee la capacidad de adaptarse a nuevos ambientes a través de la liberación de variabilidad genética. Esto se comprobó en la población La Plata la cual generó la mayor cantidad de ovíparas.

Por lo expuesto *D. noxia* tendría la capacidad de expandirse y de adaptarse a regiones productoras de cereales de la pampa húmeda, pudiendo en el futuro constituirse en plaga en nuevas regiones productoras de trigo y de cebada de nuestro país.

La utilización de la resistencia genética dentro del Manejo Integrado de Plagas, es una herramienta efectiva para el manejo del áfido, teniendo como premisa la selección de cultivares locales con buen comportamiento frente a poblaciones de PRT provenientes de distintas regiones, poseedores de una elevada variabilidad genética.