



DENSIDAD DE GLÁNDULAS DE GOSSYPOL DURANTE EL DESARROLLO DE BOTONES FLORALES DE *GOSSYPIUM HIRSUTUM* L. Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA A LEPIDOPTEROS.

Mauricio Tcach¹; Mariela Fogar²; Raúl Rios³; Pamela Sarco⁴; Carlos Acuña⁵.

1 – Estación Experimental de Presidencia Roque Sáenz Peña, Chaco Argentina. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). mtcach@chaco.inta.gov.ar; 2 – INTA Sáenz Peña; 3 – Instituto de Genética Ewald Favret INTA; 4 – INTA Colonia Benítez; 5 – Instituto de Botánica del Nordeste –Conicet).

Resumen: El objetivo del trabajo fue determinar la relación entre la densidad de glándulas de gossypol presente en los tejidos comprendidos en el tercio medio de botones florales obtenidos de genotipos *high* y *normal glanding* y el crecimiento de los mismos. Además evaluar el incremento de peso de larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith, alimentadas con botones florales de dos tamaño, extraídos de genotipos *high* y *normal glanding*. En función de los resultados observados, el número de glándulas por unidad de superficie disminuyó en las estructuras reproductivas a medida que estas incrementan su tamaño por acción del crecimiento. Además este efecto menos pronunciado en el genotipo *high glanding* que en los *normales*, lo cual podría indicar que la resistencia provocada por las glándulas varía en función del factor genético y estadio de crecimiento considerado de los botones florales. Por otro lado el peso de larvas de *S. frugiperda*, fue significativamente menor cuando fueron alimentadas con botones florales de menor tamaño. Esto indica que la resistencia provocada por las glándulas disminuye cuando las estructuras incrementan su tamaño por acción del crecimiento. Las larvas alimentadas con estructuras del genotipo *high glanding* presentaron menor peso en relación a las de *normal glanding*, demostrando diferencias significativas.

Palabras claves: *high glanding*, gossypol, *Spodoptera*, resistencia varietal

INTRODUCCIÓN

El fenómeno de herbivoría provocado por los insectos, afecta en forma negativa a los cultivos, generando disminuciones importantes en los rendimientos. Se estima que alrededor de un 13 % de las pérdidas de producción está en relación a los daños causados por insectos (BENTO, 1999). El algodón *Gossypium hirsutum* L, es atacado por un gran número de plagas. Cada población de individuos perjudiciales establece con el cultivo interacciones que dependen del genotipo y del ambiente.

Es necesario conocer los mecanismos que inciden en la resistencia de los cultivos a las plagas, para administrar mejor las estrategias de control y para desarrollar estrategias más eficientes de selección.

La constitución bioquímica de los vegetales es uno de los factores más importante en dichas interacciones. El algodón en sus estructuras vegetativas y reproductivas contiene concentraciones variables de gossypol. Este compuesto es un pigmento amarillo de naturaleza polifenólica, producido en estructuras sub-epidérmicas denominadas glándulas (se encuentran en todos los órganos de la planta de algodón) y define cierto grado de resistencia a plagas. **Shaver et al. (1980) estimaron la correlación entre el peso larval de *Heliothis virescens* y el contenido de gossypol en las flores, hallando un coeficiente $r^2 = -0.90$. En relación a las hojas,** Mcauslane (1997) observó que larvas de *Spodoptera exigua* en sus primeros estadios consumieron mayor cantidad de hojas desprovistas de glándulas.

Existen seis factores genéticos que controlan la presencia de glándulas en las distintas partes de la planta, GI2 y GI3 son los de mayor importancia, siendo gl2 y gl3 sus formas recesivas. Cuando ambos grupos de alelos están en forma dominante (GI2 GI2 GI3 GI3), el individuo presenta glándulas en todos los órganos. [Calhoun \(1997\)](#) encontró una forma especial denominada GL3^s, la cual se caracteriza por producir glándulas en el margen del cáliz de las flores, este genotipo fue denominado *high-glanding* (HG). Esta variante es considerada una fuente interesante de resistencia a insectos, y puede ser usada en programas de mejoramiento. Este carácter es dominante y segrega 3:1 en la F₂, *high-glanding* y *normal-glanding* respectivamente. Hendin et al. (1992) y Parrott et al. (1989) evaluaron el carácter en poblaciones de *Heliothis virescens*, destacando un efecto de antibiosis en el crecimiento de larvas. Sin embargo no se sabe si esta resistencia es dependiente del estado de desarrollo de los órganos reproductivos. El objetivo del trabajo fue determinar qué relación tiene el crecimiento de botones florales con la resistencia varietal a larvas de lepidópteros producidas por las glándulas de gossypol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal:

El material vegetal corresponde a líneas puras de *Gossypium hirsutum* L., que forman parte del programa de mejoramiento del INTA. El primero denominado SP 26 HG, caracterizado por su fenotipo *high-glanding*. El segundo y tercero son líneas emparentadas con SP 26 HG, compartiendo un progenitor, sus denominaciones son NG1 y NG2 respectivamente, sin embargo ambas líneas poseen fenotipos *normal-glanding*, es decir no presentan glándulas de gossypol en el tercio superior del cáliz de las flores.

Para determinar la relación entre la resistencia provocada por glándulas de gossypol y el tamaño de las estructuras reproductivas, fueron diseñados dos experimentos. El primero consistió en determinar la relación entre la densidad de glándulas de gossypol y la edad de las estructuras reproductivas. Para ellos fueron sembrados en macetas de 5 litros, con sustrato a base de 1/3 de arena y 2/3 suelo, los siguientes genotipos: HG, NG1 y NG2, durante el mes de noviembre del 2009. Para determinar la relación de crecimiento – resistencia, fueron marcados en 10 botones florales el tipo de cada genotipo distribuidos en 10 plantas, registrando el estadio cabeza de alfiler de cada estructura. A partir de 50 grados días de esta fase fue realizado el recuento de glándulas de gossypol en el tercio medio de los botones florales, empleando una lupa portátil 20X con campo visual definido de 25mm². Este registro consistió en 3 mediciones a intervalos de 6 días. Además del parámetro mencionado también fueron medidos los diámetros de cada botón en los mismos momentos de recuento de glándulas. También, en el genotipo HG fue registrado el número de glándulas en el tercio superior del cáliz, solo durante la tercera medición. Los datos fueron analizados empleando el software SAS. Se ajustó para cada genotipo un modelo de regresión, diámetro y número de glándulas del tercio medio, para finalmente calcular las diferencias entre pendientes mediante una prueba de paralelismo. **En un segundo experimento se realizaron bioensayos con *Spodoptera frugiperda*. Se extrajeron botones florales de 2 tamaños (6,5 y 9 mm) de los 3 genotipos HG, NG 1 y NG 2. El diseño empleado fue completamente al azar en forma factorial (tamaño de botón floral y genotipo), con 5 repeticiones. Las brácteas fueron eliminadas y se realizó la desinfección de los botones florales con una solución de hipoclorito de sodio al 1%. Las larvas utilizadas provenían de la cría que realiza el laboratorio de Entomología de la Estación Experimental INTA Sáenz Peña.**

Los botones florales preparados fueron dispuestos en cubetas, uno por orificio, con un soporte de agar. Luego se procedió a liberar una larva neonata por botón floral. Cada repetición estuvo integrada por 6 botones con 6 larvas.

A los 7 días se registró el peso de larvas y posteriormente se procesaron los datos en el software SAS, se realizó el análisis de la variancia y la comparación de medias con test de Tukey; con nivel de significancia de 5 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Un total de 86 registros de número de glándulas y diámetro fueron realizados durante 16 días. En los tres genotipos evaluados, la densidad de glándulas disminuyó con el incremento del diámetro de los botones florales, registrando un máximo de 83,7 glándulas en 25 mm² para HG en botones de 6,3 mm a un mínimo de 35,8 en botones de 10,3 mm para el genotipo NG2 (Tabla 1). Además es

importante destacar que la relación observada entre el tamaño de los botones florales y la densidad de glándulas de gossypol fue estrictamente lineal. (Shaver et al 1980) concluyeron que la densidad de glándulas presenta asociación positiva con la resistencia a *H.virescens*. Wilson y col (1973), destacaron que los tejidos con mayor densidad de glándulas contienen más gossypol por unidad de masa. En función de los conceptos mencionados y los resultados observados, cuando los tejidos incrementan su tamaño disminuye el número de glándulas de gossypol por unidad de superficie (Figura 1 y Tabla 1), y por lo tanto también la resistencia.

Hendin et al. (1992), determinaron que las larvas de *H. virescens*, preferían consumir tejidos desprovistos de glándulas destacando que estas cuando son neonatas se alimentan del tercio superior del cáliz, región desprovista de dichas estructuras. En el genotipos HG la **disminución de glándulas por unidad de superficie es significativamente menor en relación a NG1 y NG2, pero no difiere entre los genotipos normal -glanding** (Figura 1), $p= 0,0020$ y $0,0138$ respectivamente.

Bioensayos con *Spodoptera frugiperda*

Las estructuras de mayor tamaño generaron larvas de *S frugiperda* de mayor peso en los 3 genotipos HG, NG1 y NG2 (Figura 2), con **diferencias significativas al 5 %**. Los pesos de las larvas variaron entre 12,10 mg en la primera edad a 21,77 en la segunda, expresado como promedios de los tres genotipos. Estos resultados, confirman que la resistencia generada por las glándulas de gossypol disminuye por efecto del crecimiento. Por otro lado a pesar de que para la línea HG se observó una menor pendiente en el "proceso de dilución" de dichas estructuras (Figura 1), la densidad de glándulas terminó siendo superior en dicha línea. Esto define un mayor grado de resistencia a larvas de *S.frugiperda*, en líneas HG ya que el peso de las mismas fue **significativamente menor en relación a NG1 y NG2** (Figura 2). Mcauslane (1997) destacó que larvas de *Spodoptera sp.*, preferían consumir tejidos desprovistos de glándulas. Parrott et al. (1989) y Hendin et al. (1992), observaron resultados similares en larvas de *H. virescens*.

CONCLUSIONES

La resistencia a lepidópteros provocada por las glándulas de gossypol, observada por diversos autores disminuye cuando los tejidos crecen. Este fenómeno esta explicado por una dilución de dichas estructuras ocasionada por la expansión de los órganos. Es decir que además de la distribución de las glándulas en los órganos reproductivos, el estadio y grado de resistencia determinan el crecimiento de las larvas de *S. frugiperda*. Es probable que para el resto de lepidópteros el sistema de resistencia presente un efecto similar.

BIBLIOGRAFIA

BENTO, J. M. S. Perdas por insetos na agricultura. *Ação Ambiental*, v. 4, p. 19-21, 1999.

CALHOUN, D. S. Inheritance of High Glanding, an Insect Resistance Trait in Cotton. *Crop Science*. v. 37, p. 1181-1186, 1997.

HEDIN, P. A.; PARROTT, W. L.; JENKINS, J. N. Relationship of glands cotton square terpenoid aldehydes, and other allelochemicals to larval growth of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* v. 85, p. 359–364, 1992.

MCAUSLANE, H. J., ALBORN, H. T., TOTH, J. P. Systemic induction of terpenoid aldehydes in cottonpigment glands by feeding of larval *Spodopteraexigua*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 23, p. 2861-2879, 1997.

PARROTT, W. L.; JENKINS, J. E., MULROONEY, J. C.; CARTY, M. C.; SHEPHERD, R. L. Relationship between gossypol gland density on cotton squares and resistance to tobacco budworm larvae. *J. Econ. Entomol.* v. 82, p. 589–592, 1989.

SHAVER, T. N.; DILDAY, R. H.; WILSON, F.D. Use of Glandless Breeding Stocks to Evaluate Unknown *Heliothis* Growth Inhibitors (X-Factors) in Cotton. *Crop Science*, v. 20, p. 545-548, 1980.

WILSON, F.D.; SHAVER, T. N., Glands, Gossypol Content, and Tobacco Budworm Development in Seedlings and Floral Parts of Cotton. *Crop Science*, v. 13, p. 107-110. 1973.

Tabla 1. Distribución de glándulas de gossypol en botones florales, en función del diámetro, estadio y genotipo: HG, NG1y NG2, registro realizado en noviembre del 2009.

Fecha	Genotipo	Nº medio de glándulas 1/3m en 25mm ²	Nº de glándulas en el tercio superior	Diámetro en mm
06-sep	HG	83,7 +/- 14,3	-	6,3 +/- 0,8
12-sep	HG	65,4 +/- 7,9	-	7,6 +/- 0,8
18-sep	HG	44,18 +/- 5,2	35 +/- 18	8,9 +/- 0,7
06-sep	NG1	73,3 +/- 8,5	-	5,7 +/- 0,69
12-sep	NG1	54,1 +/- 5,2	-	6,45 +/- 0,7
18-sep	NG1	41,4 +/- 6,1	0	8,5 +/- 0,6
06-sep	NG2	61,4 +/- 13,5	-	6,3 +/- 1,03
12-sep	NG2	47,7 +/- 16,1	-	7,8 +/- 1,06
18-sep	NG2	35,8 +/- 10,2	0	8,7 +/- 1,15

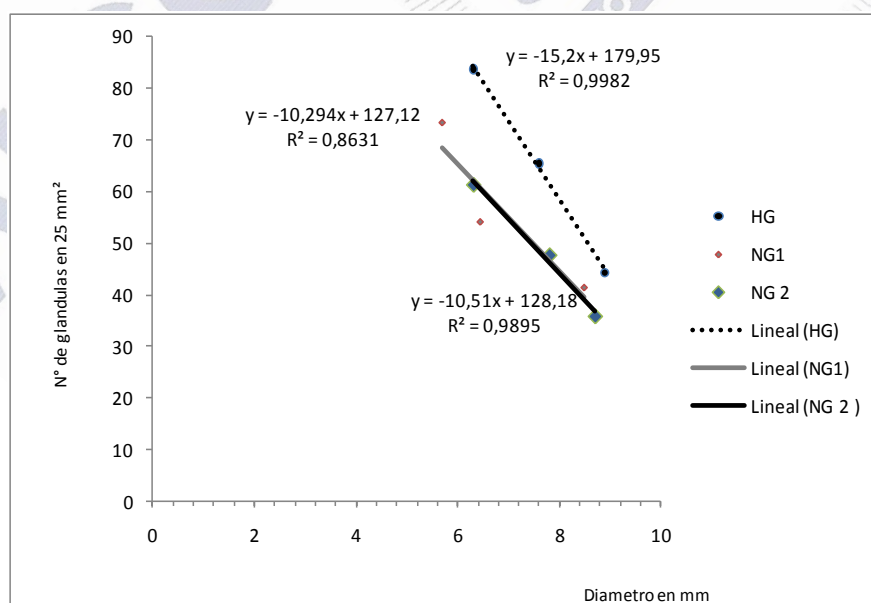


Figura 1. Densidad de glándulas de gossypol en el tercio medio de los botones florales en función al diámetro de los mismos, en tres genotipos uno high glanding y dos normal glanding (NG1, NG2 y HG)

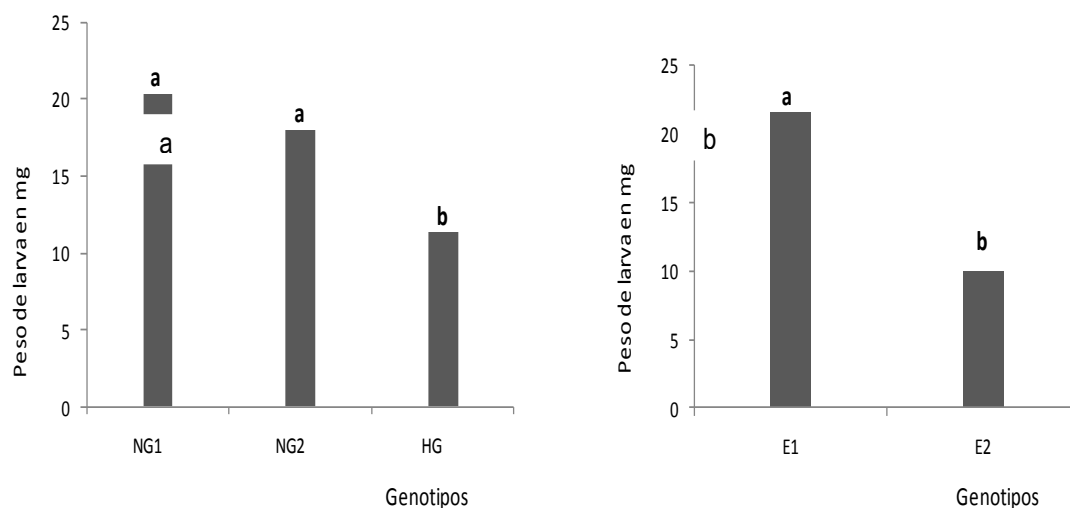


Figura2. a: peso de larvas em mg, 7 dias posteriores a ser alimentadas com botões florais de tres genótipos, uno *high glanding* (SP 26 HG) y dos *normal glanding* (NG1 y NG2); b: peso de larvas em mg, 7 dias posteriores a ser alimentadas con botões florais de dos tamaños (E1: 6,5 mm y E2: 9 mm).