

TRABAJO FINAL DE CARRERA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A PULGÓN VERDE DE LOS CEREALES (*SCHIZAPHIS GRAMINUM*) EN AVENA

Alumna: Agustina Pennella

Número de Legajo: 27974/4

DNI: 38603393

Correo electrónico: aguspennella@gmail.com

Directora de Tesina: Dra. Érica F. Tocho

Codirectora de Tesina: Dra. María Silvia Tacaliti

Lugar de Trabajo: CISaV, Cátedra de Genética

Fecha de entrega: 17/05/2024

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de La Plata, y la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales por formarme y darme la oportunidad de ser profesional. Éste lugar siempre será recordado por mí como una etapa de pleno y eterno crecimiento personal. Aquí obtuve experiencias de todo tipo, me adentré de lleno en búsquedas personales que fueron más allá del conocimiento científico. La militancia, la política, el feminismo, la historia de los derechos y la lucha permanente por la desigualdad, por nombrar solo algo, ya habitaban en mí, pero este lugar hizo revolución con ello. Fue un verdadero privilegio ser parte de la universidad pública, gratuita, laica y de calidad.

A mi Directora y Co-Directora, Érica y Silvia, que fueron mis guías, que invirtieron tiempo en formarme, me inculcaron responsabilidad, paciencia y motivación, e hicieron que este trabajo final fuera un gran aprendizaje. Gracias por confiar en mí, por el aporte de sus conocimientos, sus sugerencias, su apoyo, su cuidado y los consejos que siempre me dieron con tanto cariño.

A mi familia por la oportunidad de haber llegado a la ciudad de La Plata, y terminar mis estudios. Por haber trabajado tanto para permitirme cumplir este proyecto. Ha sido un orgullo para mí su sacrificio.

A mis amigas que estuvieron incondicionalmente al lado mío, apoyándome cuando más las necesite, brindándome palabras de aliento y de confianza. Gracias por no dejar de creer nunca en mí.

A mis compañeros y amigos de la facultad, que hicieron que esta etapa valga la pena y sea muy divertida. Las largas horas de estudio y cursadas, los mates y las risas han sido el apoyo moral que necesite para seguir adelante muchas veces. Gracias por enseñarme tanto y brindarme su amistad.

A mi novio por acompañarme toda la carrera, por escucharme tantas veces, por sus metódicos consejos de estudio, por ser sostén y por impulsarme al éxito siempre.

Y finalmente a mí, por no haberme rendido nunca. Por todas esas veces que me convencí de que podía salir adelante. Por toda la entrega para esta meta.

Índice

Resumen	4
Introducción	5
Objetivo general	13
Objetivos específicos.....	13
Materiales y métodos	13
Resultados y discusión.....	19
Conclusiones	29
Bibliografía	30

Resumen

La avena es el sexto cereal más importante del mundo en producción de grano. Es un cultivo multipropósito dado que se utiliza para consumo animal, como verdeo estacional, como cultivo acompañante en la implantación de pasturas o de cobertura en suelos con problemas de estabilidad. Entre las principales plagas que afectan a la avena se encuentra *Schizaphis graminum* (Rondani), conocido como el pulgón verde de los cereales, el cual provoca daño clorótico y necrótico en plántulas recién emergidas o de pequeño porte, hasta la muerte en ataques extremos. El objetivo del trabajo consistió en evaluar fenotípicamente la resistencia de la avena frente al pulgón verde para seleccionar los genotipos resistentes. Para ello se determinó la tolerancia a través de ensayos comparativos entre plantas infestadas con áfidos y controles sin infestación. Se realizó en macetas individuales en condiciones controladas de laboratorio (temperatura de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$, humedad relativa del 60-70% y con 14:10 horas de fotofase:escotofase) y se evaluaron los daños a partir de una escala visual, la longitud foliar, el contenido de clorofila en la segunda hoja medido con un SPAD y el número de hojas por planta. También se midió la antixenosis mediante ensayos de comportamiento de selección o repelencia del insecto según la susceptibilidad o resistencia de las variedades de avena. Por último, se determinó la resistencia de tipo antibiosis a través de la medición de parámetros biológicos y poblacionales del insecto tales como la longevidad de las hembras adultas, medida como la duración total de la vida, y la fecundidad o número de ninfas paridas por una hembra en toda su vida. Los resultados de este trabajo permiten identificar genotipos resistentes al pulgón verde de los cereales que pueden seleccionarse e introducirse en los programas de mejoramiento genético de la avena.

Introducción

La avena es un cereal multipropósito dado que sus destinos son variados, aunque predominan los relacionados con el consumo animal, verdeo estacional, heno y racionamiento con grano. Además de estos usos, también se utiliza como cultivo acompañante en la implantación de pasturas o para cama de animales estabulados y en algunas áreas, como cultivo de cobertura de suelos con problemas de estabilidad; en rotaciones agrícolas, para interrumpir el ciclo de enfermedades y plagas y, por último, para la producción de grano destinado al consumo humano, otros usos industriales o a semilla (Carbajo, 1998).

La avena es el cereal de mayor tenor proteico y su contenido de lípidos, especialmente en el germen, es favorable por comprender ácidos grasos insaturados. Provee varias vitaminas, tales como tiamina, ácido fólico, biotina, ácido pantoténico y tocoferol; micronutrientes, antioxidantes y fibras solubles con elevados tenores de betaglucanos, que han revalorizado su prestigio por su influencia benéfica en las afecciones cardiovasculares (Carbajo, 1998).

En nuestro país es el cereal forrajero de invierno más importante con una superficie sembrada que llegó a 1.482.894 ha en la campaña 2021-2022, según los datos oficiales de la Secretaría de Agricultura Ganadería y Pesca. Además, tuvo una producción total de 723.154 Tn, en las principales provincias donde se desarrolla el cultivo, que son Buenos Aires con el 58% de la superficie sembrada, le sigue La Pampa, Córdoba, Santa Fe y con una menor superficie Entre Ríos, Santiago del Estero, San Luis, Tucumán y Salta (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Ministerio de Economía Argentina).

TABLERO DE CULTIVOS
ESTIMACIONES AGRICOLAS

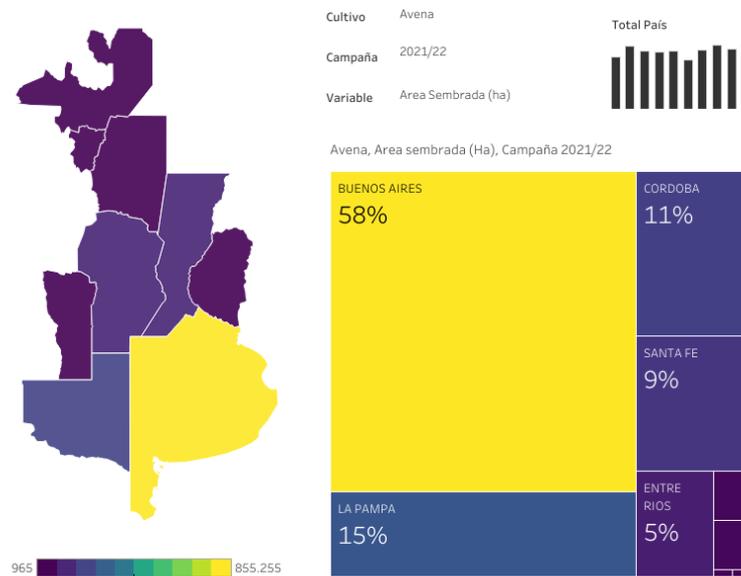


Figura 1. Tablero de cultivos. Estimaciones agrícolas. Variable: área sembrada. Fuente: Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca.

En la figura 1 se puede ver que el tablero de cultivos nos indica que la mayor área sembrada con avena en la campaña 2021/22 es en la provincia de Buenos Aires. Le sigue La Pampa, Córdoba, Santa Fe y en menor proporción Entre Ríos. Siguiendo con este análisis en la tabla 1, se observa que Buenos Aires no solo es la provincia con mayor área sembrada de avena, sino la que mayor producción logra por la combinación entre el área y el rendimiento. Aunque en otras provincias, como Córdoba y Santa Fe, el rendimiento promedio es mayor.

Tabla 1. Comparación entre las diferentes provincias. Datos de cultivo de avena, campaña 2021/22 extraídos de la Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca.

Provincia	Área sembrada (ha)	Producción (tn)	Rendimiento (kg/ha)
Buenos Aires	855.255	571.186	2.157
La Pampa	226.600	66.865	1.568
Córdoba	162.262	47.124	2.160
Santa Fe	133.837	22.741	2.212
Entre Ríos	71.500	8.625	2.156

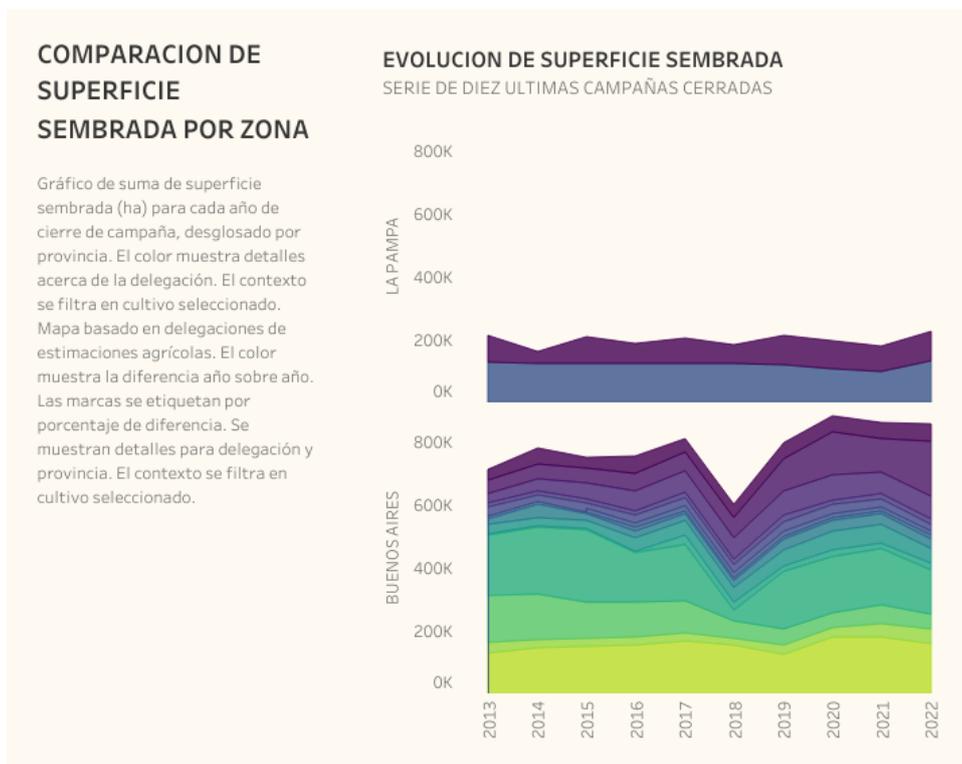


Figura 2. Tablero de cultivos. Evolución superficie sembrada. Fuente: Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca.

A través de los años, sobre todo en la provincia de Buenos Aires, la superficie destinada al cultivo de avena fue variando a través de los años. Desde el año 2018, donde se nota un punto de inflexión negativo, hasta la campaña 2021/22 ha ido creciendo la superficie sembrada con avena (Figura 2).

Los cereales forrajeros de invierno que comprenden a la avena, centeno, cebada forrajera y triticale se han constituido en la región pampeana como la principal fuente de forraje verde durante el otoño e invierno, ya sea para la producción de carne o leche. También lo son en el sudoeste de Buenos Aires y sur de La Pampa, especialmente la avena, en el inicio de la primavera (septiembre, octubre y parte de noviembre), dado que las pasturas perennes, como consecuencia de las condiciones climáticas normales para la región, aún no alcanzan un nivel de producción necesario para satisfacer el consumo animal. Comúnmente han sido etiquetados como cultivos “caros” y hubo muchos intentos para tratar de suplantarlos por otras fuentes de producción otoño-invernal, pero hasta el momento no se han identificado otros cultivos que los superen; por el contrario, la superficie destinada a estos cereales forrajeros en la década del 80

y 90 se fue incrementado en forma considerable. Esto ocurrió en especial con la avena, la cual lo hizo en parte sustituyendo la superficie que ocupaba el centeno. En los últimos años el mejoramiento genético en estos cultivos produjo avances muy importantes en el aspecto varietal, disponiéndose en cada especie de variedades con un muy alto potencial de rendimiento en forraje. Sin embargo, en general sólo se obtiene alrededor de un 40-50% de ese potencial para cada región (Tomaso, 2009).

Entre las principales plagas que afectan a los cereales de invierno están los áfidos que son un grupo de pequeños insectos que pertenecen al Orden Hemiptera, considerados en todo el mundo como uno de los grupos entomológicos más importantes desde el punto de vista agronómico, debido a que varias especies causan grandes pérdidas económicas (Saldúa et al., 2011). Entre ellos se encuentra *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphidoidea), conocido como el pulgón verde de los cereales (PV) que es una de las plagas de mayor importancia que afecta al trigo, cebada, sorgo, centeno, avena y también gramíneas forrajeras tales como raigrás, cebadilla criolla, festuca y alpiste, entre otras (Dughetii, 2012). El PV está adaptado a las condiciones ambientales de Sudamérica y, en nuestro país, se encuentra ampliamente distribuido en las regiones cerealeras (Noriega et al., 2000).



Figura3. Pulgón verde de los cereales (hembra) con su pequeña ninfa antes de parir. Fuente: Pennella A.

Los áfidos utilizan los estiletes de su aparato bucal para penetrar en los tejidos, en forma intra o intercelular, dependiendo de la naturaleza de la planta hospedera y de la especie o biotipo de áfido en cuestión, en búsqueda de su lugar más frecuente de alimentación, el floema. Durante esta búsqueda, el áfido secreta por el canal de salivación dos tipos de saliva: una que se endurece formando una vaina por el paso del aparato bucal en el tejido vegetal, y otra, más acuosa, que contiene numerosas enzimas que contribuyen al proceso de búsqueda del floema y a la transformación del material ingerido. La ingesta recorre el canal alimenticio pasando por el órgano epifaríngeo, en cuyas papilas se localiza el sentido del gusto. Una vez que el áfido logra encontrar el floema, y siempre que no detecte compuestos tóxicos en él, se reproduce, con una fecundidad que depende del valor nutricional del fluido floemático, medido por la composición y la concentración de la mezcla de aminoácidos presentes (Niemeyer, 1992).

El pulgón verde de los cereales ocasiona dos tipos de daño, por un lado, el daño directo ya que afecta a la avena al alimentarse de su savia, además de inyectar saliva tóxica. Por el otro, puede provocar daño indirecto ya que también

es vector del virus del enanismo amarillo de la cebada. *Schizaphis graminum* posee una enorme capacidad reproductiva favorecida en condiciones de temperaturas altas, y la disponibilidad de huéspedes diversos de los que alimentarse les confiere ventajas competitivas muy grandes (Blackman y Eastop, 1984). Esta susceptibilidad es crítica cuando se requiere de cultivares que se establezcan en un período de condiciones adversas en términos de humedad y de mucha actividad de insectos como frecuentemente sucede en siembras tempranas (Lage et al., 2003). En definitiva, el daño causado por el PV compromete el establecimiento del cultivo y, por lo tanto, su producción de forraje.

La resistencia genética es considerada uno de los componentes más importantes del manejo integrado de plagas y probablemente sea la mejor estrategia de manejo de un insecto plaga. A través del mejoramiento genético es posible la obtención de variedades resistentes (Lage et al., 2003).

La expresión de la resistencia en la interacción planta-insecto fue definida por Painter (1951), quien la clasificó en tres categorías: antixenosis, antibiosis y tolerancia. El conocimiento de esta interacción es básico para el manejo de los insectos y fundamental para el mejoramiento genético. La antixenosis (o no preferencia) se da cuando una planta es menos seleccionada o elegida por una plaga que otras plantas. Es la capacidad de la planta de no compatibilizar con el parásito, evitando que esta se comporte como planta huésped. De esta manera se impide que el insecto la utilice para la parición, como alimento o refugio (Kogan y Ortman, 1978). La antixenosis indicaría la presencia de factores morfológicos o químicos de la planta que resultan adversos en el comportamiento de los insectos (olfativos, visuales, comportamiento táctil y gustativo) (Smith, 2005). El mecanismo de antibiosis es un tipo de resistencia que posee la planta y que ejerce un efecto adverso sobre la biología del insecto que se alimenta de ella. De esta forma, una planta resistente por antibiosis afecta el potencial reproductivo del insecto, la duración de su ciclo inmaduro, la mortalidad de las formas jóvenes, reduce el tamaño, peso y fecundidad del individuo, provoca la alteración de las proporciones sexuales, así como el tiempo de vida (Vera et al., 2015). Por último, la tolerancia es la capacidad de las plantas de superar el ataque de una plaga sin que tenga una pérdida significativa de la

calidad y cantidad de su producción en comparación con un testigo susceptible. Estas tres manifestaciones pueden presentarse juntas o separadas, y en diferentes proporciones (Holtkamp y Clift, 1993).

Estudios previos del grupo de trabajo evaluaron variedades comerciales y líneas experimentales de cebada cervecera en condiciones de laboratorio expuestas al daño del pulgón verde de los cereales, donde quedó demostrada la variabilidad genética en los materiales de cebada frente al insecto plaga y donde se categorizaron según los distintos mecanismos de resistencia (Tocho et al., 2019). Estudios similares en otra población de líneas doble haploides de cebada, permitieron identificar genes de resistencia al pulgón verde de los cereales (Tocho et al., 2013) y al pulgón ruso del trigo (Tocho et al., 2012). El control de este áfido es posible mediante la obtención de variedades con resistencia genética, con la consecuente disminución de las pérdidas de producción y que resulta compatible con otras estrategias de control biológico, cultural e incluso químico. Simplifica el manejo, reduce costos y es acorde con los actuales criterios de sustentabilidad que promueven sistemas productivos de bajos insumos y que limitan el impacto ambiental (Almaráz et al., 2012).

En lo que se refiere a mecanismos genéticos de control de la resistencia tanto para la avena blanca (*Avena sativa L.*) como para la avena amarilla (*Avena byzantina*), los resultados indican que estaría controlada por genes mayores dominantes, existiendo la posibilidad de encontrar genes independientes que confieran resistencia a un mismo biotipo (Altier et al., 2010).

El mejoramiento genético que llevan adelante distintos grupos en el INTA Bordenave, en la Chacra experimental Barrow y en la cátedra de cereales de la FCAyF-UNLP, entre otros, han generado cultivares de buena calidad y productividad. En la actualidad hay disponibles en el mercado materiales con buena producción de forraje y con buena sanidad principalmente lo que se refiere a resistencia a enfermedades, tales como la roya. Sin embargo, muchas de esas variedades con buenas características son susceptibles al pulgón verde de los cereales que ocasiona daños de importancia en el estado de plántula y que pueden llegar a matar al cultivo en su totalidad. Entre los cultivares obtenidos por el *Programa de Mejoramiento Genético del INTA Bordenave*, se encuentra Elizabet INTA que se destaca por su aptitud nutricional, alta y estable producción

de forraje durante todo el ciclo, amplia adaptabilidad a diferentes regiones y excelente sanidad. Además, como tiene buen comportamiento al frío, tiene una capacidad de rebrote que permite mantener altas tasas de crecimiento desde fines de otoño hasta principio de invierno, lo cual la hace apta para pastoreos intensivos (Giménez et al., 2014). Por otro lado, la variedad Sofía INTA se caracteriza por no poseer pigmentación por antocianinas en la primera hoja, presenta pubescencia en el nudo superior del tallo. Se diferencia de Elizabet INTA por no poseer a la madurez, pilosidad en la base (callo) de las espiguillas (Instituto Nacional De Semillas, Boletín Oficial República Argentina). Se considera que posee alta productividad de forraje, alto potencial de rendimiento de granos, bajos niveles de incidencia y severidad en ambientes de alta presión de enfermedad, por lo que también se considera que posee un buen comportamiento sanitario (Ficha Técnica Forratec).

Por último, trabajamos con el cultivar comercial Susana INTA, que se caracteriza por ser de ciclo intermedio a largo, combina con un muy alto potencial de rendimiento de forraje a través de todo el ciclo productivo con la máxima resistencia a Roya de la hoja, la principal enfermedad que afecta la productividad del cultivo. Permite siembras tempranas, lo que amplifica el ciclo de producción con mejores condiciones ambientales y más producción de forraje. Además, se sabe que posee rápido rebrote, fuerte anclaje y evita el encañe precoz, típico de la especie. Las zonas de adaptación van desde el noreste de nuestro país hasta la altura de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires (Ficha Técnica Producers). El cultivar Bv 156-11 es una línea de experimentación, no es una línea comercial, y se encuentra en etapa de evaluación.

Aún así, estos cultivares comerciales, a pesar de tener buena sanidad frente a las principales enfermedades, son susceptibles al pulgón verde de los cereales, llegando éste a provocar daños muy severos. Por ello, en los programas de mejoramiento se busca detectar nuevas fuentes de resistencia a insectos para incorporarlos y lograr piramidalizar genes con distintas resistencias.

Objetivo general

El objetivo del trabajo consistió en evaluar fenotípicamente la resistencia al pulgón verde de los cereales en genotipos de avena.

Objetivos específicos

- Evaluar la antixenosis y el comportamiento de selección o repelencia del pulgón verde de los cereales.
- Evaluar la tolerancia al pulgón verde de los cereales en materiales de avena.
- Determinar la antibiosis en aquellos cultivares de avena que fueron contrastantes, a través de la medición de parámetros biológicos y poblacionales del insecto.

Materiales y métodos

Poblaciones de áfidos

Se utilizó una población de pulgón verde de los cereales (PV) recolectados en numerosas parcelas de la Estación Experimental del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Bordenave (provincia de Buenos Aires). Se realizó la cría masiva de los insectos sobre plantas de avena susceptibles en condiciones controladas, con temperatura constante a $20\pm 1^{\circ}\text{C}$, humedad relativa del 60-70% y con un régimen de iluminación de 14:10 horas de fotofase:escotofase, en la cámara de cría climatizada del curso Zoología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Se usaron macetas plásticas con tierra estéril tapadas por una cubierta protectora para evitar la fuga, dispersión y el parasitoidismo de los insectos. Los riegos se realizaron con una frecuencia de 1 ó 2 veces semanales. Cabe aclarar que tanto las macetas de cría de insectos como cada maceta individual de los ensayos fueron protegidas por jaulas plásticas con ventilación en el extremo superior, con el objetivo de evitar la migración de insectos, posibles contaminaciones y/o parasitoidismo.

Material vegetal

Se evaluaron cuatro genotipos de avena proporcionados por el grupo de mejoramiento del INTA Bordenave. Tres de ellos, Sofía, Susana y Elizabeth, son cultivares comercial y Bv 156-11 es una línea de experimentación, que está en etapa de evaluación.

Ensayo de antixenosis o selección

Se determinó la antixenosis mediante la prueba de libre elección de hospedero que consiste en ofrecer diferentes genotipos al insecto, el cual debe elegir su sitio de alimentación (Castro et al., 2001).

Para este ensayo se pregerminaron las semillas durante 24 horas en cajas Petri y luego se trasplantaron a macetas de plástico de 10 cm de diámetro con tierra comercial como sustrato y un poco de vermiculita en la superficie para facilitar el enraizamiento. Las semillas se distribuyeron sin un orden preestablecido en la periferia de la maceta plástica (Figura 4). Cuando las plántulas tuvieron 10 cm de altura, se colocaron en el centro de la arena experimental un total de 10 áfidos adultos por planta (40 áfidos en total) con la ayuda de un pincel fino, para no dañar a los áfidos. Cada maceta fue aislada y se cubrió con un cilindro transparente protegido con una malla antiáfido en su abertura superior para evitar la fuga y contaminación de los insectos. A las 24 h se registró el número de áfidos en cada planta. Se realizaron al menos 10 repeticiones con una planta nueva de cada uno de los genotipos, cada una de ellas distribuidas al azar en la maceta.

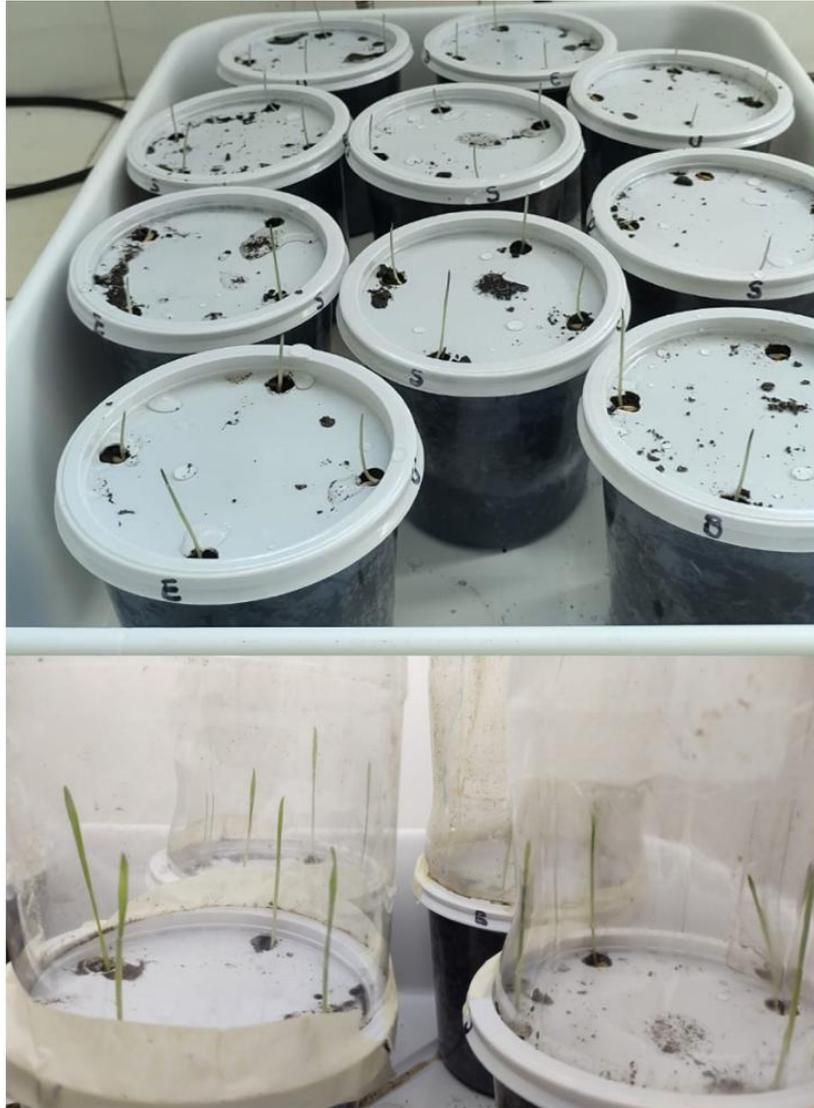


Figura 4. Ensayo de antixenosis. Distribución de variedades al azar identificadas con su inicial. Fuente: Pennella, A.

Ensayo de Tolerancia

La tolerancia de las plantas ante la presencia del áfido fue evaluada a través de la medición de diferentes parámetros de crecimiento siguiendo el método de Flinn et al. (2001). Para ello se realizó un ensayo comparativo entre plantas expuestas a los áfidos y controles sin infestación (Figura 5). Se usaron macetas con 2 plántulas para cada genotipo y se realizaron 10 repeticiones. Cuando las plántulas tuvieron aproximadamente 10 cm de altura, fueron infestadas (figura 6) con 10 pulgones por planta y comparadas con las plantas control. Cuando el genotipo más susceptible mostró entre el 80 a 90% de la

superficie foliar clorótica, lo que ocurrió aproximadamente a los 14 días de iniciado el ensayo, se finalizó la etapa de infestación y se realizaron las mediciones. Entre los parámetros a evaluar se tuvieron en cuenta:

- Evaluación visual del daño: El daño fue clasificado en cada una de las plantas infestadas según una escala que fue realizada previamente, donde 1 corresponde a planta sin daño y 9 a planta muerta o con daño irreversible. A su vez, los valores de la escala de 1 a 3 indican resistencia, de 4 a 6 moderadamente resistente a moderadamente susceptible y de 7 a 9 susceptible (Webster et al., 1991). Para elaborar la escala visual de referencia, se realizó previamente una evaluación de daño clorótico utilizando una variedad susceptible infestada con 5 insectos.
- Altura de las plantas: se determinó una vez finalizado el ensayo con una regla milimétrica desde la base hasta el ápice de la última hoja. Los resultados fueron expresados según el cálculo del índice de altura (IA): $IA = C - I/C$, donde C representa el valor de altura de las plantas control e I, la altura de las plantas infestadas con áfidos.
- El contenido de clorofila en la 2da hoja (SPAD): se determinó con un medidor automático SPAD-502 Minolta (Milton Keynes). Se tomaron 3 medidas en cada una de las segundas hojas y se promediaron los valores. Estos resultados fueron usados para el cálculo del índice de SPAD (ICI) para cada genotipo: $IC = C - I/C$, donde C representa al valor de las unidades SPAD de los controles e I corresponde a las plantas infestadas con pulgones (Deol et al., 1997).



Figura 5. Ensayo de tolerancia a pulgón verde de los cereales en plantas de avena. Plantas infestadas y plantas controles. Fuente: Pennella A.



Figura 6. Ensayo de tolerancia. Infestación de las plantas con los áfidos. Fuente: Pennella A.

Ensayo de Antibiosis

La antibiosis fue evaluada de dos formas. Una de ellas, a través del conteo del número de individuos total al finalizar el ensayo de tolerancia (mencionado anteriormente) en las variedades probadas. La otra metodología consistió en el seguimiento individual del ciclo de vida de un áfido confinado en los genotipos a evaluar. Se eligió al genotipo Bv 156-11 por ser antixenótico y tolerante en los ensayos previos, y a Sofía INTA por ser contrastante en los mismos parámetros. Se realizaron 19 repeticiones con cada genotipo. Se probó la metodología propuesta por La Rossa et al. (2017), con modificaciones propias, en la cual se aísla al insecto sobre la planta a evaluar colocada en placas de vidrio. Para ello, se obtuvieron las plántulas en bandejas de germinación con celdas de 70 cc. Cuando llegaron a 15 cm de altura se retiraron de las bandejas y se colocaron sobre placas de Petri de 9 cm de diámetro con las raíces y el volumen de tierra

envueltas en algodón humedecido para evitar la deshidratación. Sobre la hoja se ubicó una ninfa neonata y se cubrió con una placa de Petri de 5 cm de diámetro invertida formando una celda con un volumen de aproximadamente 27cm³. El espacio entre las dos cajas se relleno con algodón humedecido con aproximadamente 2 ml de agua destilada. El conjunto se cubrió con la tapa de la placa de Petri de 9 cm (Figura 7).

Para llevar a cabo la evaluación del ensayo, se tomaron hembras en estado reproductivo de la colección de cría que se transfirieron a plantas individuales para obtener las ninfas neonatas (recién nacidas), cada una de las cuales se trasladó a una de las repeticiones del ensayo. Se realizó el seguimiento del ciclo de vida con evaluaciones cada 48 horas hasta la muerte del insecto. En cada medición se registró y eliminó la descendencia nacida y los parámetros evaluados fueron:

- La longevidad (L). Se consideró el período que media entre el día del nacimiento de la ninfa hasta la muerte de la hembra o hasta tres días posteriores a la finalización del período reproductivo.
- La fecundidad (F) o número de ninfas totales producidas por hembra. Se obtuvo mediante el registro diario de ninfas nacidas por hembra, durante todo su ciclo reproductivo.



Figura 7. Ensayo de antibiosis. Fuente: Pennella A.

Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se usó el programa STATISTICA 7.1 (2005) y los datos fueron analizados mediante ANOVA. En el ensayo de tolerancia se aplicó la prueba de Tukey para medias múltiples con el propósito de determinar diferencias entre los valores promedios. Los datos de antixenosis fueron transformados aplicando la raíz cuadrada a fin de homogeneizar la varianza del error. Sin embargo, en los gráficos se dejaron los números originales para facilitar la lectura y comprensión visual.

Resultados y discusión

Antixenosis

El ensayo de antixenosis o no preferencia mostró diferencias significativas entre los genotipos probados ($F=8,54$; $g.l=3$; $p=0,00049$). Sofía, Susana y Elizabeth fueron altamente preferidos por los insectos en comparación al genotipo Bv 156-11, el cual atrajo un promedio de tan solo entre 1 y 2 individuos (Figura 8). Los genotipos más preferidos no fueron diferentes estadísticamente entre sí, pero Sofía y Elizabeth mostraron diferencias estadísticas con la menos preferida Bv 156-11.

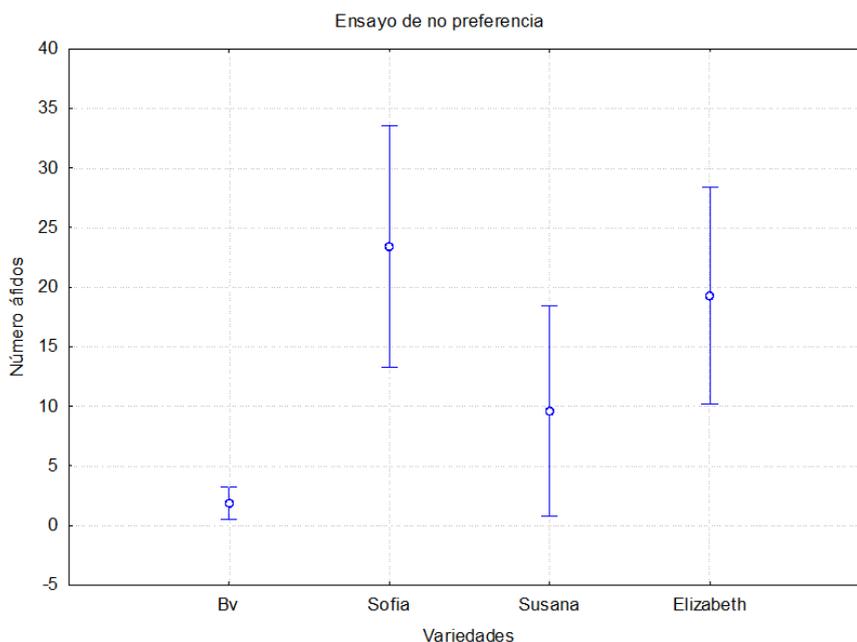


Figura 8. Número de insectos por planta a las 24 horas de infestación.

En el conteo de insectos a las 24 horas desde la infestación, se diferenciaron las hembras adultas (colocadas al inicio del ensayo) de las ninfas nacidas en ese período de tiempo y, como era de esperar, se registró mayor número de ninfas neonatas sobre las variedades preferidas por las adultas (Sofía, Susana y Elizabeth) que sobre la antixenótica (Figura 9). En el caso de Bv 156-11 se encontraron solo 2 ninfas en promedio en todas las repeticiones, lo que lleva a concluir que los pocos pulgones adultos que permanecieron vivos en ese genotipo no parieron ninfas durante las 24 horas de duración del ensayo. Sin embargo, en el caso de las otras tres variedades, las hembras adultas que las seleccionaron no solo las eligieron para alimentarse sino también como un lugar seguro para depositar su progenie, que en el caso de Sofía y Susana iguala al número de adultos.

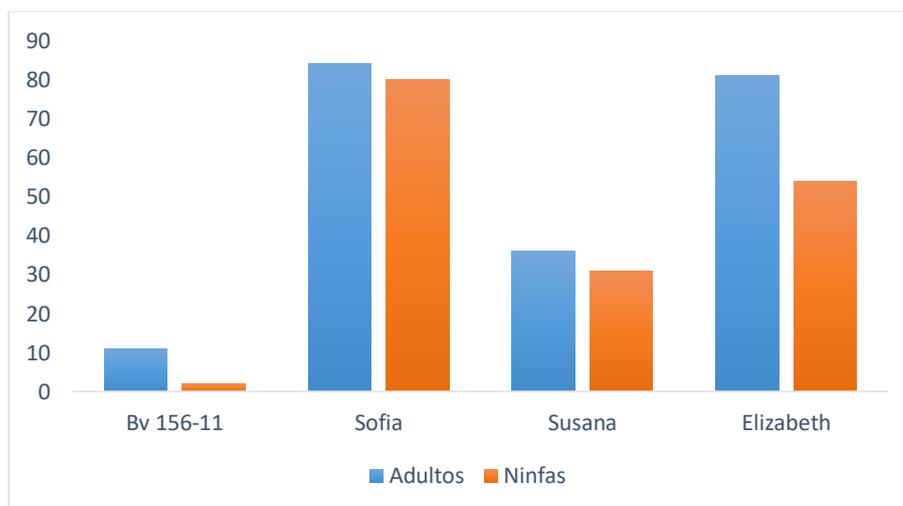


Figura 9. Cantidad de pulgones adultos y ninfas de cada variedad en ensayo de antixenosis.

El insecto cuando inicia la selección de la planta hospedante toma decisiones activas, como quedarse o irse de ella, alimentarse, reproducirse o depositar sus larvificaciones. Esta selección comienza cuando el insecto obtiene información específica de la planta que puede ser un potencial huésped. Durante mucho tiempo se ha creído que los pulgones son incapaces de seleccionar a sus huéspedes cuando se encuentran en el aire. Sin embargo, en las últimas décadas se ha demostrado que los pulgones adquieren información mediante el

sentido del olfato. Si la planta no cumple con los requisitos buscados por el insecto, éste rechaza a la planta y la abandona, siguiendo con la búsqueda de otro hospedante (Doring, 2014).

Los genotipos comerciales de avenas (Sofía, Elizabeth y Susana) tienen un mal comportamiento a campo cuando se dan ataques severos y espontáneos de áfidos. Sin embargo, conocer el comportamiento y el nivel de preferencia del genotipo Bv 156-11 que está en etapa experimental, permite predecir el comportamiento frente al ataque del insecto plaga ante una situación hipotética de disponibilidad de diferentes genotipos en la cual los insectos deben seleccionar el mejor sitio que les asegure su supervivencia.

Tolerancia

Los genotipos evaluados también mostraron distinto grado de tolerancia al pulgón verde según los parámetros medidos.

El daño generado por el insecto fue tolerado en distintos grados según los genotipos y evaluado con una escala visual de daño (Figura 10) que permitió clasificarlos en distintas categorías.



Figura 10. Escala visual de daño. De la izquierda a la derecha se ordenan desde los genotipos más tolerantes a los menos. Fuente: Pennella, A.

El genotipo Bv 156-11 se clasificó como tolerante con un daño escaso. Por otro lado, Elizabeth resultó moderadamente resistente y Sofía y Susana fueron susceptibles con un daño clorótico abundante que afectó a la mayor superficie foliar de la planta (Figura 10). Pudo observarse diferencias en el daño provocado por el pulgón verde en diferentes cereales. En cebada el daño típico se caracteriza por manchas cloróticas que se fusionan con otras manchas en ataques severos. En cambio, en la avena, además del amarillamiento se observan manchas de color rojo en la superficie foliar (registros personales). A medida que los tejidos se van dañando, los insectos se trasladan hacia los tejidos sanos hasta que las plantas mueren completamente. En el cultivo a campo, los insectos se trasladarían hacia plantas sanas lo que provocaría la muerte en pocos días, con la identificación de manchones de plantas muertas.

La saliva del pulgón verde contiene enzimas que rompen las paredes celulares y los cloroplastos en plantas susceptibles (AlMousawi et al., 1983). Su alimentación inicialmente causa manchas amarillas o rojas en las hojas de donde se alimenta y con el tiempo se produce un amarillamiento y enrojecimiento generalizado, la muerte de las hojas y las raíces puede provocar la muerte de la planta (Nuesssly y Nagata, 2014).

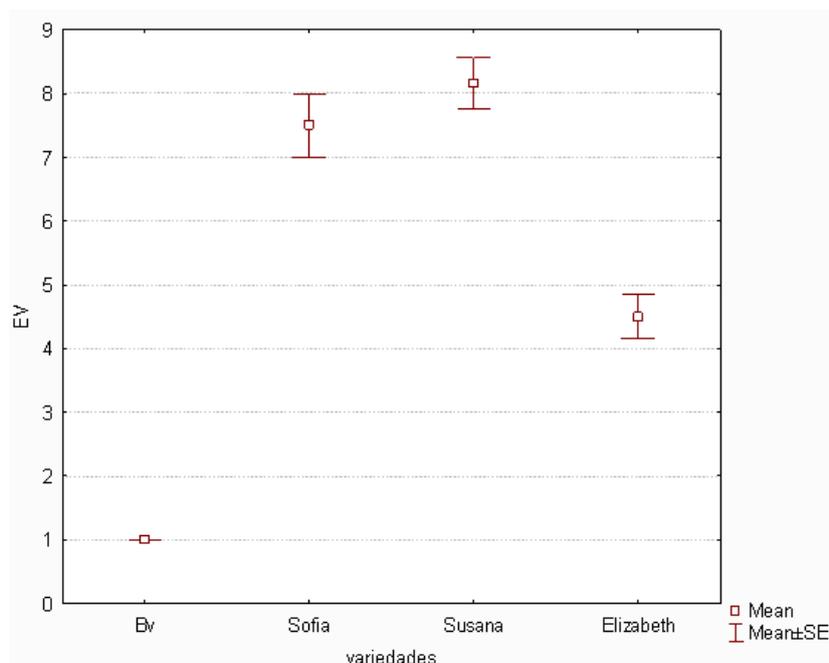


Figura 11. Escala visual de daño de las diferentes variedades.

En cuanto a la altura de las plantas se encontraron diferencias significativas entre las variedades comparadas ($F: 3,64; g.l. 20; p: 0,03$). Bv 156-11 fue la más tolerante con un índice promedio cercano a 1 (Figura 11), lo que indica que la altura de las plantas de las que se alimentaron los insectos no se vio tan afectada en relación con los controles sin infestación. En tanto, Sofía disminuyó un 25% el índice de altura (Figura 12) y Susana y Elizabeth mostraron valores intermedios de pérdida de altura. Como era de esperarse, el daño clorótico que causaron los pulgones provocó disminución del crecimiento de las plantas.

En lo que respecta al parámetro de crecimiento altura, la tolerancia de las plantas al áfido fue variable en los diferentes genotipos, siendo el Bv 11-156 el que mayor altura logró en el ensayo a pesar de la presencia del pulgón verde.

No solo se reconoce como resistente, si no que muestra un buen índice de altura con respecto a las variedades comerciales, sobre todo con Sofía.

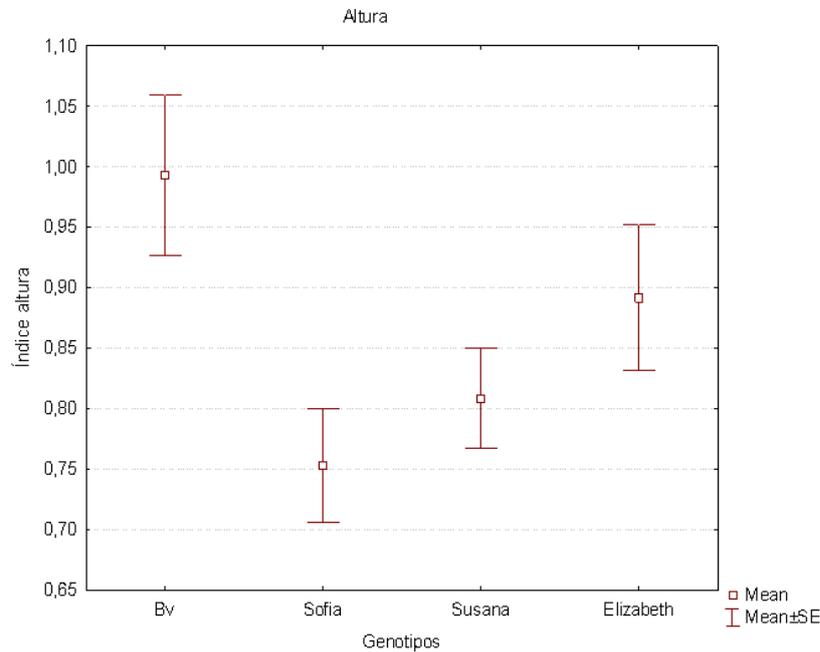


Figura 12. Índice de altura total en las diferentes variedades.

El contenido de clorofila determinado con el SPAD en la 2da hoja y presentado como Índice de clorofila (SPAD) mostró diferencias significativas entre sus valores ($F: 23,8; g.l. 20; p: 0.0000001$). El mayor índice de SPAD se dio en el genotipo Bv 156-11 con un valor de 0,93 (Figura 13) con diferencias notorias con las variedades Sofía y Susana que tuvieron índices bajos, lo que indica que las plantas infestadas con los áfidos tuvieron un daño clorótico evidente que se manifestó con el medidor de clorofila. En tanto Elizabeth mostró valores intermedios, tal como fue registrado en los parámetros de crecimientos mencionados anteriormente.

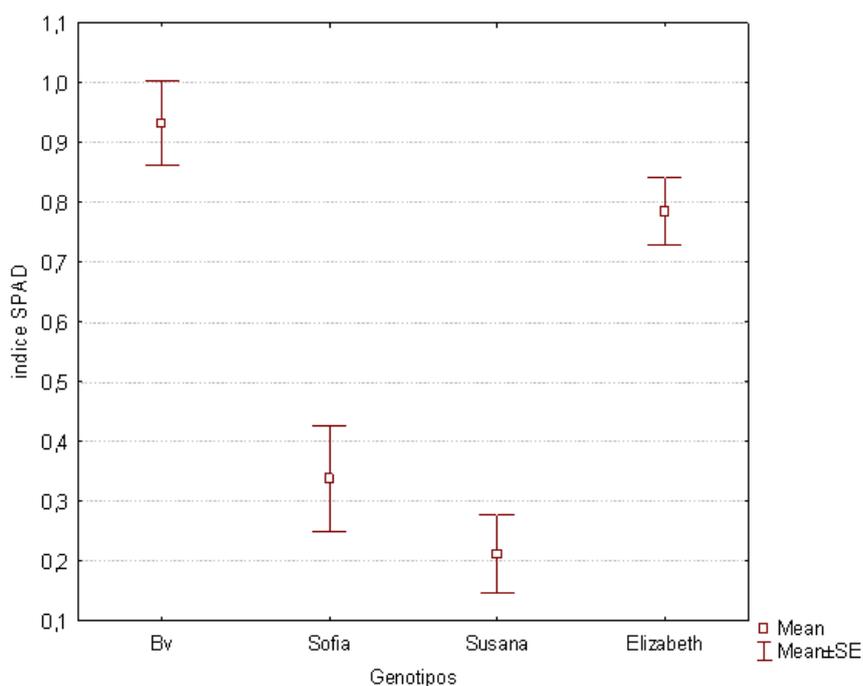


Figura 13. Índice de SPAD 2da hoja, según distintos genotipos

El contenido de clorofila está relacionado al concepto de fotosíntesis, proceso fundamental para la obtención de glucosa en las plantas, además de producir la clorofila que facilita el desempeño de las funciones de defensa de las células del sistema inmunológico (Ocampo, 2020). La determinación del contenido de clorofila provee una estimación de la habilidad de la planta de sobrevivir al ataque de áfidos, dado que los vegetales necesitan de este pigmento para producir biomasa. Si la planta no sufre una pérdida excesiva de clorofila como resultado de la alimentación del áfido, podría considerarse como tolerante (Lage et al., 2003).

En cereales como el trigo, cebada y avena, la fotosíntesis de la hoja bandera tiene un papel primordial en el rendimiento de grano, pues es la principal fuente de fotosintatos durante la etapa de llenado de grano. Existen diversos caminos para poder obtener altas tasas de fotosíntesis y encontrar una relación directa con el rendimiento de los cultivos. Uno de ellos es usar genotipos con hojas semierectas que permiten mayor penetración de la radiación en las hojas inferiores de la planta. Otra manera es emplear genotipos o cultivares con potencial de rendimiento alto, los cuales tienen mayor capacidad de enviar fotoasimilados al grano (mayor capacidad en la relación fuente-demanda). Por último, puede crecer el cultivo en ambientes de radiación alta (sin restricción de

agua), lo que permite altas tasas de fotosíntesis y, finalmente, un alto rendimiento de grano. La posibilidad de incrementar el rendimiento en trigo y otros cultivos con un aumento en la tasa de fotosíntesis ha sido considerada frecuentemente, pues toda la materia seca producida depende totalmente de este proceso (Gutiérrez-Rodríguez et al., 2005).

Antibiosis

Por último, la antibiosis fue evaluada mediante dos metodologías. Una de ellas se realizó contando el número total de insectos en la finalización del ensayo de tolerancia, luego de 10 días de infestación. Se observó que el genotipo Bv 156-11 fue el más antibiótico, con un promedio de insectos de 0,2, con relación a Susana que fue el menos antibiótico, con un valor promedio de 24,6 (Figura 14). A su vez, este comportamiento se corresponde con los valores de escala visual definidos para las variedades en el ensayo de tolerancia.

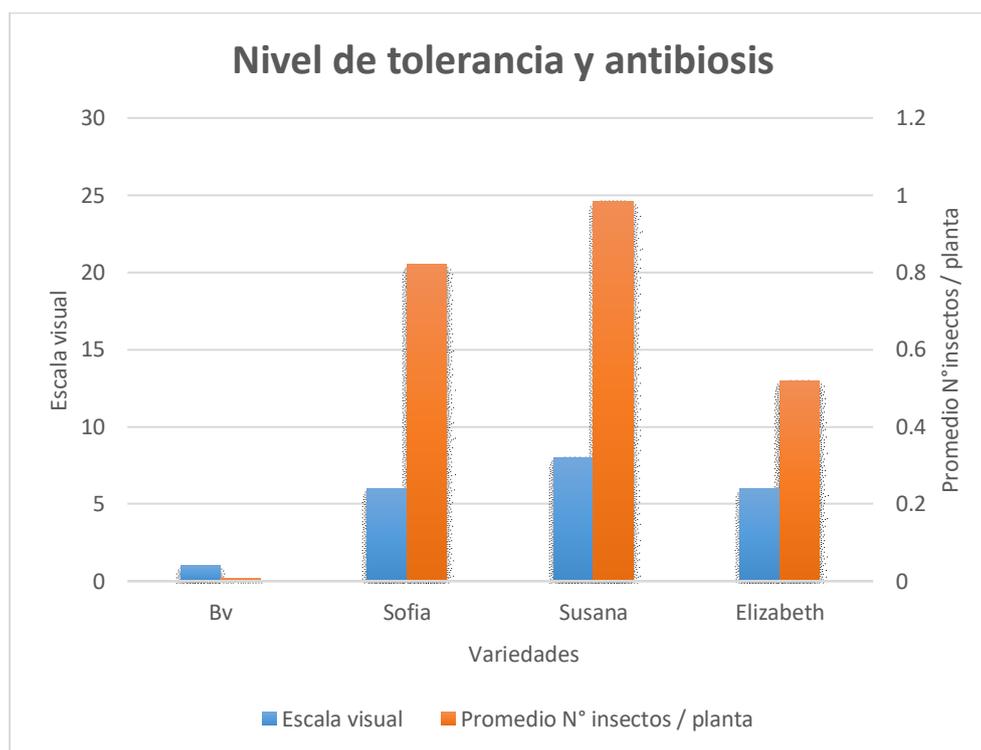


Figura 14. Evaluación entre la tolerancia según escala visual y la antibiosis.

La otra metodología probada fue a través del seguimiento individual del ciclo de vida de un áfido mediante la técnica elaborada por La Rossa et al., (2017). Durante la implementación de la técnica surgieron inconvenientes propios de la inexperiencia en la manipulación, que provocaron la muerte de los

insectos y la pérdida de repeticiones que imposibilitó obtener datos contundentes y con rigor estadístico. La principal dificultad fue regular la cantidad de humedad óptima en las cajas de Petri, que permitiera mantener vivas a las plantas y a su vez evitar la condensación en forma de gotas que ocasionó que los insectos se ahoguen. Se optó por descartar aquellas repeticiones en las que no se pudo discriminar entre la muerte del insecto por causas antibióticas o por ahogamiento.

Los insectos que sobrevivieron sobre Bv 156-11 tuvieron un ciclo de vida promedio de 17,1. Los que más vivieron lo hicieron 21 días y luego murieron. Además, pocos insectos (5 repeticiones de 19) pasaron al estado reproductivo y lo hicieron a los 18 días desde su nacimiento. Los que lo hicieron, tuvieron un bajo número de descendientes (0,6 ninfas en promedio) y a los 3 o 4 días de parir, murieron. Es decir, la mayoría de los insectos permanecieron como ninfas sin pasar al estado reproductivo y, cuando lo hicieron, la fecundidad fue muy baja (Figura 15).

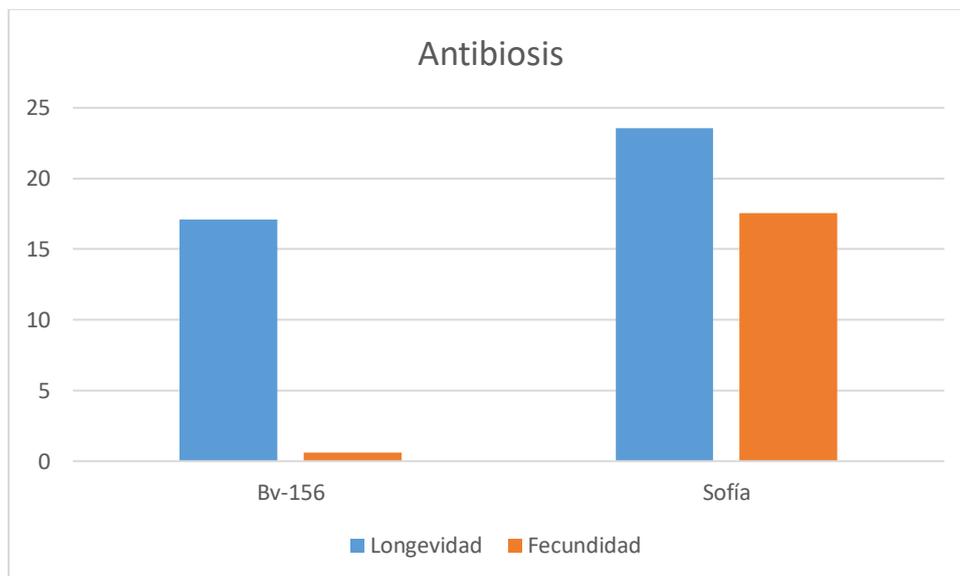


Figura 15. Resultados de longevidad y fecundidad en el ensayo de antibiosis.

En el caso de Sofía, la longevidad de los áfidos fue mayor con un promedio de 23,5 días. Sin embargo, se observó una gran heterogeneidad que fluctuó entre 17 y 30 días, a su vez los áfidos pasaron al estado reproductivo entre los 14 y 16 días desde su nacimiento. En cuanto a la fecundidad, se registró un promedio de 17,5 ninfas paridas (Figura 15).

Esta determinación se vuelve muy importante ya que, aunque se han implementado cientos de genes de resistencia a insectos en cultivares mejorados a nivel mundial, la literatura ofrece pocos ejemplos en los que estos cultivares hayan combinado realmente con otros métodos para formar programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) a campo. Un enfoque de MIP combina armoniosamente métodos o tácticas de manejo disponibles (control biológico, control cultural, control químico y otros métodos) para suprimir las densidades de plagas por debajo de niveles dañinos para los cultivos (Smith, et al., 2012).

Conclusiones

El genotipo Bv 156-11 manifestó la presencia de los tres tipos de resistencias. Por un lado, resultó ser el menos preferido por el áfido *Schizaphis graminum* en comparación con las otras variedades que resultaron más preferidas (menos antixenóticas). A su vez, mostró altos niveles de tolerancia con un bajo daño clorótico, una menor pérdida de altura y del contenido de clorofila comparado con sus testigos sin infestación. Por último, resultó ser antibiótica al acortar la longevidad y alterar la fecundidad de las hembras en evaluación. Por otro lado, Elizabeth tuvo valores intermedios de resistencia y, Sofía y Susana fueron los genotipos más susceptibles ante la infestación con el pulgón verde.

Conocer la interacción entre cultivares de avena experimentales y las plagas que con frecuencia ocasionan daños severos, permite a los mejoradores tomar decisiones criteriosas a la hora de seleccionar a los progenitores que darán origen a las siguientes generaciones, con el objetivo de incorporar genes de resistencia a plagas.

Bibliografía

Almaráz, L., Pardi, M. 2012. Mejoramiento en avena: resistencia genética a pulgón. CIC Pcia de Buenos Aires. Cerealicultura, Fac. Cs. Agr y Forestales UNLP.

Al-Mousawi, AH., Richardson, PE & Burton, RL. 1983. Estudios ultraestructurales del daño alimentario del chinche verde (Hemiptera: Aphididae) a cultivares de trigo susceptibles y resistentes. *Annals of the Entomological Society of America*. Volumen 76, número 6, 1 de noviembre de 1983, páginas 964–971.

Altier, N., Rebuffo M., Cabrera, K. 2010. Enfermedades y plagas en pasturas. Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología de INIA. Montevideo, Uruguay. Serie Técnica N° 183

Blackman, R.L. and Eastop, V.F. 1984. *Aphids on the World's Crops: Identification and Information Guide*. John Wiley Sons, London, 476 p.

Carbajo, H.L., 1998. Avena: su evolución, estado actual y perspectiva. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria (ANAV). http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/30632/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Castro, AM., Ramos S., A., Vasicek, AJ, Worland , DO Giménez , AA Clúa . Y E. Suarez. 2001: Identification of wheat chromosomes involved with different types of resistance against greenbug (*Schizaphis graminum* , Rond.) and the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxoid*. Mordvilko). *Euphytica* 118, 321 - 330.

Deol G.S., Reese J.C. y Gill B.S. 1997. A rapid, nondestructive technique for assessing chlorophyll loss from greenbug (Homoptera: Aphididae) feeding damage on sorghum leaves. *J. Kans. Entomol. Soc.* 70: 305-312

Doring, Thomas F. 2014. How aphids find their host plants, and how they don't. Department of Agronomy and Crop Science, Humboldt University Berlin, Berlin, Germany

Dughetti, A. 2012. Pulgones: Clave para identificar las formas ápteras que atacan a los cereales. RIAN, Red de información agropecuaria nacional. INTA y Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 44 pp.

Ficha técnica Forratec. <https://grupoagroempresa.com.ar/semillas-producto/avena-sofia-inta-forratec>

Ficha técnica Produsem. <https://www.produsem.com/ficha/Avena-Susana.pdf>

Gimenez, F., Moreyra, F., Lopez, J., Trainer Perez, E., Real Ortellado, M., Kruger, H., Mayo A., Labarthe, F. 2014. Verdeos de invierno: utilización de verdeos de invierno en planteos ganaderos del sudoeste bonaerense. Bordenave, Buenos Aires. Ediciones INTA, 2014. ISBN 978-987-521-567-2

Gutiérrez Rodríguez, M. Reynolds, M. Escalante Estrada, J. Larqué Saavedra, A. 2005. Algunas consideraciones en la relación entre fotosíntesis y el rendimiento de grano en trigo. Ciencia Ergo Sum, vol. 12, núm. 2, pp. 149-154 Universidad Autónoma del Estado de México Toluca, México.

Holtkamp, R.H., Clift, A.D. 1993. Establishment of three species of alfalfa aphids on 24 cultivars of alfalfa. Austr. J. Agric. Res. 44: 53-58.

Kogan M. y Ortman E.F. 1978. Antixenosis. A new term proposed to define Painter's "Non-preference" modality of resistance. Bull. Entomol. Soc. AMER., 24: 175-176.

La Rossa, F., Giudici, A., y Bainotti, C. 2017. Evaluación de una metodología de crianza individual de áfidos (Hemiptera: Aphididae) alternativa a la jaula de aplique. Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.), nº 61 (31/12/2017): 165–168.

Lage, J., Skovmand B. & Andersen S.B. 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.

Niemeyer, H. 1992. Aspectos ecológicos y moleculares de la interacción entre áfidos y sus plantas hospederas. Revista Chilena de Historia Natural 65: 103-114, 1992.

Noriega, A., Chidichimo H. & Castro, A.M. 2000. Determinación de biotipos en tres poblaciones de pulgón verde colectados en tres localidades de importancia cerealera en Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía* 104 (2): 85-92.

Ocampo Cordero, R. K. 2020. "La fotosíntesis y sus etapas en el proceso de producción de glucosa en las plantas". Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Babahoyo. Ecuador

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

Saldúa, V.L. & Castro, A.M. 2011. Expresión de la antibiosis y de la antixenosis contra el pulgón negro de los cereales (*Sipha maydis*) en cultivares comerciales de trigo.1 *Rev.Fac.Agron.* Vol 110 (1): 1- 11.

Smith, C.M. & Clement S.L.2012. *Molecular Bases of Plant Resistance to Arthropod*. Department of Entomology, Kansas State University, Manhattan, Kansas 66506.

Smith, C.M. 2005. *Plant resistance to Arthropods: molecular and conventional approaches*. Springer, Netherlands, pp 19–130.

Tablero de Cultivos. Estimaciones agrícolas. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca. Ministerio de Economía Argentina. Disponible en:<https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/estimaciones/tableros/tablero-cultivos.php?accion=imp>. Último acceso: marzo 2024.

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*). <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/82879>

Tocho E., Börner A. & Castro AM. 2013. Mapping and candidate gene identification of loci determining tolerance to greenbug (*Schizaphis graminum*, Rondani) in barley. *Euphytica* 191: 173–182. DOI 10.1007/s10681-012-0740-y.

Tocho E., Ricci M., Tacaliti MS., Giménez DO., Acevedo A., Lohwasser U., Börner A., Castro AM. 2012. Mapping resistance genes conferring tolerance to

RWA (*Diuraphis noxia*) in barley (*Hordeum vulgare*). *Euphytica* 188: 239-251.
DOI 10.1007/s10681-012-0710-4.

Tocho, É., Tacaliti, M.S., Musa, A., González, G.A., Moreyra, F., Giménez, F. 2019. Caracterización de la resistencia al pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*) en cultivares de cebada bajo condiciones controladas. *Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)*.

Tomaso, J.C. 2009. Cereales forrajeros de invierno. Sitio argentino de Producción Animal. Cuadernillo clásico de forrajeras. N° 149.

Vera N.F, Tacaliti M.S, Castro A.M. 2015. Identificación de sistemas genéticos que otorgan tolerancia a áfidos en trigo. *Investigación Joven*. Centro de Investigaciones en Sanidad Vegetal (CISaV), Genética, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales UNLP.

Webster, J.A., Kenkel, P. 1991. Benefits of managing smallgrain pests with plant resistance. En: Wiseman, B.R.; Webster, J.A. (Eds.). *Proceedings*, Thomas Say Publications in entomology. Entomological Society of America. Lanham, MD, 87-114 pp.