

**EVALUACIÓN DE LA ANTIBIOSIS A PULGÓN RUSO *Diuraphis noxia*  
(Kurdjumov) EN LÍNEAS RECOMBINANTES EXPERIMENTALES DE TRIGO  
(*Triticum aestivum* L.)**



**Tesis presentada para optar al título de Magister Scientiae de la Facultad de  
Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata**

**RAÚL DAVID CÁRDENAS YÉPEZ**

**Tesista Ingeniero Agrónomo**

Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



**EVALUACIÓN DE LA ANTIBIOSIS A PULGÓN RUSO *Diuraphis noxia*  
(Kurdjumov) EN LÍNEAS RECOMBINANTES EXPERIMENTALES DE TRIGO  
(*Triticum aestivum* L.)**



**Tesis presentada para optar al título de Magister Scientiae de la Facultad de  
Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata**

**ANA MARÍA CASTRO**

**Director: Doctora. Ingeniero Agrónomo**

**MÓNICA RICCI**

**Codirector: Doctora Ingeniero Agrónomo**

**EVALUADORES:**

**Ing. Agr. (Magister) Marcela Lietti**

**Ing. Agr. (Magister) Francisco Rubén La Rossa**

**Doctor César Salto**

**Diciembre 2015**

**Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**



*A Dios y mi familia*

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a Dios por bendecirme, quien ha sido el pilar fundamental de mi vida y por darme la fortaleza necesaria para poder cumplir con mis objetivos. Por estar conmigo en las buenas y en las malas, por eso se lo debo todo a Él, ya que a pesar de mis errores en esta vida él supo perdonarme y darme siempre una nueva oportunidad para ser mejor.

De manera especial a mi Directora de Tesis la Dra. Ana María Castro por haber confiado en mí y mostrarme que con sabiduría y paciencia todo es posible. Por su manera de trabajar, su persistencia, motivación y amabilidad que fueron fundamentales para mí durante todo éste proceso. Por haber sido como una madre al darme sus consejos, que a su manera, ha sido capaz de ganarse mi lealtad y admiración.

A mi Codirectora la Dra. Mónica Ricci por su valiosa colaboración al brindarme su conocimiento y orientación pertinentes, que han sido de mucha utilidad en la redacción de esta Tesis. Por su afectuoso trato y cordialidad.

Al tribunal evaluador: Ing. Agr. (Magister) Marcela Lietti, Ing. Agr. (Magister) Francisco Rubén La Rossa y al Doctor César Salto, por sus aportes y oportunas correcciones para mejorar ésta Tesis.

También me gustaría agradecer a mis profesores porque todos han aportado con un granito de arena a mi formación, en especial a la Dra. María Rosa Simon, que como Directora de la carrera de Maestría en Protección Vegetal mostró dedicación y responsabilidad a lo largo de éste proceso.

A la Universidad Nacional De La Plata por darme la oportunidad de estudiar en tan prestigiosa institución.

A éste hermoso país Argentina, por sus tradiciones y la amabilidad de su gente.

Al Gobierno de mi país Ecuador, por haberme ayudado con la financiación de mi carrera.

A todos mis compañeros y compañeras de clase, quisiera darles las gracias por los buenos momentos que hemos compartido. Creo que todos hemos aprendido y aprendemos continuamente de todos y de nosotros mismos, tanto profesional como personalmente. En especial un cariñoso reconocimiento a los que me han demostrado su

apoyo y brindado sus ánimos y consejos: José Doeyo, Juan Pablo Giménez, Eduardo Punschke, Diego Szwarc, Matías Schierenbeck y mi gran amigo y hermano Juan Ignacio Dietz.

Por último a las personas más importantes de mi vida:

A mis padres, Rosa Yépez y Ernesto Cárdenas, por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado y su inmenso amor, porque creyeron desde el comienzo en mis convicciones e ideales a lo largo de toda mi carrera. A mi tía María Cárdenas, mi hermano y mis hermanas por su cariño y apoyo incondicional, a todos ellos que son mi familia por el solo hecho de existir hacen que mi vida tenga un propósito.

## INDICE GENERAL

### CAPÍTULO I

#### INTRODUCCIÓN

1.	El cultivo de trigo.....	2
1.1.	Importancia en la producción.....	2
1.2.	Factores que afectan al rendimiento del cultivo de trigo.....	4
1.3.	Importancia agrícola de los áfidos.....	4
1.3.1.	Tipos de daños de los áfidos.....	4
1.3.2.	Taxonomía de los áfidos.....	5
1.3.3.	Ciclo biológico de los áfidos.....	6
1.3.4.	Alimentación de los áfidos.....	11
1.4.	El pulgón ruso del trigo ( <i>Diuraphis noxia</i> ).....	14
1.4.1.	Introducción en Argentina.....	14
1.4.2.	Morfología.....	15
1.4.3.	Características reproductivas del PRT.....	18
1.4.4.	Daños ocasionados por el PRT.....	19
1.5.	Interacción planta-insecto.....	21
1.6.	Mecanismos de resistencia.....	23

### CAPÍTULO II

#### OBJETIVOS, HIPOTESIS Y PREDICCIONES

2.	<b>Objetivos, Hipótesis y Predicciones.....</b>	<b>30</b>
2.1.	Objetivos.....	30
2.2.	Hipótesis.....	30
2.3.	Predicciones (resultados esperados).....	30

### CAPÍTULO III

#### MATERIALES Y METODOS

3.	<b>Materiales y Métodos.....</b>	<b>32</b>
3.1.	Características de las líneas recombinantes usadas en la investigación.....	32
3.2.	Padres empleados en la investigación.....	32

3.3.	Descripción del ensayo.....	32
3.4.	Biotipo del áfido usado para la investigación.....	33
3.5.	Método de evaluación del ensayo.....	33

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS**

4.	<b>Resultados</b> .....	36
4.1.	Período prereproductivo (d).....	36
4.2.	Md: número de ninfas nacidas por hembra en un período igual a d.....	38
4.3.	Período reproductivo.....	39
4.4.	Fertilidad total (FT).....	40
4.5.	Longevidad (L).....	42
4.6.	Tasa intrínseca de crecimiento poblacional " $r_m$ ".....	43

## **CAPÍTULO V DISCUSIÓN**

5.	<b>Discusión</b> .....	46
----	------------------------	----

## **CAPÍTULO VI CONCLUSIONES**

6.	<b>Conclusiones</b> .....	53
----	---------------------------	----

## **CAPÍTULO VII BIBLIOGRAFÍA**

7.	<b>Bibliografía</b> .....	55
----	---------------------------	----

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura de siembra y cosecha del trigo alrededor del mundo.....	2
Figura 2: Ciclo de vida generalizado del pulgón en la forma de un huésped alterno (heteroica).....	8
Figura 3: Ciclo de vida generalizado del pulgón en la forma de un huésped no alterno (monoico).....	9
Figura 4: Rutas de las supuestas invasiones del pulgón ruso del trigo en todo el mundo.....	15
Figura 5: Pulgón ruso del trigo ( <i>D. noxia</i> ), hembras ápteras, vista lateral y dorsal, mostrando las antenas cortas, la cauda, el proceso supracaudal (tubérculo espinal) y los sifones tronco cónicos vestigiales.....	16
Figura 6: Pulgón ruso del trigo ( <i>D. noxia</i> ), hembra áptera vivípara, preparado microscópico donde se observa la cauda y supracauda.....	16
Figura 7: Hembra áptera vivípara de <i>D. noxia</i> . Detalle del aparato bucal picador-suctor y de los tubérculos frontales, preparado microscópico.....	17
Figura 8: Hembra áptera vivípara, vista posterior. Detalle de la cauda, el tubérculo espinal y los sifones vestigiales, preparado microscópico.....	17
Figura 9: Pulgón ruso del trigo ( <i>D. noxia</i> ), hembra áptera vivípara, último antenito, preparado microscópico.....	17
Figura 10: Pulgón ruso del trigo ( <i>D. noxia</i> ), colonia de áfidos (adultos y ninfas), enrollamiento longitudinal en la hoja.....	20
Figura 11: Daño provocado por <i>D. noxia</i> en una hoja de trigo, mostrando el listado longitudinal blanco.....	20
Figura 12: Daño provocado por <i>D. noxia</i> en plantas de trigo, mostrando el listado longitudinal blanco y púrpura producto de sus toxinas.....	20
Figura 13: Daño provocado por <i>D. noxia</i> en la espiga de trigo.....	21
Figura 14: Distribución de la duración del período prereproductivo (d) de los áfidos criados en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	37

Figura 15: Distribución del parámetro Md: Ninfas nacidas del PRT en un período igual a d, criados en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	39
Figura 16: Distribución de frecuencias del Período reproductivo del PRT criados en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	40
Figura 17: Distribución de frecuencias del parámetro Fertilidad Total (FT), del PRT criados en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	41
Figura 18: Distribución de frecuencias del parámetro Longevidad, cuando el PRT fue criado en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	43
Figura 19: Distribución de frecuencias de la tasa intrínseca de crecimiento poblacional $r_m$ , del PRT cuando fue criado en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	44

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Producción y superficie sembrada de trigo por provincias, campaña 2014/15.....	4
Tabla 2: Cuadrados medios de los parámetros biológicos de <i>D. noxia</i> en trigo.....	36
Tabla 3: Cuadro de resultados para el parámetro Período Prereproductivo (d) de los áfidos criados sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	37
Tabla 4: Resultados obtenidos para el parámetro Md como el Número de ninfas nacidas en un período igual a d, para <i>D. noxia</i> criados sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	38
Tabla 5: Período Reproductivo de <i>D. noxia</i> criado sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	40
Tabla 6: Fertilidad Total de <i>D. noxia</i> criados sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	41
Tabla 7: Longevidad de <i>D. noxia</i> cuando el áfido fue criado sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	42
Tabla 8: Tasa intrínseca de crecimiento poblacional “ $r_m$ ” de <i>D. noxia</i> cuando fue criado sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.....	44

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ABA	Ácido abscísico
CM	Cuadrado medio
cM	Centimorgan
DMS	Diferencia mínima significativa
Dom	Dominante
ET	Etileno
HR	Respuesta de hipersensibilidad (hypersensitive response)
IP	Inhibidores de proteinasas
JA	Ácido jasmónico
LR	Líneas recombinantes
MAS	Selección asistida por marcadores (Marker assisted selection)
MIP	Manejo Integrado de Plagas
PCD	Muerte celular programada (Programmed cell death)
PR	Proteínas relacionadas con la patogénesis
PRT	Pulgón ruso del trigo
QTL	Loci de caracteres cuantitativos (Quantitative trait loci)
Rec	Recombinante
RI	Resistencia inducida
ROS	Especies de oxígeno reactivo (Reactive oxygen species)
SA	Ácido salicílico
SAR	Resistencia sistémica adquirida (Systemic acquired resistance)
T	Testigo

## RESUMEN

El pulgón ruso del trigo (PRT), *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) es una de las plagas más dañinas que atacan al cultivo de trigo y cebada, provocando pérdidas considerables en la producción. Este áfido ha evolucionado en numerosos biotipos existiendo al menos tres en Argentina, con características diferenciales a los de otras latitudes. Si bien se han identificado genes de resistencia biotipo-específicos, dentro del manejo integrado de plagas es crítico evaluar las fuentes de resistencia y los materiales nóveles con las poblaciones locales de las plagas. Por esa razón, el objetivo de la presente tesis ha sido estudiar el efecto antibiótico de líneas recombinantes (LR) experimentales de trigo (*T. aestivum*) sobre los parámetros biológicos del PRT (periodo prereproductivo  $-d-$ , reproductivo  $-PR-$ ,  $Md$ , fertilidad total  $-FT-$ , supervivencia  $-LNG-$  y Tasa intrínseca de incremento poblacional  $-r_m$ ). Se evaluaron 113 LR y ambos padres (Opata y Sintético 6X) sobre los que se registró el ciclo y reproducción del biotipo 5 del PRT. Todos los parámetros estudiados en los áfidos presentaron diferencias significativas entre los genotipos usados. Se identificaron tres líneas antibióticas que alargaron el período prereproductivo ( $d$ ), la línea más antibiótica incrementó el período  $d$  en un 40% con relación a la media poblacional. En el parámetro  $Md$  se encontraron cuatro líneas que condicionaron una disminución del 77%. El período reproductivo ( $PRP$ ) resultó significativamente menor en las mismas LR, que en este caso indujeron una reducción del 78% del  $PRP$  en relación a la media de la población. La fertilidad total ( $FT$ ) fue significativamente reducida en los áfidos criados en las LR más antibióticas, con niveles 89% menores a los de la media de la población. La duración del ciclo de vida fue reducida en un 54% en los áfidos criados en las LR más antibióticas. La Tasa intrínseca de incremento poblacional ( $r_m$ ) presentó valores mínimos en los áfidos criados en las LR más antibióticas, que representaron una disminución del 67% en relación a la media de la población. Se identificaron tres LR con un significativo efecto antibiótico que alteró el ciclo biológico del PRT, estas líneas podrán utilizarse como fuente de genes de antibiosis en la obtención de nuevos cultivares resistentes.

## ABSTRACT

The Russian wheat aphid (PRT) *Diuraphis noxia* (Kurdjumov ) is one of the most harmful pests of wheat and barley, causing considerable losses in the production. This aphid has evolved numerous biotypes, at least three of them exist in Argentina, showing different characteristics to those ones from other latitudes. Although, biotype-specific resistance genes have been identified, within the integrated pest management it is critical to evaluate the novel sources of resistance with local populations of pests. For that reason, the aim of the current thesis was to study the antibiotic effect of experimental recombinant inbred lines (LR) of wheat (*T. aestivum*) on biological parameters of the PRT (immature period-  $d$ -, reproductive stage- PRP-, Md, fertility – TF-, survival- LNG - and intrinsic rate of population increase-  $r_m$ ). The life span and reproduction of PRT biotype 5 have been assessed on 113 LR and both parents (Opata and Synthetic 6X). Every aphid parameter studied showed significant differences between genotypes. Three antibiotic lines lengthened the  $d$  period have been identified, the most antibiotic LR increased by 40 %  $d$  period compared to the average determined. The Md was diminished by 77% in four LR. The reproductive period (PRP) was significantly lower in the same LR, which in this case induced a 78% reduction of PR in relation to the average of the population. The FT was significantly reduced in aphids reared in the most antibiotic LR, with 89 % lower level compared to the population average. The  $Long$  was reduced by 54 % in aphids reared in the most antibiotic LR. The  $r_m$  had minimal values in aphids reared on the most antibiotic LR's, representing a decrease of 67 % compared to the population average. Three LR were identified with significant antibiotic effect that altered PRT life cycle, these lines can be used as a source of antibiosis genes for breeding resistance in new cultivars.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN



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; dicho cereal lidera la actividad agrícola más extendida del país, destacándose por su importancia en la rotación, ya que el mismo se hace imprescindible para recuperar nutrientes del suelo y asegurar su potencialidad (Calzolari et al., 2008). De las 36,8 millones de hectáreas sembradas con cereales y oleaginosas en Argentina, en la campaña 2014/15 el trigo ocupó el 14% (5,2 millones de hectáreas), con una producción de 13,9 millones de toneladas y un rendimiento de 2,8 Kg/ha (SIIA, 2014).

En Argentina el trigo se introdujo en el Río de la Plata con la llegada de Sebastián Gaboto en 1527. La primera siembra del cultivo se realizó en el fuerte *Sancti Spiritu*, al margen del río Carcarañá, en la provincia de Santa Fe. La siembra se repitió los dos años siguientes, pero finalmente el fuerte fue abandonado, no así, la siembra del trigo que continuó (aunque en escasas proporciones) por tres siglos alrededor de las aldeas y en parcelas muy limitadas. El trigo fue, por lo tanto, el cultivo pionero de la colonización agrícola de la región pampeana (Miralles & González, 2010).

Como puede observarse en la Tabla 1, en la producción y superficie sembrada de trigo por provincias, Buenos Aires es la principal productora con 2 millones de hectáreas y 6,4 millones de toneladas; le sigue Córdoba, con 1 millón de hectáreas y 3 millones de toneladas y Santa Fe con 925 mil hectáreas y una producción de 2,5 millones de toneladas (SIIA, 2014).

Tabla 1. Producción y superficie sembrada de trigo por provincias, campaña 2014/15.

Fuente: Sistema Integrado de Información Agropecuaria (SIIA), 2014.

<b>Campaña</b> <b>2014/15</b>	<b>Superficie</b> <b>sembrada (ha)</b>	<b>Producción</b> <b>(tn)</b>	<b>Rendimiento</b> <b>(kg/ha)</b>
Buenos Aires	2.187.415	6.468.158	3.091
Córdoba	1.141.000	3.027.430	2.698
Santa Fe	925.000	2.519.010	2.777
La Pampa	330.000	794.665	2.568
Entre Ríos	318.000	830.205	2.646
Santiago Del Estero	150.000	113.080	1.324

Chaco	90.020	70.650	1.087
Tucumán	63.190	53.430	1.595
Salta	30.125	17.880	1.651
Catamarca	15.000	14.180	1.891
San Luis	8.450	16.660	2.044
Jujuy	2.835	4.730	2.426
<b>Total país</b>	<b>5.261.035</b>	<b>13.930.078</b>	<b>2.810</b>

## 1.2. Factores que afectan al rendimiento del cultivo de trigo

Entre los principales problemas agrícolas que afectan al trigo, se encuentran factores ambientales como la temperatura (baja o alta), la radiación solar, condiciones del suelo; también están los factores de manejo como las fallas en la implantación del cultivo, la preparación del suelo, la genética y viabilidad de las semillas, entre otros. Entre los factores bióticos que afectan al rendimiento se destacan las enfermedades causadas por hongos, virus y bacterias, así como las plagas que se alimentan de las plantas impidiendo su crecimiento, causando daños severos en su fisiología, pudiendo ocasionar la muerte de la misma (Rawson & Macpherson, 2001).

Entre las plagas insectiles que afectan al cereal se encuentran los áfidos (Hemiptera: Aphididae), como “el pulgón de la espiga”, *Sitobion avenae* (Fab.); el “pulgón de la raíz de los cereales” *Rhopalosiphum rufiabdominalis* (Sasaki); el “pulgón de la avena” *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus); el “pulgón del maíz” *Rhopalosiphum maidis* (Fitch); el “pulgón amarillo” *Metopolophium dirhodum* (Walker); el “pulgón verde de los cereales” *Schizaphis graminum* (Rond.) y el “pulgón ruso del trigo” *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Blackman & Eastop, 2000).

## 1.3. Importancia agrícola de los áfidos

### 1.3.1. Tipos de daños de los áfidos

Los áfidos, debido a sus características biológicas y al impacto económico que producen en los cultivos, representan uno de los grupos de insectos más importantes desde el punto de vista agronómico, constituyendo algunos de ellos serias plagas de las plantas cultivadas (Delfino, 2005). El cultivo de trigo está expuesto al ataque de diferentes

plagas desde la siembra a la cosecha, siendo los áfidos uno de los principales problemas en toda la región pampeana (Imwinkelried et al., 2009).

Los daños que producen se pueden clasificar en directos e indirectos. Los primeros son los ocasionados por la succión de savia y por la inyección de saliva. La succión de savia, cuando es en grandes cantidades, puede dañar muy seriamente a la planta y disminuir su producción. Por otra parte, los daños mecánicos ocasionados por las picaduras, pueden llegar a provocar el aborto de órganos o la caída temprana de flores y de frutos. La inyección de saliva determina en las plantas una reacción, que en muchos casos es violenta, provocándose deformaciones o malformaciones las cuales generan una disminución de la producción o de la calidad. Para que los daños directos sean realmente preocupantes, el número de pulgones por planta ha de ser relativamente grande, de tal forma que las colonias de pulgones son fácilmente observables (Nieto & Seco, 1990).

Los daños indirectos son aquéllos ocasionados por organismos que están en relación con los propios pulgones, o por los productos de éstos. En concreto las deyecciones azucaradas y líquidas (melaza) de los pulgones pueden llegar a cubrir las partes de la planta en las que la colonia se desarrolla, dificultando su transpiración y la fotosíntesis porque dicha capa permite además el desarrollo de hongos (fumagina). Entre los daños indirectos más importantes ocasionados por los áfidos se encuentra la transmisión de virus, la cual necesita para efectuarse de uno o muy pocos ejemplares, produciéndose así antes de la formación de colonias conspicuamente visibles (Nieto & Seco, 1990).

### **1.3.2. Taxonomía de los áfidos**

Los áfidos pertenecen a una de las familias más diversas y de mayor distribución entre los insectos, siendo descritas más de 4700 especies, agrupadas en casi 600 géneros (Remaudière & Remaudière, 1997). Se encuentran en el orden Hemiptera que se subdivide en 4 subórdenes: Heteroptera (chinchas verdaderas), Auchenorrhynca (chicharras, chicharritas), Sternorrhynca (pulgones, cochinillas, moscas blancas) y Coleorrhynca. Dentro de Sternorrhynca, se ubican las Superfamilias Aphidoidea que agrupa a los áfidos, junto a Coccoidea (cochinillas), Aleyrodoidea (moscas blancas) y Psylloidea (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 Psylloidea y Aphidoidea en zonas templadas (Nieto Nafría & Mier

Durante, 1985; Sorensen et al., 1995;). Más de 250 especies de la Aphidoidea (en las familias Adelgidae, Phylloxeridae y Aphididae) se alimentan de los cultivos agrícolas u hortícolas (Blackman & Eastop 2000; Miller, 2009). Stroyan (1984) divide a la Familia Aphididae, 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.

### **1.3.3. Ciclo biológico de los áfidos**

Los áfidos muestran una amplia gama de ciclos de vida relativamente complicados. Cada ciclo de vida se divide en un número de etapas diverso, cada etapa caracterizada por uno o más morfos especializados; cada uno de ellos tiene una función específica que es necesaria para la realización de cada etapa del ciclo de vida. Los ciclos de vida de los áfidos típicos tienen morfologías que se especializan en la reproducción, la dispersión, y en la supervivencia a condiciones climáticas o nutricionales graves o menos favorables (Williams & Dixon, 2007).

Hay dos tipos principales de ciclo de vida en base a la forma en que utilizan sus plantas hospederas: huésped alterno (heteroica) y huésped no alterno (monoico o autoicos). El huésped alterno se refiere a que los áfidos viven en una especie de planta en invierno (huésped primario), migran a una especie de planta no relacionada (huésped secundario) en verano donde realizan sucesivos ciclos partenogenéticos, y migran nuevamente al huésped primario en otoño para realizar el ciclo sexuado. Los huevos, como forma de resistencia, se producen en el huésped primario luego que los machos y hembras sexuadas (ovíparas) se han apareado. A esta forma en la que los pulgones interrumpen la partenogénesis con la reproducción sexual se denomina holociclica. En la forma del huésped no alterno se refiere a que los áfidos permanecen ya sea en la misma especie hospedera o migran entre especies estrechamente relacionadas en todo el año; en otras palabras, pueden realizar numerosos ciclos partenogenéticos y el único ciclo sexuado en el mismo grupo de especies de plantas hospederas. Algunas especies de áfidos nunca realizan el ciclo sexuado, por lo tanto nunca colocan huevos como forma de resistencia invernal, son conocidas como anholociclicas. Algunas especies son holociclicas como anholociclicas, pero rara vez ambos monoica y heteroica (Williams & Dixon, 2007). La alternancia del huésped, es decir, el movimiento estacional entre plantas hospederas de invierno y verano, se produce en un número limitado (c. 10%) de las especies de áfidos.

El huésped de invierno es designado como el huésped 'principal' y el de verano como el huésped 'secundario' (Mordwilko, 1934; Dixon, 1998).

Desde el punto de vista entomológico, los pulgones heteroicos suelen ser de mayor importancia que las especies monoicas, debido a su ciclo de vida complejo. La forma de huésped alterna está muy extendida entre los grupos de áfidos, siendo encontrado en cuatro de los ocho subfamilias de Aphididae (Aphidinae, Anoeciinae, Hormaphidinae y Eriosomatinae) (Shaposhnikov, 1981), lo que sugiere que este ciclo de vida de los áfidos ha evolucionado varias veces (Williams & Dixon, 2007).

La coexistencia de abundantes plantas que son adecuadas para la colonización en diferentes épocas del año, y la capacidad de los áfidos para producir una serie de generaciones altamente reproductivas en rápida sucesión, se han traducido en áfidos que explotan la forma de huésped alterna como una forma de vida (Kundu & Dixon, 1995).

En la Fig. 2 se muestra un ciclo de vida generalizado de especies heteroicas para la subfamilia Aphidinae. Por lo general, el apareamiento se produce en otoño en una planta huésped principal, por lo general una especie leñosa; los machos pueden ser alados o ápteros de acuerdo a las distintas especies, mientras que las ovíparas son siempre ápteras. Los huevos son depositados y en ese estado pasan el invierno. En primavera, al eclosionar suelen dar lugar a una secuencia altamente fecunda de hembras ápteras (sin alas) denominadas fundadoras o fundatrigenas cuya descendencia originada por partenogénesis conforman los migrantes de primavera. Estas formas/hembras migran al huésped secundario, por lo general una especie herbácea, donde se reproducen por partenogénesis durante todo el verano. Después de varias generaciones partenogénicas, se producen machos alados y gynoparas, y éstos migran de vuelta al huésped primario. Las fundatrices generalmente tienen más oocitos (ovariolas) en sus gónadas (Dixon, 1975; Wellings et al., 1980), lo que les permite alcanzar mayores tasas de reproducción (Wellings et al., 1980; Leather & Wellings, 1981), razón por la cual también los cuerpos de las fundatrices son más redondeados que los morfos partenogénicos, y pueden ser muchas veces más grandes (Hille Ris Lambers, 1966).

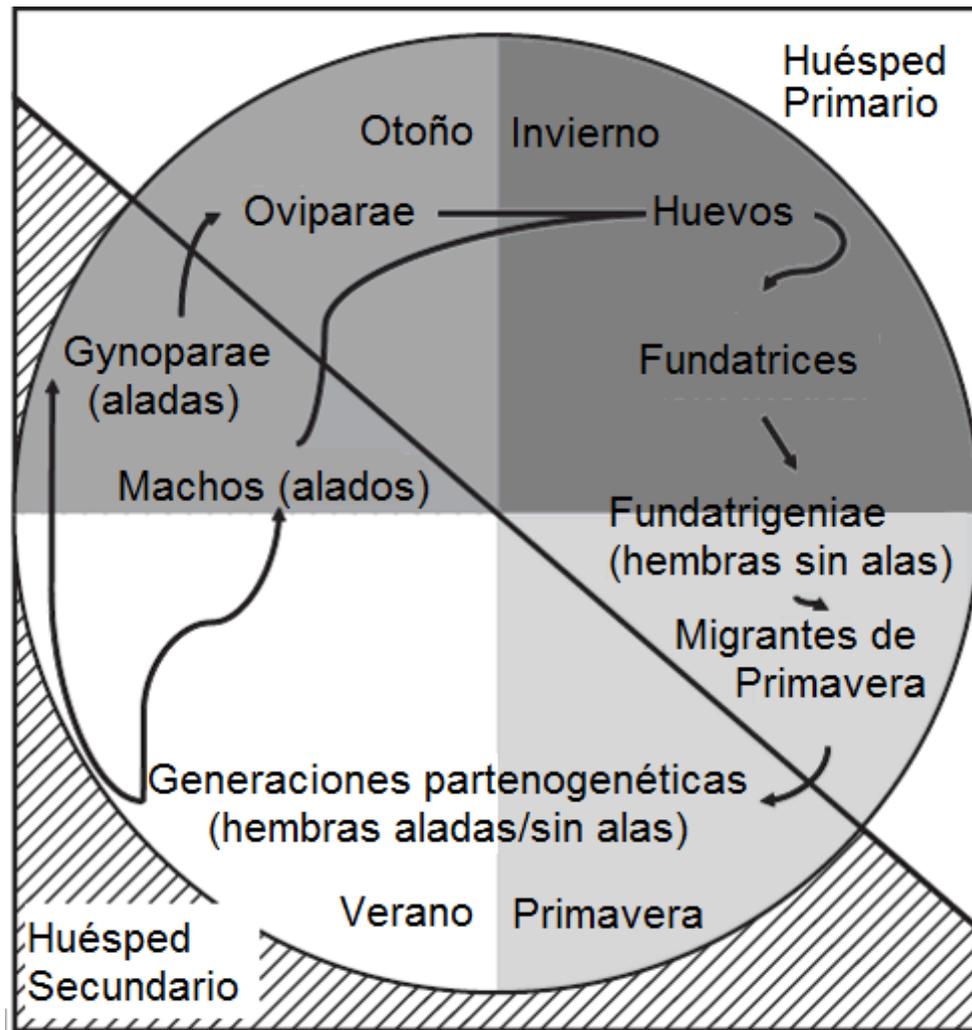


Figura 2: Ciclo de vida generalizado del pulgón en la forma de un huésped alterno (heteroico). Modificado de Williams y Dixon (2007).

Durante el verano en el huésped secundario, se desarrollan varias generaciones partenogénicas. Es esta fase del ciclo de vida que generalmente causa daño a los cultivos. Dentro de estas generaciones, frecuentemente hay polimorfismo que es inducida ya sea por factores ambientales o por control genético directo, este último dependiendo de la generación (Kundu & Dixon, 1995).

De acuerdo a la forma de huésped no alterna, algunos áfidos monoicos sólo viven en los árboles y es poco probable que se constituyan en plagas. Muchas de las especies monoicas que ahora viven sólo en plantas herbáceas han evolucionado a partir de especies heteroicas que ya no utilizan su huésped primario. En la Fig. 3 se muestra el ciclo de vida monoico. Los morfos que generalmente están involucrados en el ciclo de vida monoico son los mismos a los descritos en el ciclo de vida heteroico.

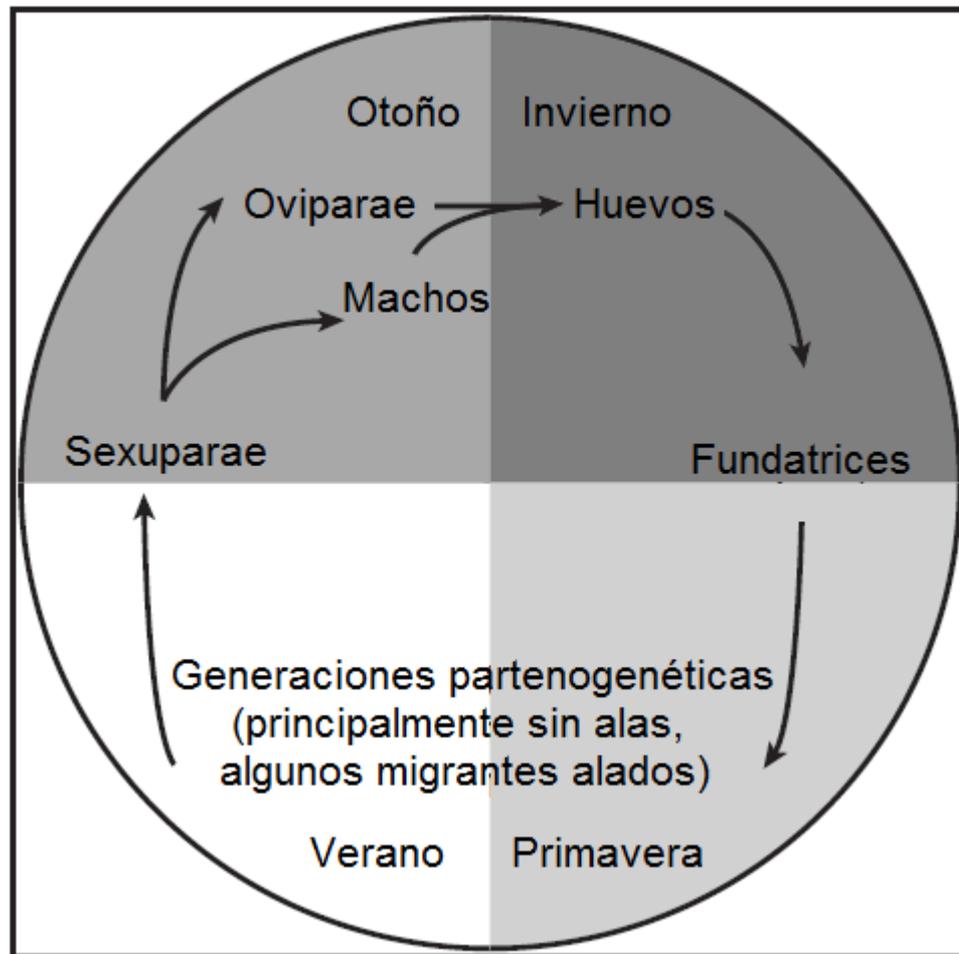


Figura 3: Ciclo de vida generalizado del pulgón en la forma de un huésped no alternativo (monoico). Modificado de Williams y Dixon (2007).

Las generaciones de verano de las especies monoicas muestran características similares a las de las especies heteroicas, produciendo morfos sexuales en otoño que se aparean y producen los huevos invernantes. Durante los sucesivos ciclos partenogenéticos se originan morfos alados que colonizan hospederos que brinden mejor calidad de alimento. De manera similar se originan individuos alados cuando la población crece, el efecto del contacto entre ellos (*crowding*) induce la aparición de morfos alados, como señal que el hospedero disminuirá la calidad como fuente de alimento (Ricci, 2012)

Entre las especies holocíclicas típicas se encuentra *Myzus persicae* (Sulz.) “pulgón verde del duraznero”, una de las principales plagas de numerosos cultivos de hoja ancha en el norte de Europa. El hospedero primario de *M. persicae* es el duraznero (*Prunus pérsica* L.), que es poco común en el Reino Unido. Como resultado, *M. persicae* completa con poca frecuencia su ciclo de vida en el Reino Unido y pasa el invierno en un gran número de huéspedes secundarios en las etapas móviles (Williams et al., 2000).

Aunque la mortalidad es considerable, sobreviven suficientes adultos al invierno para colonizar cultivos en primavera en número suficiente, para que la especie se convierta en una plaga importante (Harrington & Cheng, 1984).

Existen clones de especies de áfidos que tienen ciclos de vida intermedios entre el anholocíclico y el holocíclico. Estos clones producen sólo ovíparas o machos, pero no ambos. Por ejemplo, algunos clones de *M. persicae*, *S. avenae*, y *R. padi* que pasan el invierno en etapas móviles, producen machos, pero no ovíparas, a esto se denomina androcíclico. Cuando producen solo hembras se denomina ginociclo (Blackman, 1974; Simon et al., 1991; Helden & Dixon, 2002).

- Determinación de morfos sexuales

Los morfos sexuales machos y ovíparas, aparecen característicamente en las regiones templadas en otoño. En el caso de los áfidos heteroicos, sin embargo, los morfos alados asexuales se producen en este momento en los huéspedes secundarios y vuelan de vuelta al huésped principal, donde se producen o bien sólo ovíparas o ambos, ovíparas y machos. Aquellos que producen solamente ovíparas son llamados gynoparae y las que producen ambos sexos (Pemphiginae, Hormaphidinae, y Anoeciinae) son llamados sexuparae. Es decir, que aparecen en otoño y dan lugar a los morfos sexuales (Williams & Dixon, 2007).

La reproducción partenogenética a la producción de morfos sexuales se determina por un número de factores ambientales y genéticos (intrínsecos) que son similares para ambas especies heteroicas y monoicas. A mediados de 1800, se supo que, dadas las condiciones adecuadas, los áfidos pueden continuar indefinidamente su reproducción partenogenética. Esto llevó a la conclusión de que los factores ambientales están implicados en la producción de morfos sexuales (Williams & Dixon, 2007).

- Determinación de morfos alados asexuales

Hace tiempo se sabe que la determinación de morfos alados se asocia con el hacinamiento y el estado nutricional de las plantas. El significado adaptativo de esto es clara, ya que en ninguna de estas condiciones, la producción de morfos alados presumiblemente aumenta las posibilidades de supervivencia de clones, ya que facilita escapar de recursos pobres o agotados (Williams & Dixon, 2007).

Sin embargo, no todas las especies de áfidos responden de esta manera, o al menos no tienen el mismo grado de sensibilidad a tales estímulos. Müller et al. (2001) postularon que esto podría ser debido a las especies no gregarias como *M. persicae* pueden ser menos sensibles al estímulo de hacinamiento que las especies más gregarias como *A. fabae* y el pulgón de los cereales; esto puede deberse a que, para las especies menos gregarias, la respuesta al hacinamiento rara vez está presente en la naturaleza.

Los áfidos han tenido éxito debido a su alta fecundidad. La partenogénesis, viviparidad y polimorfismo, conjuntamente, han hecho posible la superposición de generaciones y consecuentemente una tasa de reproducción muy alta, y una división del trabajo entre formas, unas concentradas en la reproducción y otras en la dispersión. Por otra parte, ha contribuido al éxito el desarrollo de los ciclos de vida complejos y de plantas hospedadoras especializadas. Excepciones y variaciones son comunes, pero la sexualidad “normal”, es decir con anfignonia y la oviparidad está restringida a una única generación anual (Carver et al., 1991)

#### **1.3.4. Alimentación de los áfidos**

Los áfidos tienen un modo particular de encontrar su planta hospedera y de alimentarse. La llegada a un área con hospederos potenciales es un evento azaroso en el que la influencia del viento es de primordial importancia. En el entorno inmediato de plantas potencialmente hospederas, la orientación visual y la olfativa jugarían un papel muy importante (Niemeyer, 1992). Aunque son considerados como deficientes en su vuelo y que sólo pueden hacer avanzar a bajas velocidades de viento, pueden permanecer en el aire durante muchas horas y por lo tanto puede ser transportados largas distancias por las corrientes de aire. Esto ha sido ampliamente estudiado en el contexto aplicado con trampas de succión (Wikteliuss, 1984; Wikteliuss et al., 1990).

Como sólo el 5% de las especies de áfidos pueden ser categorizados como polífagos y el 95% como monófagos u oligófagos, podría esperarse que la mayoría de las especies de áfidos sean, en cierta medida, dependientes de los estímulos específicos de la planta huésped para distinguir entre buenas hospederas o no (Blackman & Eastop, 1984). Al llegar a la planta, el comportamiento del pulgón se ve afectado por la morfología y la química de la planta, la cual combina cantidad y calidad del suministro de alimentos con propiedades físicas, tales como la protección de los enemigos naturales y de factores climáticos. Los áfidos a menudo muestran geotaxis positiva y fototaxis negativa

después del aterrizaje, y prefieren asentarse en la superficie inferior de la hoja (Müller, 1984).

Los áfidos colonizan fácilmente nuevos entornos, como los cultivos emergentes y plantas anuales, y aumentan rápidamente su población, lo que les predispone a convertirse en plagas muy difíciles de controlar. Su capacidad de aumentar rápidamente en abundancia también puede permitirles modificar el metabolismo de la planta para mejorar la calidad del hospedero para ellos y para las generaciones posteriores (Prado & Tjallingii, 1997). Es así que en las plantas de trigo susceptibles, tanto la penetración intercelular como la penetración intracelular del tejido del mesófilo por parte de los áfidos puede conducir a cambios dramáticos en la composición del floema y mejorarlo nutricionalmente haciéndolo rico en nutrientes minerales móviles, aminoácidos y carbohidratos (Burd & Elliott, 1996; Telang et al., 1999). Tjallingii (1994) informó que es común que los áfidos lleguen al floema en poco tiempo (alrededor de 15 minutos para algunas interacciones áfido-planta), pero un elemento criboso en particular no puede ser inmediatamente aceptado para la ingestión continua, pueden ser muestreados varios de éstos por un áfido, es decir, hacen un ‘sondeo’ antes que uno sea aceptado. Los primeros sondeos efectuados por un pulgón después de acceder a una planta suelen ser cortos y han sido clasificados como “sondeos de prueba”. Pero aparte de su duración más corta, estos sondeos no difieren de los más largos. Es probable que algunos productos químicos de plantas sean muestreados y probados durante todos los sondeos, así que aparte de la inserción mecánica del estilete y la excreción de saliva en las plantas (Miles, 1999; Tjallingii, 2006), el sondeo implica además el monitoreo gustativo.

Los sensorios ubicados en las antenas ayudan al pulgón a localizar un huésped, y los receptores que poseen en la probóscide escanean la superficie de las hojas para detectar un vaso (Dixon, 1998). Los quimiorreceptores disueltos en la punta del labio como una gota inicial de saliva, ayudan al reconocimiento del huésped (Wensler, 1977). Cuando la planta es confirmada como un huésped adecuado, la penetración del estilete comienza con el sondeo, que ocurre principalmente en forma intracelular hasta que se encuentren los tubos cribosos del floema, posteriormente ocurre la alimentación (Pollard, 1973; Tjallingii, 2006; Dinant et al., 2010). Los áfidos extraen nutrientes de los tubos cribosos que son los canales conductores de fotoasimilados de las plantas usando el estilete, y al hacerlo debilitan la planta. En respuesta de defensa a la lesión ocasionada por la alimentación del insecto, las plantas previenen la pérdida de savia oclusionando los

tubos. Un aspecto interesante de la alimentación del áfido es que aparentemente inactivan la oclusión de los tubos cribosos (King & Zeevaart, 1974). La oclusión de estos tubos es una función vital para las plantas. Independientemente de las especies y de las familias de plantas, por lo general los tubos cribosos se ocluyen inmediatamente en respuesta al más leve daño mecánico que se inicia por un aumento del calcio libre (Knoblauch et al., 2001) o por un cambio en el estado redox (Leineweber et al., 2000). Durante los pinchazos cortos de las células, los estiletes perforan el protoplasto y, posteriormente, más probable que el tonoplasto, la membrana de la vacuola. Las vacuolas forman los principales emplazamientos de almacenamiento de metabolitos secundarios de las plantas (aleloquímicos potenciales) (Tjallingii & Hogen, 1993). La mayoría de aleloquímicos se almacenan en los compartimentos de la célula en una forma no tóxica, como amidas o glucósidos. En esta forma química, no son tóxicos para la planta o los organismos que atacan a las plantas, pero cuando se mezcla con las enzimas que se producen en diferentes compartimentos, se convierten en toxinas (Mathile, 1984).

Durante la penetración del estilete, los áfidos secretan dos tipos de saliva, una de las cuales se gelifica casi inmediatamente después de salir de la punta del estilete y forma una envoltura continua alrededor de éste. Este tipo de saliva se llama saliva gelificante, y también sella el sitio de la punción de la pared celular antes y durante la perforación de la membrana plasmática (Tjallingii & Hogen, 1993), evitando el contacto del estilete con el apoplasto de la célula de la planta, y el contenido de proteínas, fosfolípidos, y carbohidratos conjugados. Por lo tanto, la saliva gelificante puede reducir la afluencia de calcio extracelular en el lumen a través del sitio perforado (Will & van Bel, 2006). La entrada de calcio en los tubos cribosos también puede ser provocada por cambios drásticos en su turgencia (Ding & Pickard, 1993; Knoblauch et al., 2001). La saliva gelificante sella el sitio de punción y presumiblemente también reduce la pérdida de la savia del floema a través de la herida y de esta manera disminuye la pérdida de presión de turgencia (Will & van Bel, 2006).

El segundo tipo de saliva secretada por los áfidos se llama saliva acuosa, a diferencia de la primera saliva, no se gelifica (Miles, 1999). Esta saliva contiene una amplia variedad de enzimas digestivas (es decir, pectinasa, celulasas, amilasas, proteasas, lipasas alcalinas; y fosfatasa ácida, tripsina y peroxidasas (Miles, 1999; Mutti et al., 2008; Cooper et al., 2011; Cui et al., 2012; Nicholson et al., 2012)). Cuando los áfidos

penetran los tubos con las puntas del estilete, comienzan la inyección de saliva acuosa, y si la penetración es exitosa, después de un período de secreción, el áfido entonces comienza la ingestión de la savia. Cuando se alimentan de plantas resistentes, la transición de la salivación a la ingestión a menudo no se produce (Prado & Tjallingii, 1994) o, si se produce la ingestión, el pulgón vuelve a la salivación después de un breve lapso de ingestión. La saliva acuosa impide la obstrucción en el interior del canal de alimentación capilar (Tjallingii, 2006; Will et al., 2007; 2009).

A pesar que los compuestos salivales secretados son ventajosos para el proceso de alimentación de áfidos, los compuestos dentro la saliva sirven como inductores o efectores que provocan inmunidad a partir del reconocimiento de los genes R específicos de *D. noxia*, conocidos como genes *Dn*. Los estudios sobre el transcriptoma del intestino (Smith et al., 2010) y la saliva del proteoma de biotipos de *D. noxia* con diferentes niveles de virulencia han demostrado diferentes composiciones peptídicas, pero la evidencia clara de inductores específicos ha permanecido elusiva (Van Zyl, 2007; Van Zyl & Botha, 2008; Cooper et al., 2011; Van Eck, 2011; Nicholson et al., 2012).

#### **1.4. El pulgón ruso del trigo (*Diuraphis noxia*)**

##### **1.4.1. Introducción en Argentina**

El 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 Cárpato (Jones et al., 1989; Starý et al., 2003). El PRT fue reportado por Mordvilko y Grossheim alrededor del año 1900, en la región del Mar Mediterráneo y el sur de Rusia (Jones et al., 1989; Elsidaig & Zwer, 1993). Zhang et al. (2014) mediante estudios utilizando datos de cuatro genomas (nuclear y mitocondrial RWA, endosimbionte genómico y plásmido) determinaron que el PRT llegó al continente americano introduciéndose primeramente en México proveniente de Sudáfrica (Fig. 4). En Sudamérica se detectó por primera vez en la zona central de Chile en 1987 (Zerené et al., 1987), y en Argentina se lo registró en el año 1991 sobre plantas de centeno en Malargüe, Provincia de Mendoza (Ortego & Delfino, 1992). En apenas un año (1992) se lo detectó en el sur de la Provincia de Buenos Aires desde donde se propagó hacia el sudoeste de la misma y el este de La Pampa (Curvetto, 2003). En la actualidad, se

encuentra en expansión, distribuido entre los 26° 50' LS a los 43° 28' LS, en las Provincias de Tucumán, Mendoza, San Luis, Córdoba, La Pampa, Buenos Aires, Neuquén y Chubut (Clúa et al., 2004).

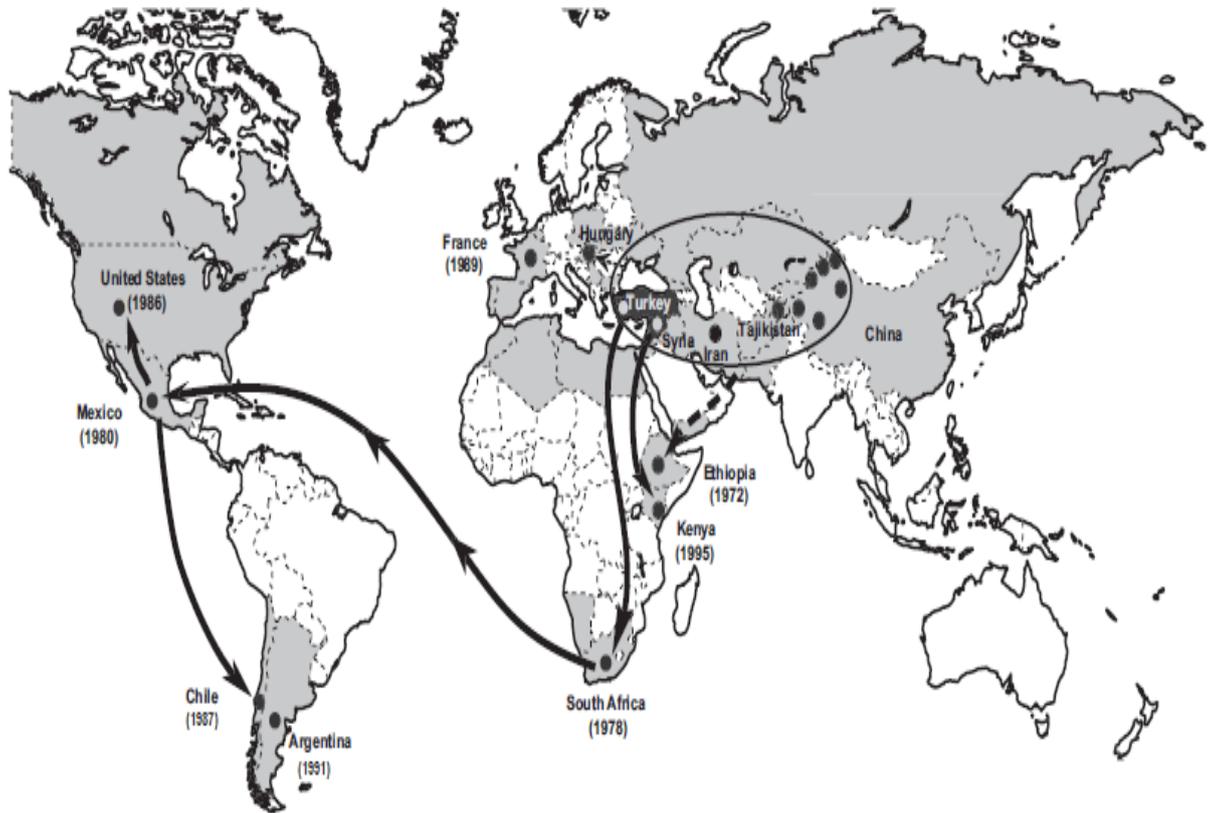


Figura 4: Rutas de las supuestas invasiones del pulgón ruso del trigo en todo el mundo. El gris indica los países donde se ha reportado el PRT, y el círculo indica el área de distribución natural. Los puntos negros indican los sitios de muestreo. El gris oscuro muestra los países de Medio Oriente, punto de origen de clones invasivos. Las flechas continuas muestran las vías de invasión independientes procedentes desde Medio Oriente hacia África, y las flechas discontinuas indican la posible área de distribución natural a Etiopía y Hungría. El año de la primera detección se otorga a los países seleccionados. Fuente Zhang et al. (2014).

#### 1.4.2. Morfología

El PRT es un pulgón pequeño, mide aproximadamente 2 mm de longitud (entre 1,4 y 2,3 mm). Su cuerpo es alargado y convexo. El color es verde amarillento pálido a verde grisáceo y se encuentra cubierto por una fina capa de cera pulverulenta. Los cornículos o sifones son muy diminutos (vestigiales) y las antenas son también muy cortas. En el dorso del octavo segmento abdominal, presenta una prolongación o proyección sobre la

cauda (supracauda) que le da el aspecto de “doble cola” o de cola en forma de horquilla cuando se lo observa de costado los alados poseen el abdomen verde pálido y miden de 1,5 a 2 mm (Figs. 5, 6, 7, 8, 9) (Dughetti, 2012).

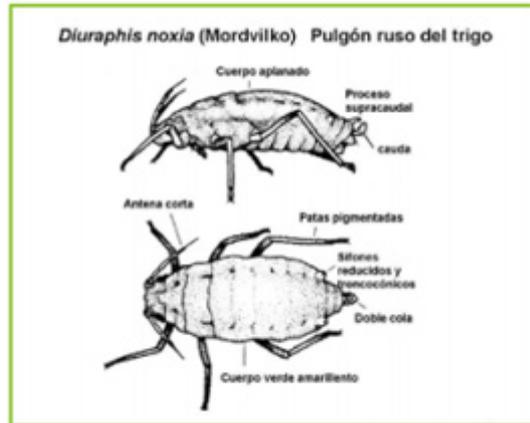


Figura 5: Pulgón ruso del trigo (*D. noxia*), hembras ápteras, vista lateral y dorsal, mostrando las antenas cortas, la cauda, el proceso supracaudal (tubérculo espinal) y los sifones tronco cónicos vestigiales. Fuente Don Wysocki, Pacific Northwest Conservation Tillage Handbook. Oregon State University. Washington State University & University of Idaho. Tomado de Dughetti, 2012.



Figura 6: Pulgón ruso del trigo (*D. noxia*), hembra áptera vivípara, preparado microscópico donde se observa la cauda y supracauda. Fuente Rebecca Graham Department of Agriculture Western Australia. Tomado de Dughetti, 2012.

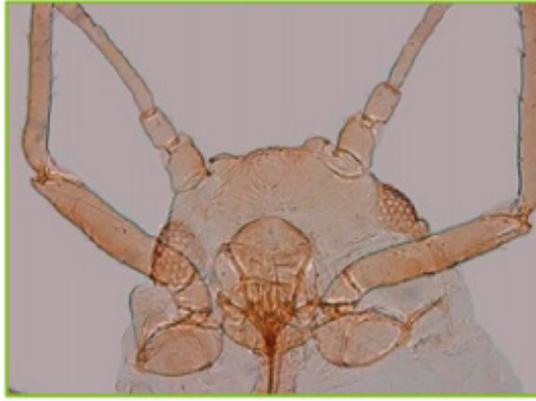


Figura 7: Hembra áptera vivípara de *D. noxia*. Detalle del aparato bucal picador-suctor y de los tubérculos frontales, preparado microscópico. Fuente Rebecca Graham Department of Agriculture Western Australia. Tomado de Dughetti, 2012.



Figura 8: Hembra áptera vivípara, vista posterior. Detalle de la cauda, el tubérculo espinal y los sifones vestigiales, preparado microscópico. Fuente Rebecca Graham Department of Agriculture Western Australia. Tomado de Dughetti, 2012.

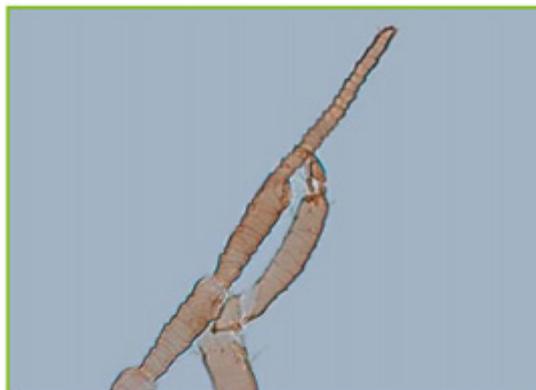


Figura 9: Pulgón ruso del trigo (*D. noxia*), hembra áptera vivípara, último antenito, preparado microscópico. Fuente Rebecca Graham Department of Agriculture Western Australia. Tomado de Dughetti, 2012.

### 1.4.3. Características reproductivas del PRT

El éxito en la invasión del PRT probablemente ha sido influenciado por la presencia de plantas hospederas compatibles en todo el mundo, su alto grado de plasticidad fenotípica, por ser una especie monoica y por su capacidad en el crecimiento rápido de la población debido a la reproducción partenogenética (Clúa et al., 2004).

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 observaron en las seis poblaciones estudiadas y le permite 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, indica que *D. noxia* es un áfido que se encuentra en una permanente evolución como producto de su variabilidad genética (Ricci, 2012)

Estudios realizados por Ricci et al., 2011, determinaron que mediante la reproducción sexual, el PRT puede ser capaz de adaptarse a las nuevas condiciones ambientales y dar lugar a nuevos biotipos más agresivos, que pueden superar las variedades resistentes actuales de trigo. La plasticidad fenotípica puede haber habilitado al PRT para adaptarse a los diferentes entornos y huéspedes en Argentina. Es posible que el proceso de selección ejercido por el ambiente condicione la aparición de morfos sexuados y el momento de la reproducción sexual. Esto le permite al PRT sincronizar su ciclo de vida con la disponibilidad de las plantas hospedantes potenciales en una amplia gama de localidades que experimentan muy diferentes condiciones ambientales. Estudios realizados por Ricci (2012) pudieron confirmar que la producción de formas sexuadas y la presencia de huevos se inicia en abril y se extiende hasta octubre, con lo cual la inducción de la aparición de morfos sexuados en *D. noxia* se produce tanto en condición de días cortos como largos, no actuando la temperatura como un disparador de este mecanismo. Esto estaría indicando que la presencia de huevos constituye un mecanismo de liberación de variabilidad genética que le permite adaptarse a distintos ambientes –

donde los hospederos son parte fundamental - y no una forma de resistencia invernal a las bajas temperaturas como en otros áfidos.

#### **1.4.4. Daños ocasionados por el PRT**

El pulgón ruso puede atacar al cultivo de trigo durante todo el ciclo. Las colonias se ubican en la parte superior de las plantas, principalmente desde fin del macollaje hasta la precosecha. El potencial de daño de este pulgón es mayor en primavera secas. La extracción del líquido floemático provoca un enrollamiento longitudinal en las hojas y la inyección de toxinas con la saliva producen un estriado de color púrpura con temperaturas bajas o estriado blanco con temperaturas templadas (Figs. 10, 11, 12). Infestaciones de esta especie en estado de hoja bandera provocan la producción de espigas vanas o malformadas (Fig. 13), y en casos extremos evitan su emergencia. El umbral de daño económico es de 10% de plantas atacadas desde la emergencia del cultivo hasta los 21 días posteriores, 20% de plantas atacadas en macollaje y 5 a 10 % en encañazón. (Imwinkelried et al., 2009). Se ha estimado que esta plaga puede causar una pérdida entre 35% y 60% en el rendimiento del cultivo después de que se haya producido la infestación, lo que resulta en grandes pérdidas económicas (Nkongolo et al., 1991; Kindler et al., 1993).

Este áfido prefiere las hojas jóvenes, pero en la medida que la población aumenta es posible observarlo en los tallos y las espigas. En fuertes infestaciones, las plantas atacadas disminuyen el crecimiento, se enanizan y algunas veces se vuelcan. Asimismo, las espigas en formación se retuercen y no emergen correctamente. Algunas veces, suelen encontrarse grandes colonias resguardadas dentro de la hoja, matando la espiga, mientras que el resto de la caña está verde. Su observación se hace difícil debido al hábito de esconderse en las hojas enrolladas de la planta. Por esa razón, se deben buscar las colonias de áfidos en la base de las hojas, en las láminas de las hojas enrolladas y en los ejes dentro de la vaina de la hoja bandera que acompaña la espiga; no olvidando los síntomas de estriado. Posteriormente al estado de grano pastoso este pulgón no produce más daño. Este pulgón aumenta su población en primavera secas. En trigo, el ataque comienza a manifestarse a partir de septiembre, llegando a etapa de mayor ataque desde el inicio hasta la plena espigazón (de principios a mediados de noviembre) (Dughetti, 2012).

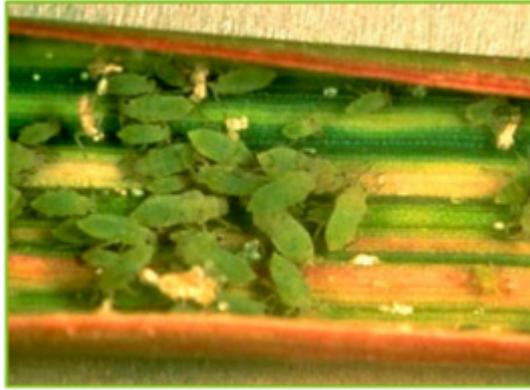


Figura 10: Pulgón ruso del trigo (*D. noxia*), colonia de áfidos (adultos y ninfas), enrollamiento longitudinal en la hoja. Fuente Kansas State University - USA Research and Extension. Tomado de Dughetti, 2012.



Figura 11: Daño provocado por *D. noxia* en una hoja de trigo, mostrando el listado longitudinal blanco. Fuente CIMMYT. Tomado de Dughetti, 2012.



Figura 12: Daño provocado por *D. noxia* en plantas de trigo, mostrando el listado longitudinal blanco y púrpura producto de sus toxinas. Fuente Dughetti, 2012.



Figura 13: Daño provocado por *D. noxia* en la espiga de trigo. Fuente Ecogen, Kansas State University. Tomado de Dughetti, 2012.

### 1.5. Interacción planta-insecto

Los registros paleontológicos demuestran que las interacciones insecto-planta se establecieron ya entre los primeros habitantes terrestres, sufriendo transformaciones adaptativas que derivaron en muchos casos en evolución conjunta. Estas relaciones se establecieron por la necesidad de nutrición, refugio y reproducción tanto de plantas como de los insectos. Se estima que actualmente la mitad de las especies de insectos presenta algún grado de dependencia con las plantas, siendo la alimentación (herbivoría) o procesos relacionados a ella, una de las principales relaciones conocidas, dado que los vegetales representan una fuente segura y accesible de alimento (Horn et al., 2011)

El modo de alimentación de los insectos herbívoros es una característica de gran importancia en la interacción con la planta, ya que tiene relación con su percepción y por lo tanto con las respuestas que generarán. Se considera que los insectos fitosuccívoros generan un daño menor en los tejidos vegetales, en comparación con los insectos masticadores, por ello se ha propuesto que los mecanismos de defensa de las plantas serán diferentes en cada caso (Bonaventure, 2012). En cada una de estas interacciones tanto el insecto como la planta, reciben y envían señales químicas que determinan el éxito de la interacción. Por un lado, los quimiorreceptores en las piezas bucales, antenas y tarsos del insecto, miden la disponibilidad de la planta como una fuente de alimento. Por otra parte, las células de la planta reconocen y responden al movimiento del insecto y las heridas producidas durante la alimentación y los compuestos en las secreciones orales del insecto. En contraste al ataque de microorganismos patógenos, el ataque de los herbívoros produce heridas, por lo que el

reconocimiento del ataque de los mismos implica modificaciones en la respuesta a las heridas (Baldwin et al., 2001).

La interacción planta-herbívoro ha generado la mayor diversidad de la vida terrestre, y también sugiere que, debido a esta interacción, los insectos se adaptaron a vivir de las plantas y las plantas a vivir con los insectos, éste proceso es conocido como *coevolución* (Zavala, 2010). Este proceso es una carrera de armamentos moleculares entre los áfidos y plantas, ambos organismos se basan en estrategias de adaptación para competir con su rival evolutivo para su propio beneficio (Botha, 2013), las plantas aumentan sus defensas contra insectos herbívoros y los insectos aumentan su tolerancia a las defensas de las plantas. El entendimiento detallado del funcionamiento del sistema inmunológico de las plantas frente al ataque de insectos abre nuevas perspectivas para la protección y el mejoramiento genético de los cultivos (Zavala, 2010). Se ha observado en plantas resistentes la emisión de volátiles que atraen enemigos naturales (EN) de sus plagas, por medio de los cuales pueden mejorar la eficiencia de forrajeo de los EN, o proporcionar refugios menos espaciosos para la presa (Starks et al., 1972; Kareiva & Sahakian, 1990; Eigenbrode et al., 1999). El uso de plantas resistentes puede optimizar o reducir la capacidad de los enemigos naturales para controlar plagas de insectos.

En el inicio de las interacciones de áfidos en plantas, los resultados de alimentación del pulgón da lugar a la activación alterada de peroxidasas, quitinasas intercelulares, y  $\beta$ -1,3-glucanasas involucradas en la liberación de oligosacáridos de la pared celular de plantas (Smith & Boyko, 2007). Especies reactivas de oxígeno y elicitores que responden a la alimentación del pulgón, también puede regular positivamente la actividad de estas enzimas. Genes de peroxidasa, glutatión transferasa, catalasa, nitrato reductasa y quinona oxidoreductasa se regulan en plantas infestadas por áfidos (Martínez de Ilarduya et al., 2004; Zhu-Salzman et al., 2004; Divol et al., 2005; Boyko et al., 2006; Park et al., 2006; Couldridge et al., 2007; Smith et al., 2010). Las interacciones entre los pulgones y sus plantas hospederas provocan la activación tanto de las vías de respuesta de defensa que implican ácido jasmónico (JA), ácido salicílico (SA), etileno (ET), ácido abscísico (ABA), y el ácido giberélico (GA) (Smith y Boyko, 2007), como la de genes controlados por cada una de estas hormonas vegetales (De Vos et al., 2005).

## 1.6. Mecanismos de resistencia

Dentro del contexto del Manejo Integrado de Plagas, el desarrollo de cultivares portadores de distintos mecanismos de resistencia, es considerada una práctica recomendable, tanto desde el punto de vista ecológico como económico (Webster & Kenkel, 1999). Las preocupaciones ambientales vinculadas con el uso de insecticidas han llevado al desarrollo de variedades resistentes a los áfidos (Panda & Khush, 1995; Smith, 2005). Para ello es necesario evaluar los mecanismos de resistencia genética de las plantas huéspedes dado que, tanto la supervivencia como las estrategias reproductivas de los pulgones, varían según la planta hospedera donde se alimenten (Mei-Hwa Kuo et al., 2006).

Los tres mecanismos de resistencia genética señalados por Kogan (1975) son:

- 1) Antibiosis: incluye todos los efectos adversos ejercidos por la planta en la biología del insecto, por ejemplo en la sobrevivencia, desarrollo y reproducción.
- 2) No preferencia o antixenosis: es la respuesta del insecto a las plantas, que carecen de las características necesarias para servir de hospederos, resultando en reacciones negativas o rechazo por parte del insecto durante la búsqueda de alimento o refugio.
- 3) Tolerancia: incluye todas las respuestas de la planta resultantes en la habilidad para resistir la infestación y soportar las poblaciones del insecto que podrían dañar severamente plantas susceptibles, o reparar el daño causado y crecer para producir una adecuada producción a niveles poblacionales del insecto capaces de dañar plantas más susceptibles.

Los daños de los áfidos causados en los tejidos, por la permanencia prolongada de las piezas bucales de éstos en las células vegetales, provocan varias respuestas de las plantas durante la alimentación (Walling, 2000). Es probable que todas las plantas muestren acumulación constitutiva o inducida de metabolitos secundarios tóxicos como parte de sus defensas contra la herbivoría. Los metabolitos secundarios de las plantas, cuando actúan como factores defensivos, pueden ser en principio manipulados por los fitomejoradores para generar plantas con barreras químicas contra la colonización de insectos. Estas barreras naturales representarían alternativas ecológicamente inofensivas y económicas al uso de pesticidas sintéticos. Este enfoque depende de que la

participación del metabolito secundario en cuestión sea demostrada, que la interacción insecto-planta sea comprendida a nivel molecular y que exista germoplasma adecuado para incorporar o aumentar, en variedades agronómicamente aceptables, los niveles del metabolito en cuestión. Además, si el problema del fitomejoramiento se enfoca desde el punto de vista de la bioingeniería, se deben conocer los genes involucrados en la acumulación (biosíntesis vs. degradación) de las alomonas específicas y la fisiología génica asociada (Niemeyer, 1992). Entre los mecanismos de resistencia, se ha encontrado que el estado nutricional de las plantas huéspedes, especialmente el equilibrio de aminoácidos, es un factor importante (Febvay et al., 1988; Mollema & Cole, 1996; Cole, 1997).

Los estudios sobre los mecanismos de resistencia genética como la antibiosis son muy importantes para explicar la relación entre el insecto y su planta huésped (Painter, 1951; Baker et al., 1992). La resistencia del huésped puede ser causada como resultado de una serie de interacciones entre insectos y plantas que influyen en la selección de plantas como hospederos y en los efectos de las plantas sobre la supervivencia de insectos y su multiplicación. El término antibiosis se utiliza en su sentido habitual como la tendencia a evitar, herir o destruir vida (insectos). Painter (1941) propuso que esos efectos adversos sobre la historia de vida de los insectos, resultan cuando el insecto utiliza una variedad resistente de planta huésped o especies para la comida. Cuando el insecto se alimenta de una planta resistente se producen los siguientes efectos metabólicos fisiológicos adversos de carácter temporal o permanente:

- Muerte de ninfas o larvas, debido a que tasa de infestación en las plantas resistentes y susceptibles varía de cero a alta, respectivamente.
- Disminución en el tamaño y peso de las larvas, retraso del período larval exponiendo larvas jóvenes a los depredadores, reducción de la fecundidad o la emergencia de adultos de corta vida, el establecimiento de un límite en el tiempo disponible para los insectos hembra para aparearse y oviponer.
- La continuidad de las reservas de alimentos pobres en nutrientes que afectan a la capacidad de supervivencia de hibernación o incluso su adaptación orgánica a períodos de calor.
- Mortalidad justo antes de la etapa adulta, lo que puede resultar en la reducción de la población de insectos.

- Inquietud frecuente y otros comportamientos peculiares.

Varias combinaciones de estos efectos resultan de la alimentación en diferentes variedades resistentes. Cuatro posibles explicaciones fisiológicas fueron propuestas por Painter (1951):

- Los efectos nocivos de los productos químicos específicos, incluyendo toxinas;
- Nutrientes presentes, pero por alguna razón no están disponibles para la alimentación del insecto;
- La falta de nutrientes específicos en algunas partes de las plantas consumidas; y
- La presencia de materiales tan repelentes que los insectos no se alimentan de las plantas y prácticamente mueren de hambre.

Investigaciones realizadas han descrito varios casos de antibiosis. Uno de ellos en el maíz, los residuos de éter-insoluble de concentrados acuosos contenían inhibidores del barrenador del maíz denominado factor de resistencia B (RFB) por Loomis et al. (1957). Walter (1957) informó la existencia de un factor letal del estigma de algunas líneas de maíz resistentes a larvas del gusano de la espiga del maíz (*Helicoverpa zea* (Bod.), Lepidoptera: Noctuidae). Este factor fue confirmado por Knapp et al. (1967) en un experimento utilizando polvo liofilizado del estigma de líneas resistentes conocidos como un medio para la cría de las larvas de *H. zea*. Los extractos de las hojas de las variedades de maíz resistentes tenían sustancias disuasorias que tienden a mitigar la alimentación de las larvas del taladro del maíz (*Ostrinia nubilalis* Hbn, Lepidoptera: Crambidae). Estos componentes fueron identificados como éteres solubles llamados RFA que contenían dos compuestos distintos, uno 6-methoxybenzoxazolinone (6-MBOA) y el otro 2, 4-dihidroxi-7-metoxi 1, 4-benzoxazina-3-1 (DIMBOA). Klun & Brindley (1966) demostraron que la 6-MBOA no era un constituyente del tejido de maíz y el DIMBOA-glucósido era el precursor de 6-MBOA en el maíz. Más tarde Klun et al., (1967) observaron que cuando el DIMBOA fue aislado de las plántulas de maíz y usado en una dieta artificial para el taladro del maíz, dio como resultado la inhibición del desarrollo de las larvas y una mortalidad del 25%.

Los glucósidos cianogénéticos, más que metabolitos secundarios, como en un principio se creía, son considerados metabolitos intermediarios en la biosíntesis de algunos aminoácidos. Han sido muy estudiados, observándose que derivan de aminoácidos. Uno de ellos la lotaustralina encontrada en los tejidos de *Phaseolus vulgaris*, la cual en alta

concentración inhibe la alimentación de la vaquita del poroto (*Epilachna varivestis* Muls., Coleoptera: Coccinellidae), lo que sugiere que las variedades de soja que contienen altos niveles de glucósidos podrían ser resistentes al coccinélido (Nayar & Fraenke, 1963).

Un aspecto de la antibiosis está relacionado con el factor de movimiento o inquietud del insecto en la planta (Cartier, 1963). En plantas de alfalfa resistentes, los individuos del “pulgón moteado de la alfalfa” (*Therioaphis maculata* Buck., Hemiptera: Aphididae) se observaron “inquietos” por una a cuatro horas y finalmente murieron o abandonaron la planta, con una producción de melaza escasa o nula; sin embargo, en las plantas susceptibles la melaza fue producida abundantemente. La mortalidad de los áfidos sobre las plantas de alta resistencia es causada por inanición o desecación, resultado del rechazo a ingerir una cantidad suficiente de savia de la planta (McMurtry & Stanford, 1960). El pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum* Rond., Hemiptera: Aphididae) se movió más en variedades resistentes que en variedades susceptibles de cuatro especies de cereales. El aumento de la movilidad podría reducir la alimentación y por lo tanto reducir el daño, así como causar efectos adversos sobre la fecundidad de los áfidos (Starks & Burton, 1977). Estudios realizados por Tocho et al., 2012 sobre plantas de cebada, pudieron determinar diferentes grados de resistencia a *S. graminum* en varias líneas recombinantes dihaploides (LRD). Algunas LRD resultaron tolerantes mostrando una mayor tasa de crecimiento y contenido de clorofila que sus testigos. A su vez, dichas líneas presentaron un efecto antibiótico con cierto nivel de antixenosis bajo la infestación, esto estaría indicando la presencia de más de una categoría de resistencia en las líneas, que las hacen portadoras de defensas sustentables más beneficiosas para el medio ambiente que aquellas con sólo un mecanismo de las categorías de resistencia.

Por otro lado, se han descrito las características antibióticas a los áfidos de los Ácidos hidroxámicos (Hx) en los cereales, los principales Hx encontrados fueron DIBOA (2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-1) y DIMBOA (2,4-dihydroxy-7-methoxy-1, 4-benzoxazin-3-1) (Niemeyer, 1988). El trigo posee ambos compuestos aunque los niveles de DIMBOA son mucho más altos. Givovich & Niemeyer (1996) describieron efectos negativos de DIMBOA en las plantas de trigo sobre *D. noxia*. Con respecto a DIBOA, su toxicidad y disuasión de la alimentación en dietas artificiales contra el pulgón verde de los cereales *S. graminum* fue similar a la del DIMBOA (Zúñiga et al., 1988). Además, fue demostrado que a pesar de la ausencia de DIBOA en cultivos de

cebada, se produce en especies silvestres de *Hordeum* L. y su concentración se correlaciona negativamente con la fecundidad del pulgón de la avena *Rhopalosiphum padi* L. (Hemiptera: Aphididae) (Barría et al., 1992).

Estudios realizados por Ricci (2012) en líneas recombinantes dihaploides de trigo y cebada, registraron la presencia de genotipos que produjeron un efecto antibiótico afectando los parámetros biológicos y poblacionales en *D. noxia*. Las LRD de trigo y cebada, en las que el áfido alargó el período pre-reproductivo, condicionaron, al mismo tiempo, una menor longevidad y fecundidad.

En la actualidad existen disponibles un total de 13 genes de resistencia al PRT (Fazel-Najafabadi et al., 2015) que se han denominado *Dn* y varios QTLs (*Quantitative Trait Loci*) (Castro et al., 2004). La resistencia genética en trigo fue reportada por primera vez en el año 1989 por Du Toit en dos líneas de trigo duro (Du Toit, 1988; Formusoh et al., 1994; Nkongolo et al., 1989; Quick, 1989; Quick et al., 1991; Smith et al., 1991; Webster et al., 1988; Zemetra et al., 1990). 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 (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 *Triticum 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 et al., 1996), fueron ubicados en plantas monosómicas de trigo en el cromosoma 7D (Du Toit & Van Niekerk, 1985). 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 (Liú et al., 2001). Los genes *Dnx* y *Dny* aún no están nominados. El primero de ellos se ubica en el cromosoma 7D de trigo y del segundo se desconoce su localización. Recientemente se han identificado dos genes más de resistencia en la línea experimental CI2401, *Dn2414* y *Dn626580*, ubicados también en el brazo corto del cromosoma 7D (Fazel-Najafabadi et al., 2015). Varios de estos genes pueden piramidalizarse con el propósito de otorgar resistencia a múltiples biotipos, de los cuales al menos tres (Biotipo 1, 2\*, 5\*) están en Argentina (Ricci et al., 2012). El uso de cultivares resistentes a *D. noxia* puede reducir el impacto de esta plaga

en la producción de trigo y al mismo tiempo reducir los riesgos ambientales y los costos de control (Tolmay et al., 1999).

Es necesario destacar 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 las 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* (Ricci, 2012).

Por lo expuesto, surge la importancia de conocer el nivel de la antibiosis al PRT en líneas recombinantes experimentales de trigo que podrían servir como nuevas fuentes de resistencia.

**CAPÍTULO II**  
**OBJETIVOS, HIPOTESIS**  
**Y PREDICCIONES**

## **2. OBJETIVOS, HIPOTESIS Y PREDICCIONES**

### **2.1. OBJETIVOS**

Evaluar el efecto de líneas recombinantes isogénicas experimentales de trigo (*T. aestivum*) sobre los parámetros biológicos de *Diuraphis noxia* (estado pre-adulto, reproductivo, fertilidad total y supervivencia).

### **2.2. HIPOTESIS**

La presencia de genes de resistencia por antibiosis en algunas líneas recombinantes Isogénicas causa efectos adversos en la biología del pulgón ruso.

### **2.3. PREDICCIONES (RESULTADOS ESPERADOS)**

Las distintas líneas recombinantes (LR) de trigo provocan diferencias en el crecimiento poblacional del pulgón ruso criado sobre éstas.

Las diferentes líneas recombinantes (LR) de trigo afectan en forma desigual los parámetros biológicos del pulgón ruso del trigo.

**CAPÍTULO III**  
**MATERIALES Y**  
**MÉTODOS**

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Características de las líneas recombinantes usadas en la investigación.

Para la realización del estudio de la antibiosis, se utilizaron 113 líneas recombinantes (LR) experimentales de trigo, portadoras de genes de resistencia en los cromosomas 1DS y 7DS y los progenitores de éstas, pertenecientes a la Cátedra de Genética de la Facultad de Cs Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata.

#### 3.2. Padres empleados en la investigación.

Los progenitores (Opata (P2) empleado como madre fue fecundado con el trigo Sintético 6X (P1), trigo de reciente síntesis-obtenido de la cruce entre *Triticum diccoides*,  $2n=28$  genomas AABB, y *Triticum tauschii*,  $2n=14$  genoma DD) se emplearon como testigos para poder determinar si el comportamiento de las LR es de resistencia o de susceptibilidad, dado que ambos padres presentan comportamiento contrastante frente a otros áfidos.

#### 3.3. Descripción del ensayo.

Los ensayos se realizaron bajo condiciones controladas de temperatura (22°C) y luz (14:10 luz: oscuridad). Las semillas de las líneas de trigo se pre-germinaron en placas de Petri y posteriormente fueron sembradas en macetas de plástico, utilizando como sustrato tierra de uso comercial para viveros. Se evaluó un número variable de plantas de cada línea recombinante y de ambos progenitores (repeticiones). Cuando las plántulas alcanzaron el estado de segunda hoja expandida, Escala Zadok (Z 1.1) (Satorre, 2003), se procedió a colocar una hembra adulta (proveniente de una cohorte), áptera del PRT, criada y aislada sobre el mismo genotipo para evitar el efecto del hospedero previo, cuya antibiosis se evaluó. Las ninfas producidas por la misma hembra en las siguientes 24 hs, se utilizaron para infestar las plantas del mismo genotipo, retirándose la hembra adulta y empleando una ninfa por planta. Las ninfas de primer estadio fueron observadas diariamente para registrar los distintos parámetros biológicos hasta la muerte de la misma. Cada plántula fue protegida por una cubierta de plástico con laterales de ventilación cubiertas con una malla de red fina (*voyle*) para evitar que el

pulgón se desplace a otra planta con distinto genotipo y/o sea afectado por enemigos naturales.

#### **3.4. Biotipo del áfido usado para la investigación.**

Los insectos utilizados en éste trabajo de tesis derivaron de la multiplicación de una única hembra partenogenética correspondiente al Biotipo 5 (Ricci et al., 2012), mantenido en el insectario de la cátedra de Genética.

#### **3.5. Método de evaluación del ensayo.**

Para determinar los parámetros biológicos y poblacionales de *D. noxia*, se utilizó la metodología empleada por Webster et al., (1987) y Castro (1994). Para ello, desde el nacimiento de la ninfa, se registró los días transcurridos hasta alcanzar el estado reproductivo, obteniendo la duración de ciclo inmaduro o periodo **prereproductivo (*d*)**. Una vez alcanzado el estado reproductivo, se contaron las ninfas nacidas por día, que luego fueron retiradas, dejando únicamente la hembra adulta sobre cada plántula hasta la muerte de la misma. Se determinó la **tasa reproductiva diaria (*md*)** a través del número de ninfas paridas en un periodo igual a *d* y la **fertilidad total (*ft*)** por el número de ninfas nacidas por hembra desde el inicio de la etapa de reproducción hasta el fin de la misma. **La longevidad (*LNG*)** se determinó por el período de tiempo desde el nacimiento hasta su muerte. El **período reproductivo (*PRP*)** se tomó desde el inicio de la etapa reproductiva hasta el cese de producción de ninfas y se continuó registrando el número de días hasta su muerte para determinar el período post-reproductivo. La **tasa intrínseca de crecimiento poblacional (*r<sub>m</sub>*)**, que establece la cantidad de individuos en desarrollo a partir de la progenie de una sola hembra se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula  $r_m = 0,738 (\log md)/d$ , donde la constante 0,738 es la media de la pendiente de la regresión de *md* sobre *d* (Wyatt & White, 1977; Castro et al., 2001, 2004).

Los datos obtenidos se analizaron por ANOVA previa verificación de los supuestos de normalidad y de homoscedasticidad. Fue necesario transformar las variables mediante la función logaritmo para normalizarlas. Las medias de los diferentes parámetros (excepto la longevidad) se compararon por el Test de Duncan ( $\alpha = 0,05$ ), mediante el programa estadístico SAS (2002). Con el propósito de facilitar la comprensión de los gráficos de la distribución fenotípica las diferentes variables fueron presentadas sin transformar, al igual que el análisis de medias.

Los datos de longevidad fueron analizados con el modelo lineal generalizado mixto mediante Proc MIXED (SAS, 2002) que permite evaluar tanto efectos fijos como aleatorios en datos desbalanceados, como ocurre en este caso. Las líneas recombinantes, se consideran como efectos fijos, los bloques son considerados de efecto aleatorio. En el presente estudio los bloques se conformaron por dos a cuatro plantas infestadas de cada genotipo, que ocuparon la misma posición en la mesada donde se realizó el ensayo y que representaron poblaciones de datos independientes. Debido a la heterogeneidad de varianzas, se utilizó como matriz de varianza-covarianza la estructura *CompoundSymetry* (CS) de Proc Mixed (SAS), que satisfizo los criterios de convergencia y de Información de Akaike. La significancia de los efectos fijos (líneas recombinantes) es probada por el Test de Tukey-Kramer, las medias de los efectos fijos fueron estimadas por los mínimos cuadrados generalizados (Littell et al., 1996; Sas Institute, 1997).

# **CAPÍTULO IV**

# **RESULTADOS**

#### 4. RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis estadístico, se determinó que existen diferencias altamente significativas entre las 115 líneas recombinantes para todos los parámetros biológicos evaluados de *D. noxia* ( $p < 0.0001$ ) (Tabla 2).

Tabla 2: Cuadrados medios de los parámetros biológicos de *D. noxia* criada sobre líneas recombinantes de trigo portadoras de genes de resistencia

Parámetros	Fuente Variación	gl	CM	F	P
<b>P. pre-reproductivo (d)</b>	Genotipo	114	0.029	20.54	<0.0001
	Error	553	0.001		
<b>Md (ninfas nacidas en período igual a d)</b>	Genotipo	114	0.262	13.93	<0.0001
	Error	553	0.018		
<b>P. reproductivo (PRP)</b>	Genotipo	114	0.203	4.15	<0.0001
	Error	553	0.049		
<b>Fertilidad total (FT)</b>	Genotipo	114	0.554	12.05	<0.0001
	Error	553	0.046		
<b>Longevidad (LNG)</b>	Genotipo	114 (553)		4.25	<0.0001
	bloques	2 (0)		0.96	
$r_m$	Genotipo	114	0.123	18.30	<0.0001
	Error	553	0.006		

#### 4.3. Período prereproductivo (d):

De acuerdo a los resultados obtenidos en el parámetro **d**, se puede observar que la media de las LR fue de 12,2 días y que la misma no se diferenció del **Padre 2** (Opata), ya que tuvieron una duración del estado ninfal (d) similar. Por otro lado el **Padre 1** (Sintético), demostró un comportamiento altamente antibiótico dado que incrementó la duración del estado preadulto en casi siete días (Tabla. 3). Como puede observarse en la Tabla 3 el menor registro fue de 7,2 días y el máximo de 20,2 días.

Además se encontró que del total de LR evaluadas para este carácter biológico, 73 de las mismas presentaron un comportamiento similar a la media, 26 líneas indujeron en el áfido un acortamiento de su período d, mientras que 16 LR promovieron en el PRT un

alargamiento de dicho parámetro, como una característica deseable en un futuro plan de mejora (Fig. 14).

Tabla 3: Cuadro de resultados para el parámetro Período Prereproductivo (d) de los áfidos criados sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.

<b>Período Prereproductivo (d)</b>	
Padre 1 (P1)	18,8
Padre 2 (P2)	12
Media ( $\pm$ )	12,2
Desvío estándar (DS)	1,1
Rango	7,20-20,20

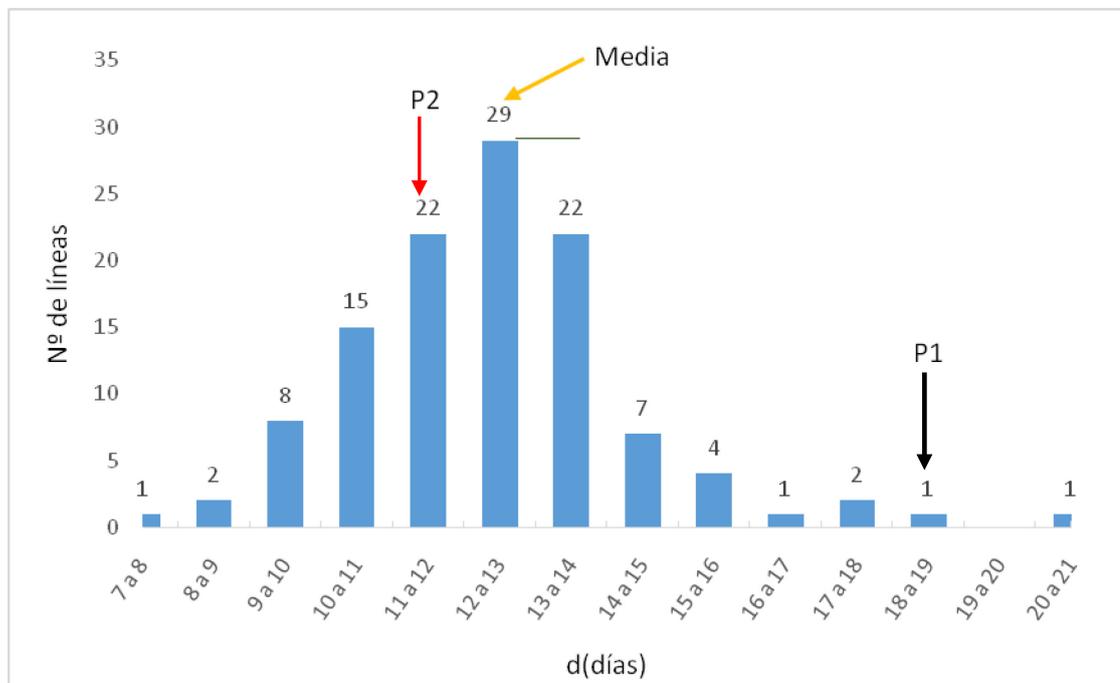


Figura 14: Distribución de la duración del período prereproductivo (d) de los áfidos criados en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres. Con flechas se indican los valores medios de los insectos criados en ambos padres. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

En el análisis de medias para el parámetro **d**, se observó que la **LR 6** resultó más antibiótica que el **P1**, y junto a otras dos LR (126, 5 y 2), fueron las responsables de inducir en los áfidos un alargamiento altamente significativo en su período prereproductivo. De hecho la LR más antibiótica (6) incrementó el período **d** en un 40% con relación a la media evaluada del PRT criados sobre el total de las LR.

#### 4.4. Md: número de ninfas nacidas por hembra en un período igual a d:

En el parámetro Md se observó que las líneas progenitoras condicionaron diferencias significativas entre los áfidos criados en ellas y además con respecto a la media poblacional (Tabla 4; Fig. 15) que registró un valor de 20,1 ninfas. Se observaron 45 líneas recombinantes que indujeron en los áfidos un Md significativamente más bajo con respecto a la media de la población. Por otro lado, en 43 líneas recombinantes los áfidos produjeron un número de ninfas significativamente mayor a la media. Es así que se registró un Md máximo de 39,25 y un mínimo de 4,6 ninfas (Tabla 4), representando éste último una reducción del Md del 77% con respecto a la media poblacional.

Tabla 4: Resultados obtenidos para el parámetro Md como el Número de ninfas nacidas en un período igual a d, para *D. noxia* criados sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.

<b>Ninfas nacidas en un período igual a d (Md)</b>	
Padre 1 (P1)	15,2
Padre 2 (P2)	28
Media ( $\pm$ )	20,1
Desvío estándar (DS)	4,48
Rango	4,6-39,25

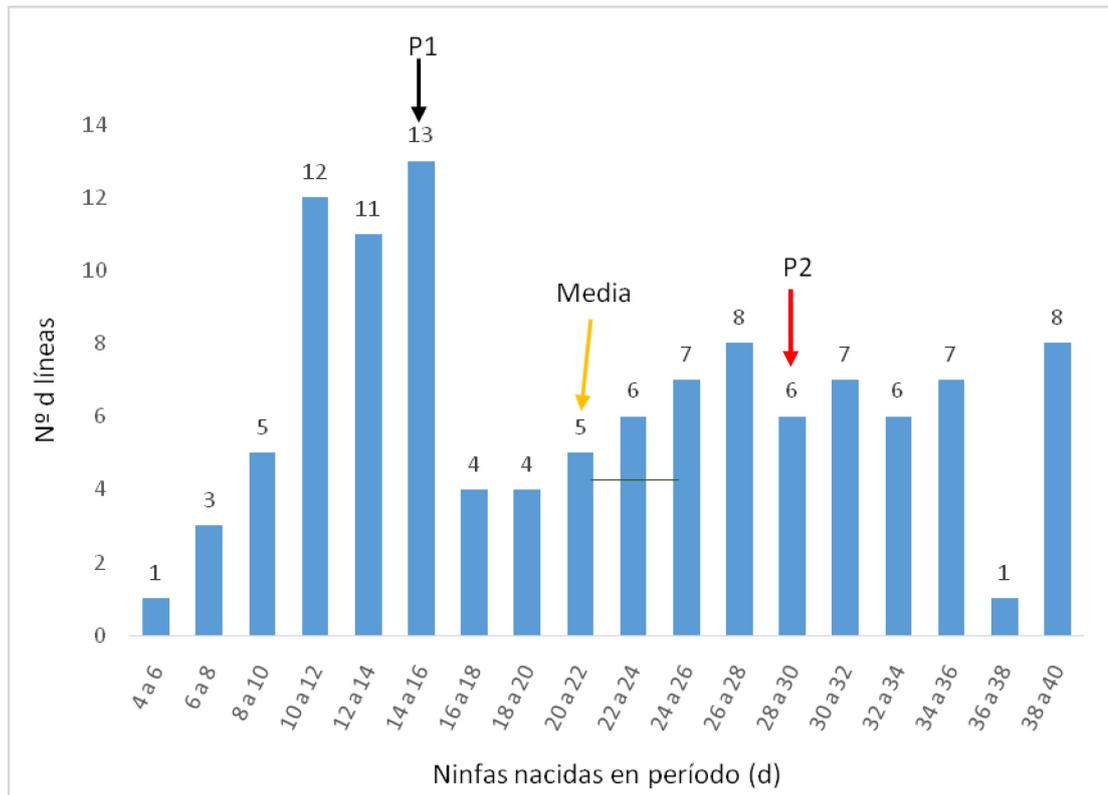


Figura 15: Distribución del parámetro Md: Ninfas nacidas del PRT en un período igual a d, criados en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres. Con flechas se indican los valores medios de los pulgones criados en ambos progenitores. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

En el análisis de medias de md se observó que los áfidos criados en las líneas recombinantes: 13, 22, 11 y 6 presentaron los menores valores de Md.

#### 4.5. Período reproductivo:

El **Período reproductivo** de los padres P1 y P2 (19,4 y 23,8 días respectivamente), no se diferenciaron estadísticamente de la media de la población (26,2 días) (Tabla 5; Fig. 16). Sin embargo, los áfidos criados sobre 12 líneas recombinantes no antibióticas alcanzaron un período reproductivo significativamente mayor a la media de la población, con un máximo de 43,9 días. Por otro lado, se encontró que los insectos criados en otras 17 líneas recombinantes presentaron un período reproductivo significativamente menor al observado en la media de la población, pudiéndose reconocer en las mismas un grado de antibiosis con un valor mínimo de 5,8 días que representa una reducción del 78% en relación a la media de la población determinada en los áfidos criados en ésta población de LR evaluadas (Tabla 5).

Tabla 5: Período Reproductivo de *D. noxia* criado sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.

Período Reproductivo	
Padre 1 (P1)	19,4
Padre 2 (P2)	23,8
Media ( $\pm$ )	26,2
Desvío estándar (DS)	9,91
Rango	5,8-50,75

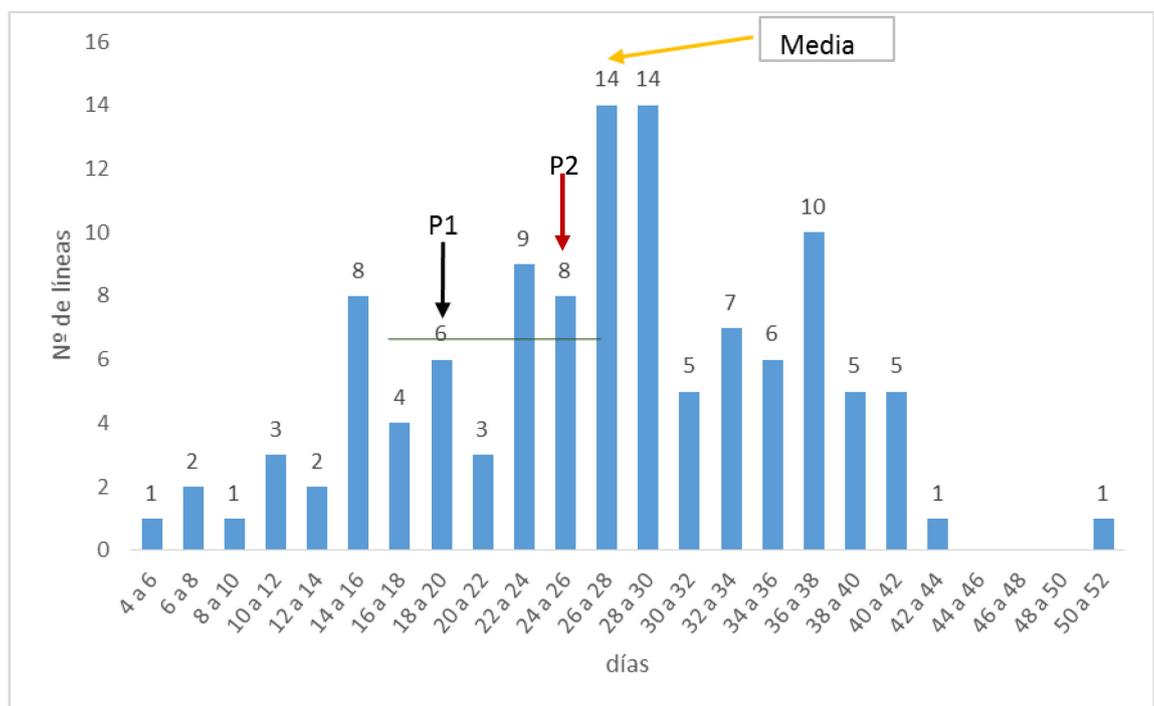


Figura 16: Distribución de frecuencias del Período reproductivo del PRT criados en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres. Con flechas se indican los valores medios obtenidos en ambos progenitores. La línea horizontal indica el Desvío Estándar.

En el análisis de medias para el carácter PRP, se observó que cuatro líneas recombinantes: 13, 6, 22 y 138, redujeron significativamente la duración de éste período, indicándolas como altamente antibióticas.

#### 4.6. Fertilidad total (FT):

La **Fertilidad total (FT)** media lograda por *D. noxia* fue de 44,54 ninfas por hembra. Con respecto a los progenitores se observaron diferencias significativas entre ambos y

con la media de la población (Tabla 6; Fig. 17). Dicho parámetro mostró una distribución de tipo bimodal en la que cada pico correspondería a los valores próximos a la media determinada en cada uno de los padres. Se observó que los áfidos criados en 44 LR tuvieron mayor fecundidad que la media de la población. De manera contrastante, se encontraron en 41 líneas recombinantes valores menores a la media (Fig. 17). Además, es importante señalar que se registró un máximo de 105,75 y mínimo de 5 ninfas paridas por hembra (Tabla 6), evidenciando así un alto efecto antibiótico en éste último caso con una disminución del 89% con relación a la media obtenida para este parámetro.

Tabla 6: Fertilidad Total de *D. noxia* criados sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.

Fertilidad Total	
Padre 1 (P1)	19,2
Padre 2 (P2)	69,4
Media ( $\pm$ )	44,54
Desvío estándar (DS)	14,34
Rango	5,0-105,75

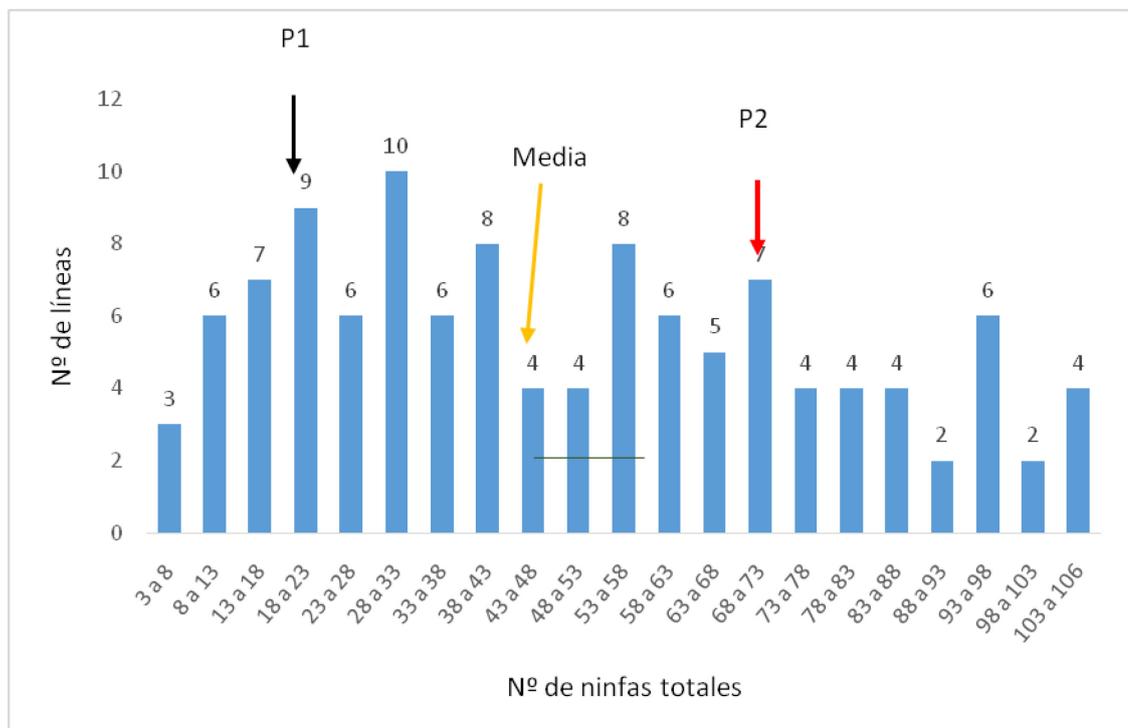


Figura 17: Distribución de frecuencias del parámetro Fertilidad Total (FT), del PRT criados en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres. Con flechas se indican los valores medios obtenidos en ambos padres y la línea horizontal el Desvío Estándar.

En el análisis de medias para la FT, se observó que tres líneas recombinantes: 13, 22 y 6, indujeron en los áfidos la menor fertilidad, con diferencias significativamente distintas del resto, indicándolas como altamente antibióticas.

#### 4.7. Longevidad (L):

Para éste parámetro se observó en los resultados obtenidos que existen diferencias estadísticas significativas entre las líneas recombinantes. En cambio, entre los padres no existieron diferencias significativas y tampoco con la media de la población. Se registró un valor máximo de 62,75 días y un mínimo de 17,43 días (Tabla 7; Fig. 18). Además, los insectos criados en 20 líneas recombinantes no antibióticas mostraron una diferencia significativa con una longevidad mayor que la media. Por otro lado, los áfidos criados en 15 líneas recombinantes tuvieron un significativo acortamiento en su ciclo de vida (Fig. 18). Por ejemplo la LR que presentó mayor efecto antibiótico redujo un 54% la duración de su ciclo de vida con respecto a la media.

Tabla 7: Longevidad de *D. noxia* cuando el áfido fue criado sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.

<b>Longevidad</b>	
Padre 1 (P1)	41,23
Padre 2 (P2)	35,55
Media ( $\pm$ )	37,99
Desvío Estándar (DS)	12,87
Rango	17,43-62,75

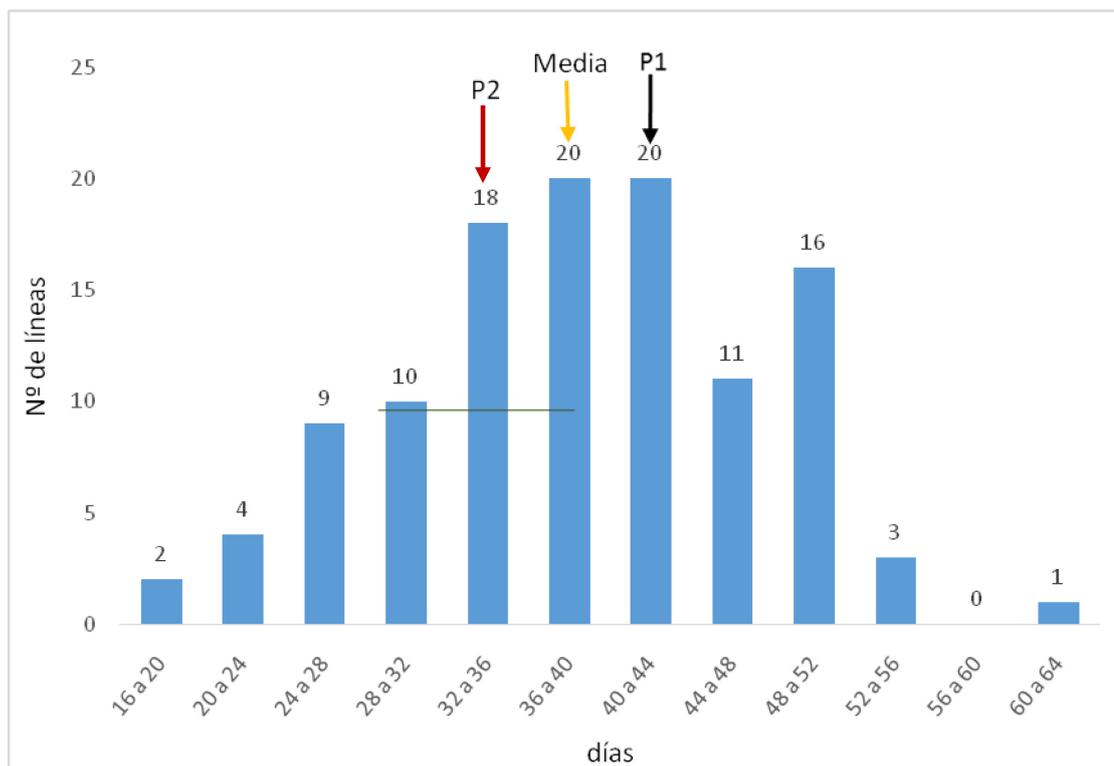


Figura 18: Distribución de frecuencias del parámetro Longevidad, cuando el PRT fue criado en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres. Con flechas se indican los valores logrados en ambos padres y la línea horizontal indica el Desvío Estándar.

Las LR que indujeron en los áfidos la menor longevidad fueron: 13, 22 y 138 resaltándolas como las más antibióticas.

#### 4.7. Tasa intrínseca de crecimiento poblacional " $r_m$ ":

En la **tasa intrínseca de crecimiento poblacional " $r_m$ "** los dos progenitores tuvieron diferencias estadísticas entre ellos y además se diferenciaron significativamente de la media poblacional con un valor de 0,207 (Tabla 8; Fig. 19). Del total de LR evaluadas los áfidos criados en 52 recombinantes, presentaron tasas superiores con respecto a la media, donde su valor máximo fue de 0,335. Por otro lado, 33 recombinantes mostraron un efecto antibiótico al condicionar una significativa reducción de la  $r_m$  con respecto a la media de la población, con un valor mínimo de 0,069 (Tabla 8), que en éste caso representa un descenso del 67% con relación a la media de  $r_m$ .

Tabla 8: Tasa intrínseca de crecimiento poblacional " $r_m$ " de *D. noxia* cuando fue criado sobre 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres.

Tasa intrínseca de crecimiento poblacional “ $r_m$ ”	
Padre 1 (P1)	0,106
Padre 2 (P2)	0,245
Media ( $\pm$ )	0,207
Desvío estándar (DS)	0,026
Rango	0,069-0,335

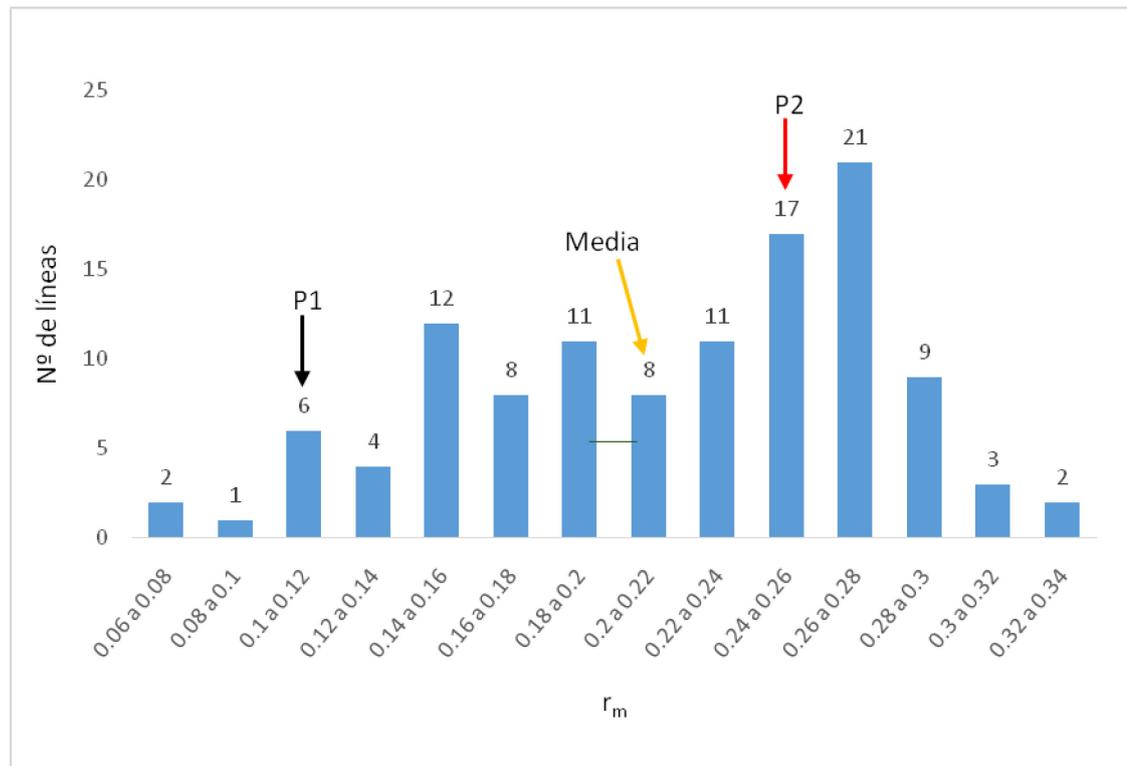


Figura 19: Distribución de frecuencias de la tasa intrínseca de crecimiento poblacional  $r_m$ , del PRT cuando fue criado en 113 líneas recombinantes de trigo y ambos padres. Con flechas se indican los valores medios obtenidos en los progenitores y con la línea horizontal el Desvío Estándar.

Se observó en el análisis de medias de la  $r_m$ , que los áfidos criados sobre la LR 6 presentaron el valor mínimo extremo de éste parámetro, sin embargo, ese valor no se diferenció significativamente de los obtenidos sobre las líneas 13, 11, 22 y el P1.

# **CAPÍTULO V**

# **DISCUSIÓN**

## 5. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos a partir del presente estudio, demuestran que del total de LR evaluadas provenientes del cruzamiento de Opata y Sintético, algunas de ellas afectaron los parámetros biológicos y poblacionales de *D. noxia* y podrían ser incorporadas en planes de mejora del trigo, para ser utilizadas a futuro como variedades antibióticas al PRT en el contexto del manejo integrado de plagas. La detección de resistencia a plagas y enfermedades, con el propósito de seleccionar los genotipos de plantas resistentes, incluye en una segunda etapa, probar los diferentes genotipos seleccionados en invernaderos o en condiciones de semicampo con el fin de corroborar el comportamiento de las mismas ante condiciones no controladas (Smith, 1989).

En el presente trabajo de tesis se ha podido descubrir un efecto antibiótico alentador entre las distintas LR evaluadas en los parámetros de vida de *D. noxia*, ocasionando un incremento en la duración del estado preadulto o inmaduro (d), la disminución de las duraciones de los períodos reproductivo (PR) y la longevidad (LNG), como así también aquellas involucradas con una menor fertilidad (FT, md) y en la tasa intrínseca de crecimiento poblacional ( $r_m$ ). Las LR que afectaron al PRT en dichos parámetros biológicos y poblacionales fueron: 6, 13 y 22.

Al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con los obtenidos por otros investigadores, las LR obtenidas por la Cátedra de Genética de la Fac. de Cs. Agrarias y Forestales de la UNLP, indujeron un incremento del estado inmaduro del PRT (d) en un 64% mayor que el determinado en las LR no antibióticas. En éste sentido Khan y colaboradores (2009), en estudios realizados en EE.UU., encontraron al utilizar otras fuentes de resistencia y biotipos del PRT, que el período pre-reproductivo (d) del Biotipo 1 presentó un aumento del 17% cuando los áfidos fueron criados sobre el progenitor de trigo antibiótico H871, mientras que en el Biotipo 2 presentó un aumento del 12% en dicho parámetro. Es importante destacar que el incremento generado en el período “d” fue sobre el biotipo 5\* identificado en las poblaciones Argentinas de *D. noxia* con características diferentes al B5 identificado en EE.UU. (Ricci, 2012). Por otro lado en México, Lage y colaboradores (2004), encontraron un aumento del 13 % en la duración del período pre-reproductivo entre los áfidos criados en trigos sintéticos hexaploides y aquellos mantenidos en el trigo susceptible Seri M82.

En el caso del Md en el presente trabajo se ha encontrado que los insectos criados sobre la línea recombinante con mayor comportamiento antibiótico (4,6 ninfas) al PRT presentaron una reducción del 88%  $(39.25-4.6)/39.26$  en relación a aquellos criados sobre líneas no antibióticas. Khan et al., (2009) en éste sentido encontraron que en el biotipo 1 del PRT, el Md se redujo un 34% cuando se lo multiplicó sobre líneas recombinantes antibióticas. En tanto en el biotipo 2 la reducción en la producción de ninfas en un periodo igual a “d” fue del 38% cuando se criaron sobre las mismas líneas.

Existen diferencias en los resultados obtenidos por diversos autores al evaluar diferentes fuentes de resistencia al PRT en el mundo. Por ejemplo, estudios realizados por Leszczynski et al., (1995) señalan que las variedades resistentes presentan mayores concentraciones de aleloquímicos que restringen el desarrollo de los áfidos sobre las plantas de cereales, por una reducción de la fecundidad y de la tasa de incremento poblacional. En la misma línea de trabajo, Du Toit et al., (1990), trabajando en trigo en Sudáfrica, reportaron que en tres días el incremento poblacional de los áfidos criados en plantas resistentes fue un 98% inferior al observado en las plantas susceptibles, siendo dicho incremento debido a la tasa de fertilidad y al Md. En cambio, Smith y colaboradores (2004) al evaluar distintos trigos sintéticos y fuentes de resistencia frente a PRT, no encontraron diferencias estadísticas en el parámetro Md, cuando el áfido fue criado en trigos susceptibles y fuentes de resistencia silvestres. Es interesante señalar que en otro cultivo como la cebada, Ma & Bechinski (2009) encontraron que la tasa reproductiva varió entre 0,56 y 21,36 para un período “d” similar al obtenido para el PRT criado en nuestras LR más antibióticas. Dado que los valores de Md determinados en nuestras líneas 6, 13 y 22, fluctuaron entre 4,6 y 6,8 estaría indicando que nuestros materiales son altamente antibióticos.

Castro y colaboradores (2001) evaluaron en una población de líneas de sustitución portadoras de cromosomas del P1, usado como fuente de resistencia en las LR empleadas en la actual tesis, encontraron que el grupo de cromosomas 7 (7A, 7B, 7D) inducía un alto nivel de antixenosis en el biotipo 1 del PRT en Argentina. En cambio, cuando los mismos autores (2004), evaluaron la población de LRD para el cromosoma 7D, no encontraron diferencias significativas en el “Md” del biotipo 1 de los insectos criados sobre esas recombinantes. En este sentido, Lage y colaboradores (2004), hallaron resultados similares para el PRT criado en trigos hexaploides sintéticos, donde no encontraron diferencias en el mismo parámetro. Es importante destacar que en

ningún otro trabajo se han encontrado reducciones en el período Md para el biotipo 5 de *D. noxia*, de la intensidad observada en nuestras líneas recombinantes.

El período reproductivo (**PRP**) de los insectos criados sobre las LR que demostraron inducir en el PRT efecto de antibiosis, presentaron un acortamiento del 89% con respecto a aquellos áfidos mantenidos en las líneas no antibióticas. De manera similar en EE.UU., Ma& Bechinski (2009) encontraron una reducción en el PRP de 76% de la población del PRT criado en cebada. Por otro lado estudios realizados por Tocho (2011) trabajando en líneas recombinantes dihaploides de cebada en Argentina, demostró que los áfidos criados sobre las líneas antibióticas presentaron un PRP 78% inferior al registrado en los áfidos desarrollados sobre líneas susceptibles. En cambio Veisi et al., (2012) no encontraron diferencias significativas en la duración del período reproductivo de *D. noxia* cuando se estudió su comportamiento en cinco cultivares de trigo en Irán. Ngenya et al.,(2013) trabajando con poblaciones de Kenya de pulgón ruso evaluaron el PRP, encontrando que ciertos genotipos de trigo podían reducir de manera significativa éste período en un 53%. En la misma línea de investigación, La Rossa et al., (2005) trabajando con poblaciones argentinas de pulgón ruso encontraron que el período reproductivo medio de *D. noxia* en trigo fue de 28,77 días. En comparación con éste último trabajo, en la presente tesis se ha encontrado que el PRP medio fue de 26,2 días, mostrando similitud debido probablemente a las características propias de las poblaciones del PRT en Argentina.

Para el parámetro biológico de Fertilidad Total (**FT**) de *D. noxia* criado en las líneas recombinantes resistentes, se registró una diferencia altamente significativa con una disminución del 95% en la producción de ninfas con respecto a los insectos criados en las líneas recombinantes no antibióticas. Estudios realizados por Lazzari y colaboradores (2009), al evaluar genotipos de trigo con el biotipo 2 del PRT en EE.UU., obtuvieron una diferencia del 46% en la FT determinada sobre la línea resistente (portadora de *Dnx*), con respecto a la susceptible (*Dn0*). Cabe destacar que en dicho trabajo, la FT de los áfidos se calculó en base a un período reproductivo post infestación de sólo 14 días, mientras que, en nuestro estudio el período evaluado fue hasta la muerte del áfido. Asimismo, Araya (2015) al estudiar líneas de cebada en Etiopia, demostró que el número de ninfas nacidas del PRT, fue influenciado por el uso de plantas hospedantes resistentes, las cuales redujeron la población, registrándose una disminución del 27% con respecto a los valores obtenidos sobre la variedad susceptible.

La disminución del 72% en la longevidad (**LNG**) de los áfidos criados en las LR antibióticas, fue superior a la obtenida sobre LRD de cebada por Tocho (2011) quien, en estudios realizados en Argentina, registró para el PRT una reducción de la longevidad del 65% en la línea más antibiótica. Por otro lado Veisi et al., (2012) no encontraron diferencias significativas en la longevidad del PRT en los cultivares de trigo estudiados en Irán, dado que alcanzaron apenas una disminución del 23% entre los genotipos evaluados. Ngenya et al., (2013) encontraron en Kenya, que la longevidad del PRT criado en distintos trigos presentó una diferencia de 37% entre los insectos recluidos en los materiales antibióticos y no antibióticos. La Rossa et al., (2005) determinaron en poblaciones argentinas de PRT una longevidad media de 47,7 días, que no presentó una diferencia significativa en relación con la LNG media de 37,9 días registrada en el este trabajo.

Con relación a la tasa intrínseca de incremento poblacional  $r_m$ , la LR que indujo en el PRT la mayor disminución del parámetro logró un valor 79% menor con respecto a las no antibióticas. En éste sentido Khan y colaboradores (2009) encontraron en EE.UU., una diferencia del 29% en la tasa de crecimiento poblacional para el biotipo 1 en la variedad resistente H871 con relación a la susceptible y para el biotipo 2 la diferencia fue del 32%. De manera similar en México, Lage et al., (2004), reportaron una diferencia del 20% de la  $r_m$  determinada en la línea resistente de trigo sintético hexaploide con respecto a la línea susceptible Seri M82. Además, Voothuluru et al.,(2006) al evaluar la línea resistente CItr 2401 con el biotipo 2 del PRT en EE.UU., encontraron una  $r_m$  de los áfidos 27% inferior con respecto a la determinada en la línea susceptible Karl.

Las diferencias encontradas en los parámetros biológicos y poblacionales del PRT al comparar los trabajos realizados en otros países, podrían atribuirse no sólo a las líneas de trigo sobre las cuales se estudió el comportamiento biológico de *D. noxia*, sino que además podría deberse a la variabilidad genética de las poblaciones de los áfidos utilizados, característica de las poblaciones Argentinas de *D. noxia* (Ricci et al., 2011; Ricci, 2012). A pesar de ello, pudieron identificarse tres LR que indujeron en el áfido un importante efecto de antibiosis, destacando la necesidad de evaluar las líneas experimentales de trigo en el ambiente donde se van a utilizar y con las poblaciones de la plaga con las propiedades emergentes locales. Según lo destacado por Smith (1989), no se debe esperar que el uso de una sola variedad resistente controle las plagas en todas

las condiciones climáticas, o en todos los lugares donde el cultivo se puede sembrar. En lugar de ello, las variedades resistentes se deben utilizar en combinación con otras medidas de supresión de plagas, incluyendo los tratamientos de las variedades susceptibles al daño, reduciendo drásticamente las poblaciones de PRT.

Uno de los factores responsables del efecto antibiótico encontrados en las LR evaluadas, podrían atribuirse a los metabolitos secundarios de las plantas que pudieran diferir en cantidad y calidad entre las mismas. La investigación básica sobre la ecología química de los insectos ha demostrado que la actividad de los metabolitos secundarios es variada y que muchos de ellos poseen actividad biológica sobre los insectos, alterando su alimentación, desarrollo, reproducción o comportamiento (Schoonhoven, 1982; Smith et al., 2010) identificaron varios transcritos asociados con la producción de metabolitos secundarios incluyendo cicloartenol sintasa, monoterpene sintasa y quinasa shikimato. En un reciente trabajo (Botha et al., 2014) han evaluado diferentes transcritos generados en plantas de trigo portadoras del gen *Dn1*, que otorga antibiosis al PRT; se encontró que genes involucrados con la metabolización de las especies reactivas de oxígeno (ROS) son prevalentes. Posiblemente estos metabolitos condicionan una alimentación pobre o generan algún nivel de toxicidad en los áfidos que se alimentan sobre las plantas antibióticas. Gianoli & Niemeyer (1998) demostraron en trigo la correlación que existe entre los ácidos hidroxámicos y la reducción del tamaño poblacional de *D. noxia*. Otros estudios (Niemeyer, 2009) destacan la importancia de los ácidos hidroxámicos en numerosos cereales, los cuales están involucrados en la defensa de las plantas frente a varias especies de pulgones, correlacionándose negativamente con la tasa intrínseca de crecimiento poblacional de los mismos. En el año 1996 Mayoral et al., en estudios realizados sobre cereales, encontraron una reducción en la actividad de sondeo de los tejidos de la planta (epidermis y mesófilo) por *D. noxia* antes de llegar a los tejidos de conducción, además del descenso de la alimentación sostenida en el floema, en genotipos que contenían mayor cantidad de ácidos hidroxámicos. Un estudio sobre el comportamiento de alimentación del PRT confirmó que la actividad de sondeo aumenta y la alimentación disminuye en cultivares resistentes, lo que resulta en la formación de un número mayor de lesiones en éstos últimos en comparación con las variedades susceptibles (Bahlmann et al., 2003).

Las respuestas moleculares de plantas resistentes al ataque de PRT (portadoras de genes *Dnx*) en comparación con las de las plantas susceptibles (*Dn0*), muestran

diferencias únicas, que indican a los ácidos grasos de la membrana, las oxilipinas, el ABA, las señales de respuestas de defensa mediada por etileno (ET) y las proteínas de defensa, como los componentes probables de la resistencia mediada por *Dnx* a PRT (Smith et al., 2010). La mayoría de las transcripciones potencialmente implicadas en la resistencia fueron de una magnitud y rapidez mayor que en las plantas susceptibles, lo que sugiere una inducción más rápida y enérgica en la red de genes mediada por *Dnx*, como mecanismo probable para la resistencia. Botha et al., (2006) mencionan en un estudio llevado a cabo en trigo resistente a PRT, que las proteínas de defensa fueron inducidas dentro de los 6 días de infestación, se observaron cambios en la producción de etileno en las primeras 24 horas después de la infestación por el PRT en el cultivar resistente, pero no en el susceptible. Los cambios en la expresión del transcripto ocurren formando parte de dos fases, una respuesta inmediata (es decir, respuesta hipersensible, RH) 24 h después de la infestación con PRT, y una segunda respuesta prolongada que prevalece en el tejido durante un período extenso de tiempo, es decir, resistencia sistémica adquirida (RSA) (Botha et al., 1998; Matsioloko & Botha, 2003; Botha et al., 2006).

# **CAPÍTULO VI**

# **CONCLUSIONES**

## 6. CONCLUSIONES

De acuerdo a la Hipótesis planteada en la presente Tesis, pudo probarse que las distintas líneas recombinantes (LR) de trigo provocaron diferencias en el crecimiento poblacional del pulgón ruso criado sobre éstas que afectaron en forma diferencial los parámetros biológicos del pulgón.

Además se alcanzó el objetivo propuesto, al evaluar el efecto de líneas recombinantes isogénicas experimentales de trigo (*T. aestivum*) sobre los parámetros biológicos de *Diuraphis noxia* (estado pre-adulto, reproductivo, fertilidad total y supervivencia), determinando la presencia de genes de resistencia por antibiosis en algunas líneas, que causaron efectos adversos en la biología del PRT.

- El cribado de líneas experimentales recombinantes provenientes del cruzamiento entre los cultivares “Opata” y “Synthetic” en trigo, permitió identificar materiales inéditos que producen efecto de antibiosis en *D. noxia*, afectando sus parámetros biológicos y poblacionales.
- Finalmente, como consecuencia de los análisis realizados se identificaron a las líneas 6, 13 y 22 como las de mayor capacidad antibiótica que podrían ser usadas en la obtención de materiales resistentes de trigo y su futura integración en planes de mejoramiento del cultivo de trigo en Argentina.

# **CAPÍTULO VII**

# **BIBLIOGRAFÍA**

## 7. BIBLIOGRAFÍA

**Araya, A. 2015.** Evaluation of Barley Varieties against Russian Wheat Aphid (*Diuraphis noxia* M.) under Greenhouse Condition. J.Biol. Agric. Healthc., 5(3): 196-203.

**Bahlmann, L.; Govender, P. & Botha, A. M. 2003.** The leaf epicuticular wax ultrastructure and trichome presence on Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) resistant and susceptible leaves. Afr. Entomol., 11: 59–64

**Baker, C. A.; Webster, J. A. & Porter, D. R. 1992.** Characterization of Russian Wheat Aphid resistance in hard white spring wheat. Crop Sci., 32: 1442-1446.

**Baldwin, I.T.; Halitschke, R.; Kessler, A. & Schittko, U. 2001.** Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. Curr. Opin. Plant Biol., 4: 351-358.

**Barberis, N.A. 2014.** Evolución y perspectiva mundial y nacional de la producción y el comercio de trigo. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Manfredi, Disponible en <http://inta.gob.ar/documentos/>. Cartilla Digital Manfredi, ISSN On line 1851-7994. 22 pp.

**Barría, B.N., Copaja, S.V. & Niemeyer, H.M. 1992.** Occurrence of DIBOA in wild *Hordeum* species and its relation to aphid resistance. Phytochemistry, 31: 89–91.

**Blackman, R. 1974.** Invertebrate types: Aphids. Ginn & Co Ltd. London, 175 pp.

**Blackman, R.L. and Eastop, V.F. 1984.** Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. Wiley, Chichester, 466 pp.

**Blackman, R. L. & Eastop, V. F. 2000.** Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. 2nd Ed John Wiley & Sons, England. 466 pp.

**Bonaventure G. 2012.** Perception of insect feeding by plants. German Botanical Society and The Royal Botanical Society. Plant Biology, 14: 872–880.

**Botha, A. M.; Nagel, M.A.C.; van der Westhuizen, A.J. & Botha, F.C. 1998.** Chitinase isoenzymes in near-isogenic wheat lines challenged with Russian wheat aphid, exogenous ethylene and mechanical wounding. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 39: 99–106.

**Botha, A. M.; Lacock, L.; van Niekerk, C.; Matsioloko, M. T.; du Preez, F. B.; Loots, S.; Venter, E.; Kunert, K. J. & Cullis, C. A. 2006.** Is photosynthetic transcriptional regulation in *Triticum aestivum* L. cv. ‘TugelaDN’ a contributing factor for tolerance to *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae)? *Plant Cell Rep.*, 25: 41–54. DOI 10.1007/s00299-005-0001-9

**Botha, A. M. 2013.** A coevolutionary conundrum: the arms race between *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) a specialist pest and its host *Triticum aestivum* (L.). *Arthropod Plant Interact*, 7: 359-372.

**Botha, A. M.; van Eck, L.; Burger, N. F. V. & Swanevelder, Z.H. 2014.** Near-isogenic lines of *Triticum aestivum* with distinct modes of resistance exhibit dissimilar transcriptional regulation during *Diuraphis noxia* feeding. *Biology Open*, 3: 1116–1126 doi:10.1242/bio.201410280.

**Boyko, E. V.; Smith, C. M.; Vankatappa, T.; Bruno, J.; Deng, Y.; Starkey, S. R.; & Klaahsen, D. 2006.** The molecular basis of plant gene expression during aphid invasion: wheat Pto- and Ptilike sequences modulate aphid-wheat interaction. *J. Econ. Entomol.*, 99: 1430–1445.

**Burd, J. D. & Elliott, N. C. 1996.** Changes in chlorophyll a fluorescence induction kinetics in cereals infested with Russian wheat aphid. *J. Econ. Entomol.*, 89: 1332-7.

**Calzolari, A.; Polidoro, O. & Terrile, I. 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.

**Cartier, J.J. 1963.** Varietal resistance of peas to pea aphid biotypes under field and greenhouse conditions. *J. Econ. Entomol.*, 56: 205-213.

**Carver, M.; Gross, G.F. & Woodward, T.E. 1991.** Hemiptera, in: The Insects of Australia. In CSIRO (ed.) The Insects of Australia, 2nd Edn, 1: 429-509.

**Castro, A. M. 1994.** Uso de *Hordeum chilense* en la mejora de la resistencia a áfidos en cereales. Ph. D. Tesis. Universidad de Córdoba. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes. Córdoba, España. 126 pp.

**Castro A.M., Ramos S., 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.

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

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

**Cole, R.A. 1997.** The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. Entomol Exp Appl, 85: 121–133.

**Cooper, W. R.; Dillwith, J. W. & Puterka, G. J. 2011.** Comparisons of salivary proteins from Pve aphid (Hemiptera: Aphididae) species. Environ. Entomol., 40: 151-156.

**Couldridge, C.; Newbury, H. J.; Ford-Lloyd, B.; Bale, J. & Pritchard, J. 2007.** Exploring plant responses to aphid feeding using a full Arabidopsis microarray reveals a

small number of genes with significantly altered expression. Bull .Entomol. Res., 97: 523–532.

**Cui, F.; Smith, C. M.; Reese, J.; Edwards, O. & Reeck, G. 2012.** Polymorphisms in salivary-gland transcripts of Russian wheat aphid biotypes 1 and 2. Insect Sci., 19: 429-440.

**Curvetto, R.O. 2003.** El trigo y sus plagas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA); Estación Experimental Agropecuaria - Bordenave; Revista desafío 21, año 9 N° 21 - julio 2003. 36 pp.

**Delfino, M.A. 2005.** Inventario de las asociaciones áfido-planta en el Perú. Ecol. apl., 4 (1, 2): 143-158.

**De Vos, M.; Van Oosten, V.R.; Van Poecke, R.M.P.; Van Pelt, J.A.; Pozo, M.J.; Mueller, M.J.; Buchala, A.J.; Métraux, J.P.; Van Loon, L.C.; Dicke, M. & Pieterse, C.M.J. 2005.** Signal Signature and Transcriptome Changes of *Arabidopsis* During Pathogen and Insect Attack. The American Phytopathological Society, Molecular Plant-Microbe Interactions, 18(9): 923-937.

**Dinant, S.; Bonnemain, J.L.; Gironse, C. & Kehr, J. 2010.** Phloem sap intricacy and interplay with aphid feeding. C. R. Biol., 333: 504-515.

**Ding, J.P. & Pickard, B.G. 1993.** Modulation of mechanosensitive calcium-selective cation channels by temperature. Plant J.,3: 713–720

**Dixon, A.F.G. 1975.** Seasonal changes in fat content, form, state of gonads and length of adult life in the sycamore aphid, *Drepanosiphum platanoides* (Schr.). Trans R Entomol Soc Lond, 127: 87–99.

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

**Divol, F.; Vilaine, F.; Thibivilliers, S.; Amselem, J.; Palauqui, J. C.; Kusiak, C. & Dinant, S. 2005.** Systemic response to aphid infestation by *Myzus persicae* in the phloem of *Apium graveolens*. *Plant Mol. Biol.*, 57: 517–540.

**Dolatti, L.; Ghareyazie, B.; Moharramipour, S. & Noori-Dalooi M. R. 2005.** Evidence for regional diversity and host adaptation in Iranian population of the Russian wheat aphid. *Entomol Exp Appl*, 114: 171–180.

**Dughetti A. 2012.** Pulgones: clave para identificar las formas ápteras que atacan a los cereales. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Disponible en <http://rian.inta.gov.ar/agronomia/libropulgones/>. Estación Experimental Agropecuaria – INTA Hilario Ascasubi. Red de Información Agropecuaria Nacional, 48 pp.

**Du Toit, F. & H. A Van Niekerk. 1985.** Resistance in *Triticum* species to the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Hemiptera: Aphididae). *Cereal Res Commun*, 13: 371–378.

**Du Toit F. 1988.** Another source of Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) resistance in *Triticum aestivum*. *Cereal Res Commun*, 16:105-106.

**Du Toit F. 1989.** Inheritance of resistance in two *Triticum aestivum* lines to Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *J Econ Entomol*, 82: 1779-1781.

**Du Toit, F. 1990.** Field resistance in three bread wheat lines to the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae). Butterworth Heinemann Ltd. *Crop Protection*, 9: 255-258.

**Eigenbrode, S.D.; Kabalo, N.N. & Stoner, K.A. 1999.** Predation, behavior, and attachment by *Chrysoperla plorabunda* larvae on *Brassica oleracea* with different surface waxblooms. *Entomol Exp Appl*, 90:225–235.

**Elsidaig, A.A. & Zwer, P.K. 1993.** Genes for resistance to Russian wheat aphid in PI294994. *CropSci*, 33: 998-1001.

**Fazel-Najafabadi, M.; Peng, J.; Peairs F. B.; Simkova H.; Kilian A. & Lapitan, N. L. V. 2015.** Genetic mapping of resistance to *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) biotype 2 in wheat (*Triticum aestivum* L.) accession CI2401. *Euphytica*, 203: 607–614.

**Febvay, G.; Bonnin J.; Rahbe Y.; Bournoville R.; Delrot S. & Bonnemain J.L., 1988.** Resistance of different lucerne cultivars to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: influence of phloem composition on aphid fecundity. *Entomol Exp Appl*, 48: 127–134.

**Formusoh E. S., Wilde, G. E., Hatchett, J. H. & Collins, R. D.. 1994.** Resistance to the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) in wheat and wheat related hybrids. *J Econ Entomol*, 87: 241-244.

**Gianoli, E. & Niemeyer, H.M. 1998.** Allocation of herbivory-induced hydroxamic acids in the wild wheat *Triticum uniaristatum*. *Chemoecology*, 8: 19-23.

**Givovich, A. & Niemeyer, H. M. 1996.** Role of hydroxamic acids in the resistance of wheat to the Russian wheat aphid *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Hom. Aphidae). *J Appl Ent*, 120: 537-539.

**Harrington, R. & Cheng, X.N. 1984.** Winter mortality, development and reproduction of a field population of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) in England. *Bull Entomol Res*, 74:633–640.

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

**Hille Ris Lambers, D. 1966.** Polymorphism in Aphididae. *Annual Review of Entomology*, 11: 47–78.

**Horn, M. Y.; Rodrigues, K. A. & Anzótegui, L. M. 2011.** Primeras evidencias de interacción insecto-planta en el neógeno del noroeste de la Argentina. *Rev Bras Paleontol*, 14(1): 87-92.

**Imwinkelried, J.M.; Fava, F. & Trumper, E. 2009.** Distintas especies de pulgones en trigo y su control. Sitio Argentino de Producción Animal. Disponible en <http://www.produccion-animal.com.ar/> INFOINTA, Boletín Electrónico N° 4. 2 pp.

**Jones, J.W., Byers, J.R., Butts, R.A. & Harris, J.L. 1989.** A new pest in Canada: Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae). Can Entomol, 82: 1779-1781.

**Kareiva, P., & Sahakian, R. 1990.** Tritrophic effects of a simple architectural mutation in pea plants. Nature, 345:433–434.

**Khan, S. A.; Murugan, M.; Starkey, S.; Manley, A. & Smith C. M. 2009.** Inheritance and Categories of Resistance in Wheat to Russian Wheat Aphid (Hemiptera: Aphididae) Biotype 1 and Biotype 2. J Econ Entomol, 102(4): 1654-1662.

**Kindler, S.D.; Jensen, K.B. & Springer, T.L. 1993.** An overview: resistance to the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) within the perennial Triticeae. J Econ Entomol, 86: 1609–1618.

**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.

**King, R.W. & Zeevaart, J. 1974.** Enhancement of phloem exudation from cut petioles by chelating agents. Plant Physiol, 53: 96-103

**Klun, J.A & Brindley, T. A. 1966.** Role of 6-methoxybenzoxazolinone in inbred resistance of whost plant (maize) to first-broad larvae of European corn borer. Econ Entomol, 59: 711-718.

**Klun J.A.; Tipton C.L. & Brindley, T.A. 1967.** 2,4-dihydroxy-7- methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA), an active agent in the resistance of maize to the European corn borer. J Econ Entomol, 60: 1529-1533.

**Knoblauch, M.; Peters, W.S.; Ehlers, K. & van Bel, A.J.E. 2001.** Reversible calcium-regulated stopcocks in legume sieve tubes. *The Plant Cell*, 13: 1221-1230.

**Knapp, J.L.; Maxwell, F.G., & Douglas, W.A. 1967.** Possible mechanisms of resistance of dent corn to the corn earworm. *J Econ Entomol*, 60: 33-36 pp.

**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.

**Kundu, R. & Dixon, A.F.G. 1995.** Evolution of complex life-cycles. *J Anim Ecol*, 64: 245–255.

**Lage, J.; Skovmand, B. & Andersen, S.B. 2004.** Resistance categories of synthetic hexaploid wheats resistant to the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*). *Euphytica*, 136: 291–296.

**La Rossa, F. R.; Vasicek, A.; Mendy, P.; Moreno Kiernan, A. & Paglioni, A. 2005.** Biología y demografía de *Diuraphis noxia* (Mordv.), *Rhopalosiphum padi* (L.) y *Metopolophium dirhodum* (Wlk.) sobre trigo en condiciones de laboratorio (Hemiptera: Aphididae). *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 36: 327–331.

**Lazzari, S.; Starkey, S.; Reese, J.; Ray-Chandler, A.; Mccubrey, R. & Smith, C. M. 2009.** Feeding Behavior of Russian Wheat Aphid (Hemiptera: Aphididae) Biotype 2 in Response to Wheat Genotypes Exhibiting Antibiosis and Tolerance Resistance. *J Econ Entomol*, 102(3): 1291-1300.

**Leather, S.R. & Wellings, P.W. 1981.** Ovariole number and fecundity in aphids. *Entomol Exp Appl*, 30: 128–133.

**Leszczynski, B.; Dixon, A.F.G.; Bakowski, T. & Matok, H. 1995.** Cereal allelochemicals in grain aphid control. *Allelopathy J.*, 2 (1): 31–36.

**Leineweber, K.; Schulz, A. & Thompson, G.A. 2000.** Dynamic transition in the translocated phloem filament protein. *Aust J Plant Physiol*, 27: 733–741.

**Littell, R.C.; Milliken, G.A.; Stroup, W.W. & Wolfinger, R.D. 1996.** SAS System for Mixed Models. SAS Inst. Inc., Cary, N.C., pp. 31–63.

**Liú, X. M., C. M. Smith, B. S. Gill & V. Tolmay. 2001.** Microsatellite markers linked to six Russian wheat aphid resistance genes in wheat. *Theor Appl Genet*, 102: 504-510.

**Loomis, R.S., Beck, S.D. & Stauffer, J.F. 1957.** The European corn borer, *Pyrausta nubilalis* (Hubn), and its principal hosts plant. V. A chemical study of host plant resistance. *Plant Physiol*, 32: 379-385.

**Ma, Z. Q.; Saidi, A.; Quick, J. & Lapitan, N.L.V. 1998.** Genetic mapping of Russian wheat aphid resistance genes Dn2 and Dn4 in wheat. *Genome*, 41: 303-306.

**Ma, Z. S. & Bechinski, E. J. 2009.** An approach to the nonlinear dynamics of Russian wheat aphid population growth with the cusp catastrophe model. *Entomol Res*, 39: 175–181. doi: 10.1111/j.1748-5967.2009.00216.x.

**Marais, G.F.; Horn, M. & Du Toit, F. 1994.** Intergeneric transfer (rye to wheat) of a gene(s) for Russian wheat aphid resistance. *Plant Breeding*, 113: 265-271.

**Martinez De Ilarduya, O.; Nombela, G.; Hwang, C. F.; Williamson, V. M.; Muniz, M. & Kaloshian, I. 2004.** *Rme1* is necessary for *Mi-1*-mediated resistance and acts early in the resistance pathway. *Mol. Plant Microbe Interact*, 17: 55–61.

**Mathile, P. 1984.** Das toxische Kompartiment der Pflanzenzelle. *Naturwissenschaften*, 71: 18–24.

**Matsioloko, M. T. & Botha, A. M. 2003.** cDNA - AFLP profiling in wheat upon Russian wheat aphid feeding. Proceedings of the 10th International Wheat Genetics Symposium, Paestum, Italy (1–6 September 2003), 3: 1275–1277.

**Mayoral, A. M.; Tjallingii, W. F. & Castañera, P. 1996.** Probing behaviour of *Diuraphis noxia* on five cereal species with different hydroxamic acid levels. *Entomol Exp Appl*, 78: 341–348.

**McMurtry, J.A. & Stanford, E.H.1960.** Observations of feeding habits of the spotted alfalfa aphid on resistant and susceptible alfalfa plants. *J Econ Entomol*, 53: 714-717.

**Mei-Hwa Kuo, Wei-Nong Lu, Ming ChihChiu, Ya-Hui Kuo & Shaw-hi Hwang. 2006.** Temperature-Dependent Development and Population Growth of *Tetraneura nigriabdominalis* (Homoptera: Pemphigidae) on three Host Plants. *J Econ Entomol*, 99(4): 1209-1213.

**Miles, P.W. 1999.** Aphid saliva. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 74: 41–85.

**Miller, G.L. & Footitt, R.G. 2009.** The taxonomy of crop pests: The aphids. *Insect Biodiversity: Science and Society*. Edited by R. Footitt and P. Adler, 1(20): 463-473.

**Miralles, D.J. & González, F.G. 2010.** El trigo en Argentina: Perspectivas ecofisiológicas del pasado, presente y futuro para aumentar el rendimiento. Disponible en <http://www.agro.uba.ar/noticias/>. Cátedra de Cerealicultura Facultad de Agronomía UBA, IFEVA, Av. San Martín 4453, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, CONICET, EEA INTA Pergamino. 11pp.

**Mollema, C. & Cole, R.A. 1996.** Low aromatic amino acid concentrations in leaf proteins determine resistance to *Frankliniella occidentalis* in four vegetable crops. *Entomol. Exp. Appl.*, 78: 325–333.

**Mordwilko, A.K. 1934.** On the evolution of aphids. *Archiv für Naturgeschichte*, 3: 1–60.

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

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

**Mutti, N. S.; Louis J.; Pappan, L. K.; Pappan, K.; Begum, K.; Chen M-S.; Park, Y.; Dittmer, N.; Marshall, J.; Reese, J. C. & Reeck, G. R. 2008.** A novel protein from the salivary glands of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, is essential in feeding on host plants. *Proc Nat Aca Sci USA*, 105: 965-9969.

**Nayar, J.R. & Fraenke. 1963.** The chemical basis of the host selection in the Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ann Entomol Soc Amer*, 56: 174-178.

**Ngenya, W. A.; Malinga, J. N. & Tabu, I. M. 2013.** Reproduction and population dynamics of Kenyan populations of Russian wheat aphid. *African Crop Science Conference Proceedings*, 11: 503 – 509.

**Nicholson, S. J.; Hartson, S. D. & Puterka, G. J. 2012.** Proteomic analysis of secreted saliva from Russian Wheat Aphid (*Diuraphis noxia* Kurd.) biotypes that differ in virulence to wheat. *J Proteomics*, 75: 2252-2268.

**Niemeyer, H.M. 1988.** Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in the Gramineae. *Phytochemistry*, 27: 3349–3358.

**Niemeyer, H.M. 1992.** Aspectos ecológicos y moleculares de la interacción entre áfidos y sus plantas hospederas. *Rev Chil Hist Nat*, 65: 103-114.

**Niemeyer, H.M. 2009.** Hydroxamic acids derived from 2-hydroxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one: key defense chemicals of cereals. *J Agric Food Chem*, 57: 1677-1696.

**Nieto, J. M. & Seco, M. V. 1990.** Pulgones y su captura mediante trampas: La red Euraphid. *Bol San Veg Plagas*, 16: 593-603.

**Nieto Nafría, J. M. & Mier Durante, M. P. 1985.** Tratado de Entomología. Barcelona: Omega, S.A.599 pp.

**Nkongolo K.K.;Quick,J.S.;Mayer,W.L. &Peairs,F.B. 1989.** Russian wheat aphid resistance of wheat, rye, and triticale in greenhouse tests. Cereal Res Commun, 17: 227-232.

**Nkongolo, K.K.; Quick J.S.; Peairs, F.B. & Meyer, W.L. 1991.** Inheritance of Resistance of PI 373129 Wheat to the Russian Wheat Aphid. Crop Sci, 31: 905–906.

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

**Painter, R.H. 1941.**The economic value and biologic significance of insect resistance in plants. J Econ Entomol, 34: 358-367.

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

**Panda, N. & Khush, G.S. 1995.** Host Plant Resistance to Insects. CAB International in association with the International Rice Research Institute, 431 pp.

**Park, S.J.; Huang, Y.H. & Ayoubi, P. 2006.** Identification of expression profiles of sorghum genes in response to greenbug phloem-feeding using cDNA subtraction and microarray analysis. Planta, 223: 932–947.

**Pollard, D.G., 1973.** Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera, Aphidoidea): a review. Bull Entomol Res, 62: 631-714.

**Prado, E. & Tjallingii, W.F. 1994.** Aphid activities during sieve element punctures. Entomol. Exp. Appl., 72: 157-165.

**Prado, E. & Tjallingii, W.F. 1997.** Effects of previous plant infestation on sieve element acceptance by two aphids. *Entomol. Exp. Appl.*, 82: 189–200.

**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.; Nkongolo, K.K.; Meyer, W.L.; Peairs, F.B. & Weaver, B. 1991.** Russian wheat aphid reaction and agronomic and quality traits of a resistant wheat. *Crop Science*, 31: 50-53.

**Rawson, H.M. & Macpherson, H.G. 2001.** Trigo Regado: Manejo del Cultivo. Published by Food & Agriculture Organization Of The United Nations (Fao), 112 pp.

**Remaudière, G. & Remaudière, M. 1997.** Catalogue des Aphididae du Monde / Catalogue of the world's Aphididae. Homoptera Aphidoidea. Institut National de la Recherche Agronomique. Paris, 475pp.

**Ricci, M.; Tocho,E.;Dixon,A. &Castro,A.M. 2011.** *Diuraphis noxia*: reproductive behaviour in Argentina. *Bulletin of Insectology*, 64 (2): 235-241.

**Ricci, M.; Kakhir, M & Castro, A.M. 2012.** *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae): Identificación de los biotipos presentes en poblaciones argentinas. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 71(1-2): 105-113.

**Ricci, M. 2012.** Comportamiento de poblaciones Argentinas de *Diuraphis noxia* Kurdjumov (Hemiptera: Aphididae). PhD Tesis. Facultad de Ciencias Agrarias, UNLP. La Plata, Argentina. 212 pp.

**Saidi, A. & Quick, J.S. 1994.** Inheritance of Russian wheat aphid resistance in 4 winter wheats. In: F.B. Peairs, M.K. Kroening and C.L. Simmons (eds). Proceedings of the 6th Russian wheat aphid workshop. Colorado State University, Fort Collins, CO. pp 126-132.

**Saidi, A. & Quick, J.S. 1996.** Inheritance and allelic relationships among RWA resistance genes in winter wheat. *Crop Sci*, 36:256-258.

**SAS Institute Inc. 1997.** SAS/STAT software: changes and enhancements through release 6.12. Cary, N.C.: SAS Institute Inc.

**SAS Institute Inc. 2002.** SAS 9.1.3 Help and Documentation, Cary, NC: SAS Institute Inc.

**Satorre, E.; Benech-Arnold, R.; Slafer, G.A.; de la Fuente, E.B.; Miralles, D.J.; Otegui, M.E. & Savín, R. 2003.** Producción de Cultivos de Granos. Bases Funcionales para su Manejo. Editorial Facultad de Agronomía. 783 pp.

**SIIA, Sistema Integrado de Información Agropecuaria (SIIA). 2014.** Estadísticas, Agricultura. Trigo. Disponible en: <http://www.siiia.gov.ar/series> Consultado: julio 2015.

**Schoonhoven, L.M. 1982.** Biological aspect of antifeedants. *Entomol ExpAppl*, 31: 57-69.

**Schroeder-Teeter, S.; Zemetra, R.S.; Schotzko, D.J.; Smith, C.M. & Rafi, M. 1994.** Monosomic analysis of Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) resistance in *Triticum aestivum* line PI 137739. *Euphytica*, 74: 117–120

**Shaposhnikov, G.C. 1981.** Populations and Species in Aphids and the Need for a Universal Species Concept. Special Publication of the Research Branch, Agriculture, Canada, 61 pp.

**Simon, J.C.; Blackman, R.L. & le Gallic, J.F. 1991.** Local variability in the life-cycle of the bird cherry–oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (Homoptera, Aphididae) in Western France. *Bull Entomol Res*, 81: 315–322.

**Smith, C.M. 1989.** Plant Resistance to Insects: A fundamental Approach. Wiley, New York, 286 pp.

**Smith, C.M.; Schotzko, D.; Zemetra, R.S.; Souza, E.J. & Schroeder-Teeter, S. 1991.** Identification of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) resistance in wheat. *J Econ Entomol*, 84: 328-332.

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

**Smith, C.M. 2005.** *Plant Resistance to Arthropods—Molecular and Conventional Approaches.* Springer, The Netherlands, 426 pp.

**Smith, C.M. & Boyko, E.B. 2007.** Mini Review: The molecular bases of plant resistance and defense responses to aphid feeding: current status. *Entomol Exp Appl*, 122: 1-16.

**Smith, C. M.; Liu, X. M.; Wang, L. J.; Liu, X.; Chen, M. S.; Starkey, S. & Bai, J. 2010.** Aphid feeding activates expression of a transcriptome of oxylipin-based defense signals in wheat involved in resistance to herbivory. *J ChemEcol*, 36: 260-276.

**Sorensen, J.T.; Campbell, B.C.; Gill, R.J. & Steffen-Campbell, J.D. 1995.** Non-monophyly of Auchenorrhyncha (“Homoptera”), based upon 18S Rdna phylogeny: ecoevolutionary and cladistic implications within pre-Heteropteroidea Hemiptera (s.l.) and a proposal for new monophyletic suborders. *Pan-Pacific Entom*, 71 (1): 31-60.

**Starks, K.J.; Munippan, R. & Eikenbary, R.D. 1972.** Interaction between plant resistance and parasitism against the greenbug on barley and sorghum. *Ann Entomol Soc Am*, 65:650-655.

**Starks, K.J. & Burton, R.L. 1977.** *Greenbugs Determining Biotypes, Culturing, and Screening for Plant Resistance. With notes on Rearing Parasitoids.* Agricultural Research Service USDA. Technical Bulletin 1556, 12 pp.

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

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

**Telang, A.; Sandstrom, J.; Dyreson, E. & Moran, N.A. 1999.** Feeding damage by *Diuraphis noxia* results in a nutritionally enhanced phloem diet. *Entomol Exp Appl*, 91: 403-412

**Tjallingii, W.F. & Hogen Esch, Th. 1993.** Fine structure of the stylet route in plant tissues by some aphids. *Physiol Entomol*, 18: 317–328.

**Tjallingii, W.F. 1994.** Sieve element acceptance by aphids. *EurJ Entomol*, 91: 47–52.

**Tjallingii, W.F. 2006.** Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. *J Exp Bot*, 57: 739–745.

**Tocho, E.F. 2011.** Identificación y caracterización de la resistencia a *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) y a *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) en cebada cervecera (*Hordeum vulgare*). Tesis Doctoral. 166 pp.

**Tocho, E.F.; Marino de Remes Lenicov, A.M. & Castro, A.M. 2012.** Evaluación de la resistencia a *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae) en cebada. *Rev Soc Entomol Argent*, 71: 1-2.

**Tolmay, V.L.; van der Westhuizen, M.C. & van Deventer, C.S. 1999.** A six week screening method for mechanisms of host plant resistance to *Diuraphis noxia* in wheat accessions. *Euphytica*, 107: 79–89.

**USDA, United States Department of Agriculture. 2014.** Foreign Agriculture Service. Production, supply and distribution online. Washington (EU). Disponible en <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdHome.aspx> Consultado: Julio 2015.

**Van Eck, L. 2011.** Functional genomic approaches to cerealaphidinteractions. Ph.D, Colorado State University, FortCollins, pp. 150.

**Van Zyl, R.A. 2007.** Elucidation of possible virulence factors present in Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) biotypes' saliva. M. Sc., University of Pretoria, South Africa, pp. 118.

**Van Zyl, R.A. & Botha, A.M. 2008.** Eliciting proteins from *Diuraphis noxia* biotypes differ in size and composition. In IPRI-18th Biennial Workshop, 10-13 February, Fort Collins, CO.

**Veisi, R.; Ali Safavi, S. & Karimpour, Y. 2012.**Duration of life stages and fecundity of *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) on six wheat cultivars. J Crop Prot, 1 (3): 181-187.

**Voothuluru, P.; Meng, J.; Khajuria, C.; Louis, J.; Zhu, L.; Starkey, S.; Wilde, G. E.; Baker, C.A. & Smith, C.M. 2006.** Categories and inheritance to Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) biotype 2 in a selection from wheat cereal introduction 2401. J Econ Entomol, 90: 1854-1861.

**Walling, L.L. 2000.** The myriad plant responses to herbivores. J Plant Growth Regul, 19: 195–216.

**Walter, E.V. 1957.** Corn earworm lethal factor in silk of sweet corn. J Econ Entomol, 50: 105-106.

**Wyatt, I.J. & White, P.F. 1977.** Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. J Appl Ecol, 14: 757–766.

**Webster, J.A.; Merkle,O.A. &Burton,R.L. 1988.** Progress in Russian wheat aphid plant resistance research. En: Procceding of Russian Wheat Aphid Workshop, 2nd. Eds: F. B. Peairs & S. D. Pilcher, Denver, CO, USA, pp. 202.

**Webster, J.A. & Kenkel, P. 1999.** Benefits of managing small-grain pests with plant resistance. In: Wiseman BR, Webster JA (Eds.). Economic, Environmental and Social Benefits of Resistance in Field Crops. Entomol Soc Am, USA, pp. 87-114.

**Webster, J. A.; Starks, K. J. & Burton, R.L. 1987.** Plant resistance studies with russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae), a new United States wheat pest. J Econ Entomol, 80: 944-949.

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

**Wellings, P.W.; Leather, S.R. & Dixon, A.F.G. 1980.** Seasonal variation in reproductive potential: a programmed feature of aphid life cycles. J Anim Ecol, 49: 975–985.

**Wikteliu, S. 1984.** Studies on population development on the primary host and spring migration of *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hom., Aphididae). Z. Angew Entomol, 97: 217–222

**Wikteliu, S.; Weibull, J. & Pettersson, J. 1990.** Aphid host plant ecology: the bird cherry–oat aphid as a model. Campbell, R.K. & Eikenbary, R.D. (Eds). Aphid–plant genotype interactions. B.V. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, pp. 21–36.

**Will, T. & van Bel, A.J.E. 2006.** Physical and chemical interactions between aphids and plants. J Exp Bot, 57: 729-737.

**Will, T.; Tjallingii, W.F.; Thönnessen, A. & van Bel, A.J.E. 2007.** Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. Proc Natl Acad Sci USA, 104: 10536-10541.

**Will, T.; Kronemann, S.R.; Furch, A.C.; Tjallingii, W.F. & van Bel, A.J. 2009.** Aphid watery saliva counteracts sieve-tube occlusion: a universal phenomenon? J Exp Bot, 212: 3305-3312.

**Williams, I.S.; Dewar, A.M.; Dixon, A.F.G. & Thornhill, W.A. 2000.** Alate production of *Myzus persicae* on sugar beet – how likely is the evolution of sugar beet specific biotypes? *J Appl Ecol*, 37: 40–51.

**Williams, I.S. & Dixon, A.F. 2007.** Life Cycles and Polymorphism. In: van Emden HF, Harrington R (eds) *Aphids as crop pests*. CABI, Wallingford, pp. 69-85.

**Zavala, J.A. 2010.** Respuestas inmunológicas de las plantas frente al ataque de insectos. *Revista on line Ciencia Hoy*. Disponible en <http://cienciahoy.org.ar>, 20(117).

**Zhang, B.; Edwards, O.; Kang, L. & Fuller, S. 2014.** A multi-genome analysis approach enables tracking of the invasion of a single Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) clone throughout the New World. *Mol Ecol*, 23: 1940–1951.

**Zemetra, R.S.; Schotzko, D.; Smith, C.M. & Souza, E.J. 1990.** Seedling resistance to the Russian wheat aphid in wheat germoplasm. *Cereal Res Commun*, 18: 223-227.

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

**Zhu-Salzman, K.; Salzman, R.A.; Ahn, J.; & Koiwa, H. 2004.** Transcriptional regulation of sorghum defense determinants against a phloem-feeding aphid. *Plant Physiol.*, 134:420–431.

**Zúñiga, G.E.; Varanda, E.M. & Corcuera, L.J. 1988.** Effect of gramine on the feeding behavior of the aphids *Schizaphis graminum* and *Rhopalosiphum padi*. *Entomol. Exp. Appl.*, 47: 161-165.