

SAb/m
cu 1

**"EFECTO DE GRAMINA EN LA CONDUCTA ALIMENTARIA DE LOS AFIDOS
Y SU PAPEL EN LA PLANTA"**

Tesis presentada a la Universidad de Chile en
cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de Magister
en Ciencias Biológicas

Facultad de Ciencias

Por

MARIA LUZ SALAS GUIADO

Profesor Patrocinante: Luis J. Corcuera P.

1991



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION
TESIS DE MAGISTER

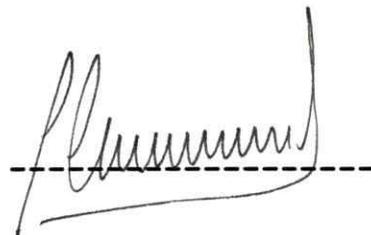
Se informa a la comisión de postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por la candidata

MARIA LUZ SALAS GUIADO

ha sido aprobada por la comisión informante de Tesis como requisito para optar al grado de Magister en Ciencias Biológicas mención Botánica.

Director de Tesis:

Dr. Luis Corcuera



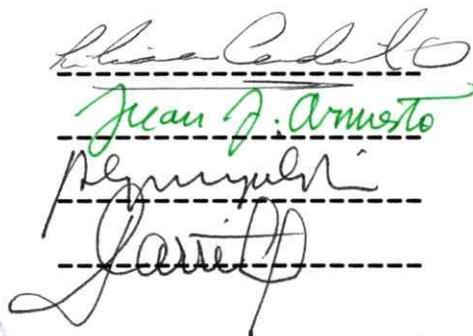
Comisión informante de Tesis:

Dra Lilibiana Cardemil

Dr. Juan Armesto

Dr. Roberto González

Dr. Roberto Carrillo



A mi Madre



AGRADECIMIENTOS

Mis sinceros agradecimientos al Dr. Luis Corcuera por su constante ayuda y enseñanza durante el desarrollo de mis estudios.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Fisiología Vegetal que de una u otra forma colaboraron en el desarrollo de esta tesis. En especial a la Srta Marta Bazaez por su ayuda y colaboración en los ensayos de laboratorio y campo.

A todas las personas que participaron en mi formación.



INDICE

	Pag.
AGRADECIMIENTOS	ii
INDICE	iii
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUCCION	1
1.1. Reproducción y polimorfismo en áfidos	2
1.2. Mecanismo de alimentación	3
1.3. Elección del hospedero	6
1.4. Efectos de los áfidos en las plantas	8
1.4.1. Respuestas específicas y daño causado por áfidos	8
1.4.2. Daño indirecto	11
1.5. Mecanismos de resistencia de la planta	11
1.5.1. Defensas morfológicas	12
1.5.2. Factores nutricionales y bioquímicos	13
1.6. Objetivos	18
2. MATERIALES Y METODOS	19
2.1. Cultivo de las plantas	19
2.2. Extracción y cuantificación de gramina	19
2.3. Ensayos en dietas artificiales	21

2.4.	Conducta alimentaria	21
2.5.	Ensayos de infestación artificial	23
2.6.	Parámetros de daño	23
2.6.1.	Medición de clorofila	25
2.6.2.	Potencial hídrico	25
2.6.3.	Peso seco de la planta	26
2.6.4.	Asimilación fotosintética	26
2.7.	Daño por temperatura	28
2.8.	Ensayo de campo	29
3.	RESULTADOS	33
3.1.	Efecto de la gramina en la sobrevivencia de 4 especies de áfidos	33
3.2.	Susceptibilidad de algunos cultivares de cebada a los áfidos	33
3.3.	Efecto de gramina en la conducta alimentaria de 4 especies de áfidos de los cereales	36
3.4.	Evaluación del daño producido por cada especie de áfido en variedades de cebada con diferente contenido de gramina	43
3.4.1.	Contenido de clorofila	43
3.4.2.	Asimilación de CO ₂	45
3.4.3.	Potencial hídrico	49
3.4.4.	Peso seco	51

3.5.	Daño producido por la temperatura en cultivares de cebada con diferente contenido de gramina	55
3.6.	Efecto de gramina en la susceptibilidad de un cultivo a los áfidos	58
3.7.	Daño producido por áfidos en un cultivo de cebada	65
3.8.	Rendimiento de las variedades de cebada utilizadas en el ensayo de campo	70
4.	DISCUSION	74
5.	REFERENCIAS	85

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Conducta alimentaria de R. padi y R. maidis en cebada con y sin gramina	41
Tabla 2.	Conducta alimentaria de S. graminum y D. noxia en cebada con y sin gramina	42
Tabla 3.	Número de penetraciones en el tejido realizadas por 4 especies de áfidos en plantas con diferente contenido de gramina	44
Tabla 4.	Disminución del contenido de clorofila producido por áfidos en cebada	46
Tabla 5.	Disminución de la asimilación de CO ₂ producido por áfidos en cebada	48
Tabla 6.	Disminución del potencial hídrico producido por áfidos en cebada	50
Tabla 7.	Cinética de la variación del potencial hídrico y de la apertura estomática en cabada sin gramina infestada con S. graminum	53
Tabla 8.	Disminución del peso seco de la planta producido por áfidos en cebada	54
Tabla 9.	Número y especies de áfidos presentes en dos cultivares de cebada en el campo	66
Tabla 10.	Número de áfidos por eje y evaluación del daño ocasionado por los áfidos en dos cultivares de cebada en el campo	69

Tabla 11. Rendimiento de dos cultivares de cebada en el campo	71
Tabla 12. Comparación del rendimiento de dos cultivares de cebada infestada en el campo	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alcaloides indólicos presentes en algunas gramíneas	16
Figura 2. Sistema usado para la alimentación de los áfidos	21
Figura 3. Instrumento para medir la conducta alimentaria de los áfidos	22
Figura 4. Montaje del sistema usado para medir la conducta alimentaria de los áfidos	24
Figura 5. Distribución de las parcelas y jaulas en los ensayos de campo	30
Figura 6. Efecto de gramina sobre la sobrevivencia de áfidos alimentados en dietas artificiales	34
Figura 7. Susceptibilidad de la cebada a los áfidos	35
Figura 8. Ensayo de preferencia	37
Figura 9. Registro característico de ondas obtenidas en plantas con el monitor de alimentación	38
Figura 10. Registro de ondas no floemáticas obtenidas en plantas con gramina	40
Figura 11. Pérdida de clorofila ocasionada por cada especie de áfido en tres	47
Figura 12. Efecto del número de áfidos sobre el potencial hídrico de cebada	52

Figura 13. Efecto de la temperatura sobre el contenido de gramina en cebada	56
Figura 14. Efecto de la temperatura sobre el peso seco de tres cultivares de cebada	57
Figura 15. Efecto de la temperatura sobre el contenido de clorofila en cebada	59
Figura 16. Efecto de la temperatura sobre la asimilación de CO ₂ en cebada	60
Figura 17. Efecto de la temperatura sobre el potencial hídrico en plántulas de cebada	61
Figura 18. Contenido de gramina en un cultivo de cebada en el campo	62
Figura 19. Parcelas infestadas de Aramir y Atlas 57 en un ensayo de campo	63
Figura 20. Parcelas control e infestadas de Aramir y Atlas 57 en un ensayo de campo	67

RESUMEN

La acumulación de gramina en algunos cultivares de cebada se ha correlacionado con la resistencia de las plantas al ataque de insectos. En esta tesis se postula que la presencia de gramina en la planta sería beneficiosa pues la protege contra el ataque y daño producido por los áfidos.

La sobrevivencia y tasa de crecimiento poblacional de los áfidos disminuyó al aumentar el contenido de gramina. En ensayos con dietas artificiales la especie más afectada por la presencia de gramina fue **Rhopalosiphum padi**. En plantas con gramina se encontró una disminución del 50% en las tasas de crecimiento poblacional de los áfidos **Schizaphis graminum** y **Diuraphis noxia**.

La conducta alimentaria de las 4 especies de áfidos estudiadas fue diferente en el mismo hospedero. Por ejemplo, **S. graminum**, **D. noxia** y **Rhopalosiphum maidis** se alimentaron más desde el floema en plantas sin gramina. **R. padi** se alimentó principalmente desde tejidos no floemáticos. En las plantas con gramina casi todas las especies disminuyeron sus tiempos de ingestión no floemática. **D. noxia** y **R. padi** pasaron más tiempo sin ingerir, al contrario de lo observado con **R. maidis**. **S. graminum** no presentó diferencias en los tiempos de no ingestión en Aramir y Atlas 57.

El áfido más dañino independientemente del cultivar utilizado fue **S. graminum**. Plantas con un contenido de gramina superior mostraron menores disminuciones en el contenido de clorofila frente a la infestación. La tasa de asimilación de CO₂ fue menor en las plantas infestadas por áfidos que en las no infestadas. La disminución del potencial hídrico producido por los áfidos fue menor en plantas con gramina frente a los áfidos **D. noxia** y **R. maidis** que en plantas sin gramina. Sin embargo, los cultivares infestados con **S. graminum** mostraron reducciones del potencial hídrico similares. **R. padi** fue el único áfido que no provocó cambios en el estado hídrico de la planta. No se encontró una correlación entre contenido de gramina y pérdida de peso seco ocasionada por los áfidos **S. graminum** y **R. maidis**. Sin embargo, se encontró una correlación inversa con **D. noxia** y directa con **R. padi**.

El contenido de gramina aumentó con la temperatura. A pesar de lo sugerido en la literatura este incremento no resultó tóxico para la planta. Solamente se observó daño en aquellas plantas con o sin gramina, mantenidas a temperaturas superiores a 35 °C .

En el campo, las poblaciones de áfidos fueron menores en el cultivar Atlas 57 (con gramina) que en Aramir (sin gramina). En ambos cultivares se encontraron las mismas especies de áfidos: **S. graminum**, **R. padi**, **Sitobion avenae** y **Metopolophium dirhodum**. La sobrevivencia de las plantas fue

de un 83% para el cultivar Atlas 57 y de 23% para Aramir. El porcentaje de pérdida de clorofila y de peso seco en las plantas ocasionado por los áfidos fue superior en Aramir que en Atlas 57. El rendimiento del cultivo disminuyó con la infestación, siendo ésta pérdida mucho mayor en el cultivar Aramir que en Atlas 57. También disminuyó el peso de las semillas un 85% en Aramir y un 13% en Atlas 57.

Los resultados sugieren que gramina en la planta la protege contra el ataque de los áfidos y que los elevados niveles de este metabolito bajo condiciones de alta temperatura no resultarían fitotóxicos. Por estas razones gramina sería considerada beneficiosa para la planta y convendría seleccionar cultivares con un alto contenido de ella.

ABSTRACT

The accumulation of gramine by some barley cultivars has been linked to the plant's resistance against insect attack. It is proposed in this thesis that the presence of gramine should be advantageous to the plant, since it protects against attack and damage caused by aphids.

The survival and growth rate of aphid populations decreased as the gramine content increases. In assays involving artificial diets the species most affected by the presence of gramine was *Rhopalosiphum padi*. There was a 50% decrease in the population growth rate of the aphids *Schizaphis graminum* and *Diuraphis noxia* in plants containing gramine.

The feeding behaviour of the 4 aphid species studied differed for the same host. For example, *S. graminum*, *D. noxia* and *Rhopalosiphum maidis* fed mostly on phloem from those plants lacking gramine. *R. padi* fed mainly on non-phloem tissues. In plants containing gramine almost all species decreased their ingestion time from non phloem tissues and increased the time of non phloem waves. *D. noxia* and *R. padi* spent more time not feeding, the opposite of the case for *R. maidis*. *S. graminum* showed no difference in its non feeding times between Aramir and Atlas 57.

The most damaging aphid was *S. graminum* irrespective of cultivar employed. Plants containing higher gramine levels

showed a lesser reduction in chlorophyll levels following attack. The rate of CO₂ uptake was less in plants infested with aphids than for those that were not infested. The drop in water potential induced by aphids was less in plants containing gramine for the aphids *D. noxia* and *R. maidis* than in plants lacking gramine. However, cultivars infected with *S. graminum* did show a similar reduction in water potential. *R. padi* was the only aphid that provoked no change in plant water potential. No correlation was observed between the amount of gramine and the loss of dry weight for the aphids *S. graminum* and *R. maidis*. However, an inverse correlation was found for *D. noxia* and a direct correlation for *R. padi*.

The amount of gramine increased with temperature. As suggested in the literature, this increase was not toxic for the plant. Damage was only observed in those plants (with and without gramine) kept at temperatures above 35°C.

In field tests, the populations of aphids were less in the Atlas 57 cultivar (containing gramine) than in Aramir (lacking gramine). The same aphid species were found in both cultivars: *S. graminum*, *R. padi*, *Sitobion avenae* and *Metopolophium dirhodum*.

Plant survival was 83% in the Atlas 57 cultivar and 23% in Aramir. The percentage loss of chlorophyll and dry weight in plants due to aphids was greater in Aramir than in Atlas 57. Crop yields fell following infestation,

although this drop was much greater in Aramir than in Atlas 57. Furthermore the weight of seeds decreased 85% in Aramir and 13 % in Atlas 57.

These results suggest that gramine protects the plant against aphid attack and that the high levels of this metabolite under high temperature conditions are not phytotoxic. For these reasons gramine may be considered to be beneficial to the plant and it would be useful to select for cultivars with a high content of gramine.

1. INTRODUCCION

Los áfidos son insectos que causan severos daños en los cultivos que atacan, llegando a producir pérdidas importantes en sus rendimientos. Dentro de los cultivos de importancia económica se encuentran los cereales, los cuales son atacados por áfidos durante las distintas etapas de su desarrollo. La cebada es uno de los cereales que se cultivan en la zona Central de nuestro país, siendo atacado por áfidos de las especies *Schizaphis graminum* (Rondani), *Rhopalosiphum padi* (L), *Sitobion avenae* (Fabricius), *Metopolophium dirhodum* (Walker), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) y en los últimos 3 años por *Diuraphis noxia* (Morvilko), una especie recientemente introducida al país (Zuñiga 1967, Campos 1976, Zerené et al., 1988). El uso de pesticidas ha solucionado en parte el problema de los áfidos. Sin embargo, los residuos dejados por éstos y su toxicidad para otras especies, han hecho pensar en mecanismos naturales de defensa. En la cebada se ha encontrado un alcaloide indólico, al cual se le ha asociado un papel importante en la defensa de la planta contra los áfidos (Corcuera, 1984). En esta tesis se pretende evaluar el rol de la gramina en la resistencia de la cebada a 4 especies de áfidos de los cereales bajo condiciones de laboratorio y en el campo.

1.1. Reproducción y Polimorfismo en áfidos

La importancia que tienen los áfidos como plaga en diversos lugares del mundo radica en varios aspectos de su biología sobre la planta hospedera. El mecanismo reproductivo es un parámetro de importancia para determinar la estructura poblacional y las altas tasas de crecimiento. Aquellos áfidos que tienen ciclos de vida con reproducción sexual (holocíclica), no presentan sobreposición de generaciones como ocurre en aquellos individuos partenogenéticos (anholocíclicos). Se entiende como sobreposición de generaciones la factibilidad que embriones de áfidos partenogenéticos tengan a su vez embriones desarrollándose dentro de ellos. Esta forma de reproducción acelera la aparición de adultos en las sucesivas generaciones (Dixon, 1987). Por ello, el crecimiento poblacional es mayor, llegando rápidamente a constituir un problema a la planta hospedera.

Existen diversos factores que afectan la dinámica poblacional de los áfidos, entre los cuales se pueden mencionar cambios climáticos, estado nutricional de la planta y enemigos naturales. Se ha encontrado que cambios en el fotoperíodo favorecen la aparición de formas sexuales en muchas especies de áfidos durante los meses de otoño en zonas templadas (Kenten, 1955; Lamb y Pointing, 1972; Sharma *et al.*, 1975). Se ha informado también que la alta temperatura inhibe la formación de alados (Johnson, 1966 ;

Lamb y Whites, 1966). Por otra parte la alta densidad de áfidos favorecería la aparición de individuos alados debido a la estimulación por contacto que se produce en las poblaciones hacinadas, así como también por el cambio en la condición nutricional de la planta hospedera (Lees, 1967).

Dentro de los enemigos naturales de los áfidos se encuentran organismos entomófagos y entomopatógenos. En Chile se ha informado de predación por coccinélidos y sírfidos, y de parásitoides tales como hongos entomopatógenos y microhimenópteros (Caballero, 1972; Carrillo *et al.*, 1974, Aruta *et al.*, 1974 ; Lamborot y Guerrero, 1979). En estudios realizados en la zona Central del país se ha encontrado que casi el 90% de los áfidos presentes en los cultivos de trigo se encontraban parasitados por el hongo entomopatógeno **Entomophthora aphidis** (Apablaza y Tiska, 1973).

Si bien todos los aspectos mencionados afectan de una u otra forma la capacidad de los áfidos para convertirse en plaga, el estudio del mecanismo de alimentación es un parámetro de importancia para la comprensión del daño que provocan los áfidos en las plantas.

1.2. **Mecanismo de alimentación**

La alimentación del áfido se inicia con la secreción de una gota de saliva sobre la superficie de la planta. Los quimiorreceptores presentes en la punta del labro, que están

inmersos en la saliva, pueden sentir el material y dan al áfido información relacionada con la calidad del sustrato. Si la primera respuesta sensorial es aceptable, el proceso de penetración comienza (Tarn y Adams, 1982). La penetración puede ser a nivel intracelular (Pollard, 1973) intercelular y algunas especies penetran la planta a través de los estomas (Auclair, 1963). La ingestión de fluidos desde la planta se lleva a cabo por capilaridad en el canal alimentario debido a la presión hidrostática en el jugo celular de la planta y la succión activa por la bomba cibarial faríngea (Van Emdem, 1967 ; Wearing, 1968).

McLean y Kinsey en 1964 desarrollaron una técnica para estudiar la conducta alimentaria de los áfidos por medio de un monitor electrónico. El principio de funcionamiento de este monitor consiste en registrar en forma amplificada los cambios de voltaje, producidos por el flujo de saliva y sustratos líquidos a través del estilete de un áfido, cuando éste prueba de un sustrato electrificado. Los cambios de voltaje se registran como ondas, las cuales reflejan conductas de penetración disímiles. Con la ayuda de técnicas histológicas, se obtuvo una correlación entre forma de la onda y localización tisular del estilete en el tejido. De esta manera se definieron varios tipos de ondas: S de salivación, I de ingestión y X de penetración en el floema. La secuencia de las ondas otorgó información acerca del tipo de ingestión que se estaba registrando. Por

ejemplo, la secuencia S-X-I se asoció a ingestión floemática, pues antecede a la onda I una onda X característica de penetración floemática. S-I corresponde a ingestión no floemática, ya que no se observó la onda X y el estilete no penetró el haz vascular (McLean y Kinsey, 1967).

Gracias a este sistema se han establecido las conductas alimentarias de diversas especies de áfidos, además de correlacionar la adquisición de virus con determinadas conductas (Shukle *et al.*, 1987). Se ha determinado que el tiempo de salivación y de ingestión de **Acyrtosiphon pisum** sobre su hospedero **Vicia faba** es diferente del obtenido sobre no hospederos como **Vigna sinensis** o **Lactuca sativa** (McLean y Kinsey, 1968a).

Se han detectado además diferencias en la conducta entre biotipos. Por ejemplo, el biotipo A de **S. graminum** realiza penetración intercelular y se alimenta de tejidos floemáticos. El biotipo B, sin embargo, penetra intra e intercelularmente y se alimenta preferentemente desde el parénquima del mesófilo (Montlor *et al.*, 1983).

La técnica de monitores electrónicos ha sido ampliamente utilizada y modificada por varios autores. Schaefer (1966) describió una variante del método original, usando corriente continua con una frecuencia de 60 Hz. Brown y Holbrook (1976) describieron una modificación que se basa en el uso de corriente continua con una frecuencia

de 20 Hz. Tjallingii (1978) usó la variante de Schaefer, obteniendo registros que permiten diferenciar a lo menos 7 ondas diferentes. Con este sistema se pudo diferenciar salivación, ingestión floemática y xilemática, penetración de los elementos de los vasos, penetración de otras células y la vía pared celular.

Si bien todas las técnicas mencionadas nos dan información acerca del sitio de alimentación de un áfido, previo a la ingestión, el insecto realiza una serie de eventos de reconocimiento y aceptación de la planta, lo que se ha denominado "elección del hospedero".

1.3. Elección del hospedero

La aceptación o rechazo de una planta no es sólo debido a la presencia de un estímulo específico, sino a una secuencia de pasos en respuesta a una variedad de estímulos. Los primeros eventos son atracción, prueba desde la superficie de la planta y de otros tejidos, penetración y prueba del floema (Klingauf, 1987). Cuando el áfido llega a la planta, se verifica una selección preliminar, la cual puede visualizarse como el número de desplazamientos sobre el vegetal. Siendo estos menores en plantas hospederas que en las no hospederas (Klingauf, 1970). Una planta es hospedera en la medida que el áfido pueda alcanzar un sitio de alimentación, sea este el floema u otro tejido. Sin embargo, la inserción de los estiletes no

es fácil y toma tiempo debido a que el áfido debe localizar el floema. La aceptación final depende de las propiedades cualitativas y cuantitativas de la savia floemática. La sacarosa, por ejemplo, es conocida como un fagoestimulante. Manosa y ribosa, sin embargo, actúan como repelentes (Mittler et al., 1970).

El áfido, después de reconocer el vegetal como hospedero, realiza la selección del sitio de alimentación. Diferentes especies de áfidos se alimentan de sitios diferentes en la planta. *R. padi* se ubica principalmente en el tallo, *Metopolophium dirhodum* se encuentra a menudo en las hojas intermedias, bandera y espiga y *Sitobion avenae* en la hoja bandera y en la espiga (Carrillo et al., 1974).

La selección que realizan los áfidos se basa, en parte, en los requerimientos nutricionales de cada especie. Se ha encontrado que muchos áfidos prefieren ubicarse en las hojas inferiores de las plantas, las que corresponden a hojas de mayor edad y que por consiguiente, presentan un mayor contenido de aminoácidos (Jansson y Smilowitz, 1985). El estado fenológico de la planta es también un parámetro importante en la selección. Al respecto en cebada se han encontrado las mayores poblaciones de áfidos al comienzo de la floración (Echeverría y Campos, 1979). En cultivos de trigo se han encontrado las máximas poblaciones de áfidos en el período de espigadura y de máximo crecimiento vegetativo (Apablaza y Tiska, 1973).

1.4. Efectos de los áfidos en las plantas

La alimentación de poblaciones de baja densidad de áfidos no virulíferos, no produce un daño masivo, sino más bien una reducción del crecimiento de la planta (Ortman y Painter, 1960). La salida de asimilados de la planta causa la ruptura de reservas insolubles y la movilización de aminoácidos libres y amidas (Kennedy, 1951).

El daño directo producido por los áfidos ha sido bastante estudiado. Se ha demostrado que las células son afectadas en una variedad de formas: plasmólisis, aumento del movimiento citoplasmático, acumulación de citoplasma cercano al origen de la perturbación, alargamiento del núcleo, aumento del número de mitocondrias, cambios en el número y tamaño de los plastidios y en el grosor de la pared celular. Además, los áfidos pueden afectar la captación de agua, la transpiración de la planta y provocar una mayor permeabilidad y movimiento citoplasmático en las células dañadas (Pollard, 1973).

1.4.1. Respuestas de la planta al daño causado por áfidos

Una de las respuestas de la planta a la alimentación de insectos succionadores es la formación de áreas cloróticas producidas por la degeneración y desaparición de los cloroplastos en la vecindad de la zona de alimentación (Jensen, 1954). *S. graminum* es una de las especies que provoca los mayores daños en los cultivos. Este áfido se

alimenta del floema y desde el parénquima del mesófilo (Saxena y Chada, 1971). Se cree que el daño producido podría ser una mezcla de remoción de nutrientes y destrucción de regiones fotosintéticas. Se ha encontrado inhibición de la diferenciación de los primordios foliares, además de un acortamiento en la longitud de la vaina y de la lámina y por consiguiente, una disminución del área total de la hoja (Castro y Rumi, 1987).

Además de la remoción de nutrientes, aminoácidos y carbohidratos, los áfidos tienen un impacto sobre procesos fisiológicos de la planta. La conductancia estomática y el potencial hídrico se reducen en las plantas infestadas (Ferrerres *et al.*, 1988 ; Riedell, 1989). De acuerdo a la literatura la respuesta fisiológica pareciera ser distinta dependiendo de la planta y de la especie de áfido. La asimilación fotosintética en plantas de cebada infestadas con *R. padi* es similar a la de cebada no infestada (Mallot y Davy, 1978). En *Pisum sativum* la asimilación fotosintética y la tasa respiratoria fueron mayores en las plantas infestadas con *A. pisum* que en las no infestadas (Hawkins *et al.*, 1987).

La consecuencia más relevante de la infestación es la disminución del rendimiento de los cultivos. La infestación de cebada con *R. padi* produce una disminución en el peso seco , área de la hoja, número de espigas y número de hojas (Mallot y Davy, 1978). Un ataque masivo de *S. graminum*

puede causar una reducción de 55% en el crecimiento de raíces, con la consiguiente reducción del crecimiento del cultivo (Ortman y Painter, 1960 ; Burton, 1986).

Se ha demostrado que la calidad y cantidad del grano dependen del nivel de infestación y del estado de desarrollo de la planta al inicio de la infestación (Ba-Angood y Stewart, 1980). Estudios en el campo demuestran que existen varios factores que afectan a los áfidos y a la producción:

- a) el estado de crecimiento de la planta en el momento de la infestación (Wratten, 1978).
- b) la fecha de siembra de la planta hospedera (Lammerink y Banfield, 1980).
- c) la disponibilidad de agua durante la infestación (Foott y Timmins, 1973).
- d) el cultivar usado (Harvey et al., 1971).
- e) la fertilización nitrogenada (Archer et al., 1982).
- f) efectos indirectos debido a la producción de mielecilla (Rabbinge et al., 1981).

El sitio de alimentación y el estado de la plántula al momento de la infestación determinan el nivel de daño producido por los áfidos. Cuando el áfido se ubica en la hoja bandera se reduce el peso del grano en 7 - 14 % , de la especie de áfido (Wratten, 1975 y 1978). El número de granos por espiga es afectado por infestaciones en la etapa de hoja bandera hasta la

formación del grano. El peso de los granos es afectado por la infestación desde el comienzo de la formación del grano hasta la maduración del mismo (Carrillo *et al.*, 1974).

También se ha indicado que el áfido *M. dirhodum* reduce la altura de la planta adulta y el área foliar de la hoja bandera (Carrillo y Mellado, 1975).

1.4.2. Daño indirecto

Los efectos de la infestación pueden ser indirectos, como la menor tolerancia a bajas temperaturas o al déficit hídrico. Al infestar *Medicago sativa* con *A. pisum* se redujo la resistencia al frío (Harper y Freyman, 1979). Frente a otro tipo de estrés, como es la sequía, los áfidos disminuyen la estabilidad de las membranas y producen una menor acumulación de solutos que regulan el ajuste osmótico (Dorschner *et al.*, 1986). En ensayos de laboratorio, se ha determinado el daño producido por las excretas de *S. avenae* y *M. dirhodum*. La mielecilla depositada sobre la superficie de la hoja reduce el uso de la luz, promoviendo el envejecimiento de la planta y el desarrollo de hongos (Rabbinge *et al.*, 1981).

1.5. Mecanismos de resistencia de la planta

Se han propuesto tres mecanismos generales para la resistencia de la planta al daño por insectos:

1) **no preferencia** (antixenosis): una planta no es atractiva

o adecuada para la colonización u ovoposición de un insecto (Kogan y Ortman, 1978).

2) **antibiosis**: una planta que ha sido aceptada como hospedero reduce la tasa de crecimiento y reproducción del insecto.

3) **tolerancia**: la planta soporta, sin reducción en el rendimiento, a una población aproximadamente igual a la que dañaría a un hospedero susceptible.

Las características básicas que dan resistencia o susceptibilidad a insectos pueden ser morfológicas o bioquímicas. Estas últimas incluyen la composición nutricional de la planta y también a factores aleloquímicos como allomonas (repelentes, inhibidores de la ovoposición y alimentación y tóxicos) y kairomonas (atrayentes y excitantes).

1.5.1. Defensas morfológicas

Dentro de las barreras morfológicas se pueden mencionar la presencia de tricomas en diferentes familias de plantas. **Aphis gossypii** se alimenta mucho menos de un hospedero pubescente que de uno glabro (Kennedy et al., 1978). Se ha encontrado una relación entre desarrollo de **A. pisum** y viscosidad del exudado de pelos glandulares en alfalfa (Shade y Kitch, 1983). Por otra parte, las hojas de **Solanum berthaultii** están cubiertas de pelos glandulares, cuyos exudados inmovilizan a los áfidos, causándoles la

muerte (Gibson y Pickett, 1983). Otra barrera defensiva es el grosor de la cutícula. Estadios jóvenes de *A. fabae* y *A. pisum* no pueden penetrar la cutícula de varias especies perennes de *Vicia*, a diferencia de las especies de *Vicia* cultivadas (Klingauf, 1987). La presencia de ceras epicuticulares es considerada, también, una barrera defensiva. Se ha encontrado que existen buenas correlaciones entre el contenido de ceras en las hojas de la cebada y la mayor resistencia al áfido *R. padi* (Tsumuki et al., 1989).

1.5.2. Factores nutricionales y bioquímicos

La cantidad y calidad del alimento son factores limitantes de las poblaciones de insectos, siendo el nitrógeno el principal componente de la planta para los fitófagos. Al adicionar nitrógeno a plantas de trigo se ha encontrado un incremento en la velocidad de desarrollo y en la progenie de *M. dirhodum* y *S. avenae* (Carrillo y Mundaca, 1976). Por otra parte en ensayos de laboratorio se ha determinado que la fertilización de la cebada con KNO_3 disminuye el grado de infestación, lo que puede verificarse por un menor tiempo de ingestión y menores tasas reproductivas de los áfidos (Salas et al., 1990).

Catalogado también como barrera defensiva contra los áfidos se encuentra el grado de metilación, acetilación y ramificación de las cadenas laterales de la pectina

intracelular. Estas modificaciones hacen disminuir la tasa de despolimerización de la pectina, retardando o impidiendo la desintegración de la pared celular (Dreyer y Campbell, 1983). Dentro de este mismo tipo de resistencia se encuentran los inhibidores de la pectinasa de áfidos (Campbell y Dreyer, 1985).

La presencia de compuestos secundarios en las plantas son un mecanismo de resistencia contra el ataque de los áfidos. Los pelos glandulares de muchas plantas producen compuestos de gran actividad para los áfidos. Los sesquiterpenos β -Cariofileno y β -Farneseno presentes en tricomas tipo A de **Solanum tuberosum** y **Solanum berthaultii**, son repelentes para el áfido del duraznero **Myzus persicae** (Avé et al., 1987). La sinigrina que actúa como un estimulador para el áfido **Brevicoryne brassicae**, tiene un efecto negativo sobre **M. persicae** (Van Emden, 1972). La presencia de alcaloides quinolizidínicos en lupino determina la selectividad de hospedero de una variedad de áfidos (Wink et al., 1982). Por otra parte, sustancias como los compuestos fenólicos y flavonoides han sido considerados factores de resistencia de cebada a los áfidos (Todd et al., 1971 ; Juneja et al., 1975). En cereales se han encontrado metabolitos secundarios relacionados con resistencia a patógenos. Por ejemplo, en algunas variedades de trigo, centeno y maíz se ha encontrado la presencia de ácidos hidroxámicos (Willard y Penner, 1976 ; Niemeyer et

al., 1982 ; Corcuera *et al.*, 1985). Se ha encontrado que plantas con un alto contenido de ácidos hidroxámicos presentan un menor número de áfidos en ellas (Argandoña *et al.*, 1980).

En cebada se ha informado la presencia de algunos alcaloides, llamados protoalcaloides por poseer nitrógeno heterocíclico sólo en el anillo indólico. Gramina, el protoalcaloide más simple (Figura 1), ha sido muy estudiado, debido a sus propiedades químicas y biológicas. Este metabolito se acumula principalmente en las hojas jóvenes y varía su concentración dependiendo de las condiciones ambientales de la planta (Coulman *et al.*, 1977).

Al someter plántulas de cebada a alta temperatura, se ha encontrado un alto contenido de gramina en sus hojas (Hanson *et al.*, 1981). Además, al fertilizar plantas de cebada con soluciones ricas en KNO_3 , se encontró en las hojas más jóvenes un incremento en el contenido de gramina (Salas *et al.*, 1990).

Por otra parte, se ha encontrado que la presencia de gramina y otros protoalcaloides en plantas forrajeras, han provocado severas lesiones y a veces la muerte a los animales que las han ingerido (Gallagher *et al.*, 1964). Además de un efecto tóxico se ha demostrado que plantas con estos metabolitos son menos aceptadas por los animales (Simons y Marten, 1971). De acuerdo a los estudios

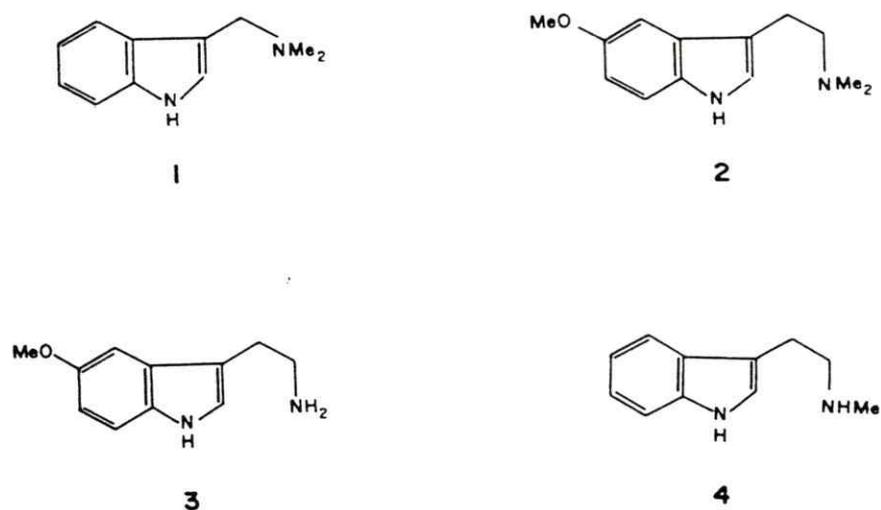


Figura 1. Alcaloides indólicos presentes en algunas gramíneas. 1=Gramina; 2=5-metoxi-N-N-dimetil-triptamina ; 3=5-metoxi-triptamina ; 4=N-metil-triptamina.

realizados por Hanson **et al.** (1983), se ha indicado que la acumulación de gramina en los tejidos por efecto de las temperaturas altas provoca toxicidad a la cebada, lo que se observó como clorosis y necrosis en los tejidos. Debido a esto y a la toxicidad hacia animales, él ha sugerido eliminar gramina de la planta. Sin embargo, gramina posee una amplia actividad biológica, incluyendo toxicidad a mamíferos y plantas. En estudios realizados anteriormente se ha correlacionado la presencia de gramina con la resistencia a algunas especies de áfidos. Se ha encontrado que concentraciones de gramina superiores a 2,3 mM en dietas artificiales provoca la muerte del 50% de los áfidos de la especie **R. maidis** (Corcuera, 1984). En ensayos realizados bajo condiciones controladas de luz y temperatura se ha encontrado que plántulas de cebada con un alto contenido de gramina presentan un menor número de áfidos de las especies **R. padi** y **S. graminum** (Zúñiga **et al.**, 1985 ; Zúñiga y Corcuera, 1986). La especie más afectada por este alcaloide fue **R. padi**, esto puede deberse a la distribución del alcaloide en los tejidos de la planta y a la conducta alimentaria de los áfidos. Al respecto, se ha informado que cerca de un tercio de la gramina total se encuentra en la epidermis superior e inferior y dos tercios en las células parenquimáticas del mesófilo. No se ha detectado su presencia en el haz vascular (Argandoña **et al.**, 1987). Al estudiar la conducta alimentaria de algunas

especies de áfidos, se encontró que la presencia de gramina en dietas artificiales y en la planta, alteraban los hábitos alimentarios de *S. graminum* y *R. padi*, observándose un mayor período de salivación y un menor tiempo de ingestión desde tejidos no floemáticos (Zúñiga *et al.*, 1988).

De acuerdo a los antecedentes presentados es que se ha asociado a gramina un rol defensivo contra los áfidos. La hipótesis de este trabajo es que la presencia de gramina en la cebada actúa como un mecanismo defensivo tanto en condiciones de laboratorio como en el campo, . Para esto se han planteado los siguientes objetivos:

1.6. **Objetivos**

1. Estudiar la conducta alimentaria de 4 especies de áfidos de los cereales en plántulas de cebada con diferentes contenidos de gramina.
2. Evaluar en condiciones de laboratorio el daño producido por cada especie de áfido sobre plántulas de cebada con diferentes contenidos de gramina.
3. Evaluar bajo condiciones de campo el rendimiento de dos cultivares de cebada frente a la infestación natural.
4. Evaluar el daño producido por la temperatura en plántulas con diferente contenido de gramina.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Cultivo de las plantas

Se sembró cebada *Hordeum distichum* (de cada cultivar) en vasos con tierra estéril, en oscuridad hasta la emergencia de las plántulas. Las condiciones de crecimiento fueron: 25 °C y fotoperíodo de 14/10 horas (luz/oscuridad) durante todo el tiempo de experimentación. Las plantas fueron regadas diariamente con agua corriente.

2.2. Extracción y cuantificación de gramina

Para la extracción de gramina se utilizó el método descrito por Barnes *et al.*, (1971). Se molió un gramo de hojas frescas congeladas en mortero de porcelana con 20 ml de una solución MeOH:NH₄ (100:1). El extracto se filtró a través de lana de vidrio y se secó haciéndole pasar aire. El residuo se disolvió en HCl 0,1 N, se filtró por papel filtro Whatman N°1 y se llevó a pH 9 con NH₃. Se extrajo dos veces con cloroformo (1:2) y la fase orgánica se secó al aire. El residuo fue usado para la cuantificación de gramina. Esta se realizó usando un método colorimétrico descrito por Ehmann (1977) para revelar alcaloides en placas cromatográficas. Se agregó 2 ml de reactivo de Ehmann al residuo y se colocó los tubos en un baño maría por 1 hora. Después se llevó a 5 ml con agua destilada y se midió la absorbancia del complejo a 550 nm (Zúñiga *et al.*, 1985).

2.3. Ensayos con dietas artificiales

Los áfidos utilizados en los ensayos pertenecen a un mismo clon, el cual se mantiene en el laboratorio de Fisiología Vegetal. El sistema usado para alimentar los áfidos en los experimentos es el descrito por Argandoña *et al.* (1983). Este consiste en colocar sobre una cápsula de vidrio, abierta por ambos extremos, una membrana de Parafilm. Sobre ella se depositan unas gotas de dieta líquida (Auclair, 1965) y luego se pone otra membrana de parafilm (Figura 2). Para cada ensayo de sobrevivencia se colocaron 10 ninfas (3er estadio) en el interior de la cápsula y se contó el número de áfidos vivos a las 24 horas. Se realizaron 5 repeticiones por cada tratamiento.

2.4. Conducta alimentaria

Se estudió la conducta alimentaria de 4 especies de áfidos de los cereales: *S. graminum*, *R. padi*, *D. noxia* y *R. maidis* en dos cultivares de cebada: Aramir y Atlas 57. Cada una con 0,1 y 3,8 mmoles de gramina/Kg de peso fresco, respectivamente.

La conducta alimentaria se midió con un monitor electrónico que consta de dos amplificadores (para hacer dos mediciones), los cuales están conectados a un registrador (Figura 3) (McLean y Kinsey, 1964). Sobre el dorso del áfido se adhirió con pintura de plata un electrodo de cobre de 50 μ m. Otro electrodo que sale del

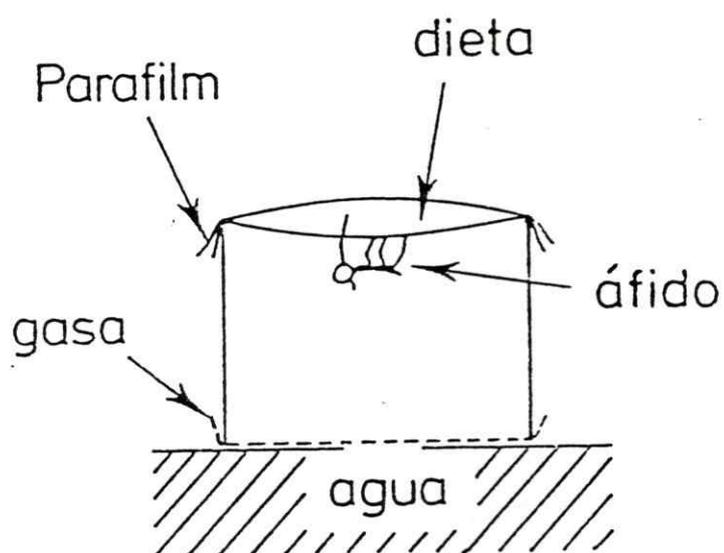


Figura 2. Sistema usado para la alimentación de los áfidos

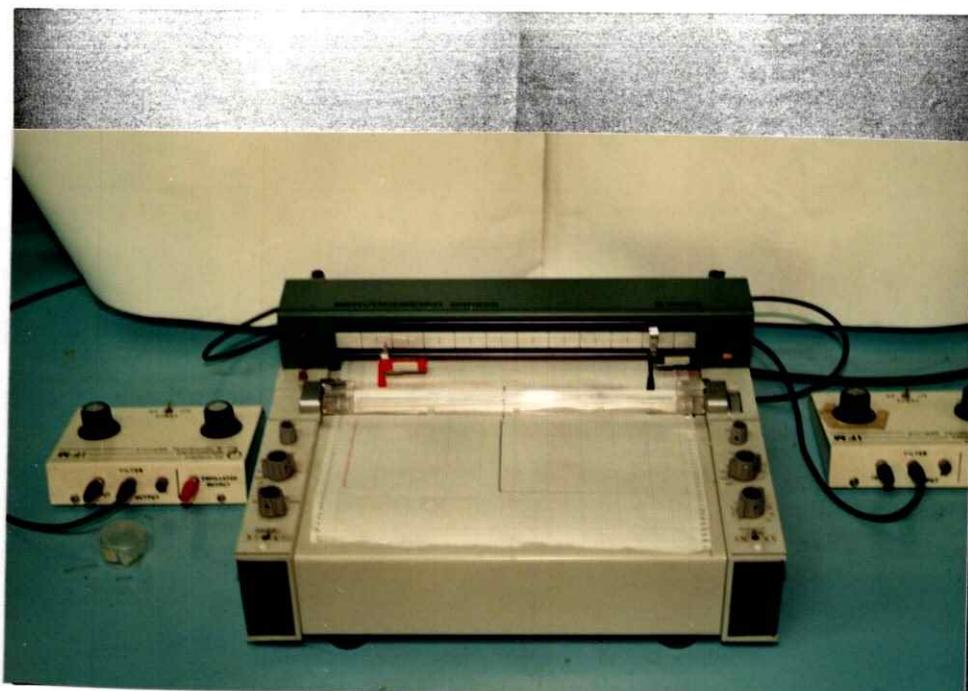


Figura 3. Instrumento para medir la conducta alimentaria de los áfidos

El sistema de monitores de alimentación consta de dos amplificadores (a izquierda y derecha) y de un registrador (al centro). Se pueden realizar dos mediciones simultáneas.

amplificador se sumergió en la solución donde se encontraba la planta (Figura 4). El áfido se colocó sobre la lámina de la hoja. Cuando el áfido prueba se cierra el circuito, produciéndose las ondas características. La conducta alimentaria se registró sobre plantas cortadas de 10 días de edad. Cada registro se realizó durante 3 horas con 10 repeticiones por cada especie de áfido y cultivar de cebada.

2.5. Ensayos de infestación artificial

Plántulas de cebada de 10 días de edad, mantenidas a 25°C y fotoperíodo de 14/10 horas (luz/oscuridad), fueron infestadas con 10 áfidos (4to estadio) por planta (Wilson, 1978). Después de 10 días se contaron los áfidos presentes.

Para el ensayo de preferencia se sembró cada cultivar de cebada en un mismo vaso con tierra estéril. Las semillas se colocaron equidistantes una de otra formando un círculo en el recipiente. A los 7 días se colocó en el centro del vaso 50 áfidos ápteros (4to estadio) y se cubrió el vaso con un plástico para evitar la salida de los pulgones. A las 24 hrs se contó el número de áfidos presentes en cada cultivar.

2.6. Parámetros de daño

Para evaluar el daño producido por los áfidos en las plantas se midió el peso seco, contenido de clorofila, potencial hídrico y asimilación fotosintética. Plántulas

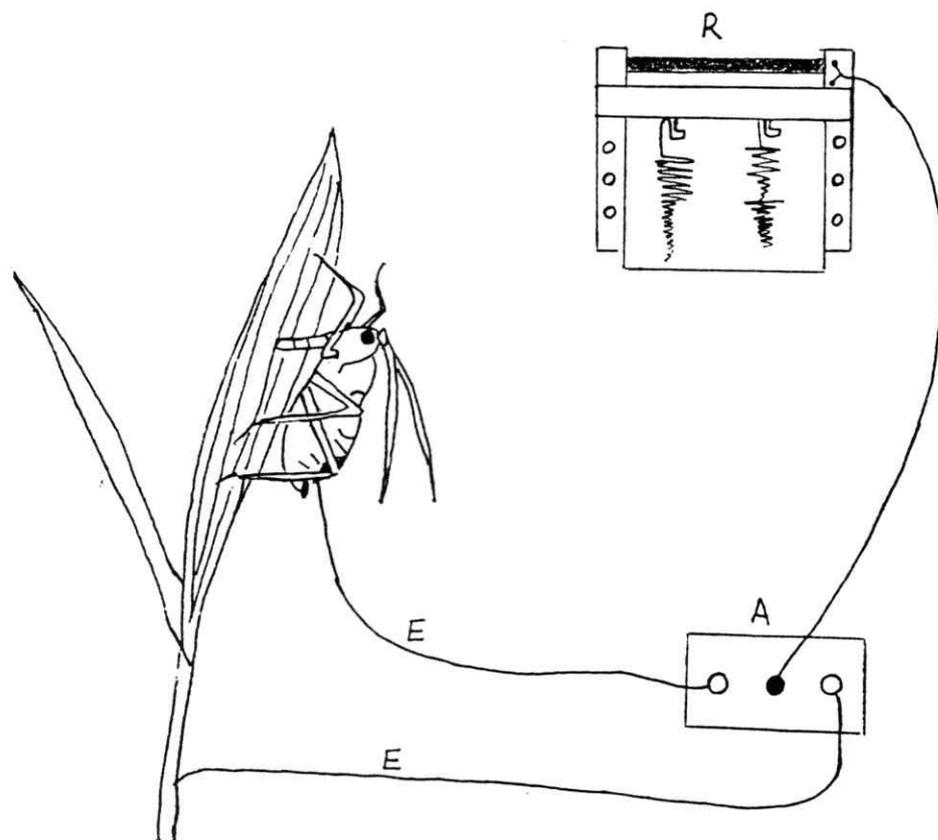


Figura 4. Montaje del sistema usado para medir la conducta alimentaria de los áfidos
A=amplificador, E=electrodos, R=registrador.

de cebada de 10 días de edad mantenidas en las condiciones de temperatura y fotoperíodo antes mencionadas, fueron infestadas con 10 áfidos ápteros (4to estadio) cada una. Después de 10 días se contaron los áfidos presentes y se midieron los parámetros de daño.

2.6.1. Medición de clorofila

La medición de clorofila se realizó según el método descrito por Arnon (1949). Se maceraron hojas frescas en un mortero de porcelana con acetona al 80 % , luego se filtró a través de papel filtro Whatman N°2 y al filtrado se le midió la absorbancia a 663 y 645 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 240 (modelo Graphic printer PR-1).

El cálculo de la concentración de clorofila (mg/lt) se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Clorofila total} = 20,2 A_{645} + 8,02 A_{663}$$

2.6.2. Potencial hídrico

La metodología para medir potenciales hídricos fue la descrita por Scholander *et al.* (1964). Plantas mantenidas en las mismas condiciones anteriores se cortaron en la base del tallo y se colocaron en una cámara de acero, la que se cerró herméticamente, dejando sólo la punta del tallo fuera de la cámara. Se hizo pasar nitrógeno hasta alcanzar una presión suficiente para que saliera la primera gota de líquido xilemático. El valor registrado en el manómetro en

forma negativa, correspondió al potencial hídrico de la planta .

Se realizaron dos experimentos adicionales: 1) medir el efecto del número de áfidos sobre el potencial hídrico de cultivares con y sin gramina, y 2) cinética del daño producido por un número determinado de pulgones. Para realizar el experimento 1, se infestaron plántulas de cebada de 10 días de edad con diferente número de áfidos iniciales (4to estadio) (2, 10 y 30 áfidos por planta). Las plantas se cubrieron con bolsas plásticas y después de 3 días se midió el potencial hídrico. El experimento 2 se realizó en condiciones similares, pero infestando sólo con 10 áfidos por planta. Se midió el potencial hídrico y el número de estomas abiertos cada 2 horas .

2.6.3. Peso seco de la planta

Plantas infestadas y no infestadas se colocaron en una estufa a 70 °C por 24 horas. Se calculó el porcentaje de disminución del peso seco de las plantas infestadas con respecto a las no infestadas o control, de acuerdo a la siguiente relación:

$$\frac{\text{Peso seco no infestada} - \text{peso seco infestada}}{\text{Peso seco no infestada}} \times 100$$

2.6.4. Asimilación fotosintética

Se siguió la metodología descrita por Hawkins et al. 1987, utilizando un analizador de gases infrarojo tipo

225/2/B. El aparato consta de dos cámaras, una de análisis y otra de referencia, además de un registrador. Antes de hacer las mediciones se calibró el instrumento con aire de concentración de CO_2 conocida (300 ppm), luego se midió la concentración de CO_2 del exterior, a fin de que las mediciones fueran diferenciales. El flujo de aire se fijó en 22,5 l/h para ambas cámaras. La temperatura de las cámaras se controló con la ayuda de un ventilador en el interior de ellas.

En la celda de análisis se colocó la planta intacta y se selló la entrada con parafilm y plasticina, a fin de evitar el flujo de aire hacia o desde la cámara. Se conectó la bomba para hacer pasar aire al interior, se agregó suficiente agua y se iluminó la cámara con una lámpara. Para evitar el calentamiento de la cámara, por efecto de la lámpara, se colocó sobre ella un vaso con agua como filtro de calor. La disminución de CO_2 en el interior de la celda se registró en ppm de CO_2 . Se calculó el área de la hoja utilizada y se obtuvo la asimilación de CO_2 por hora y por dm^2 de hoja. Para determinar el área foliar, se pesó un trozo de papel de área conocida. Luego se dibujó la hoja sobre papel, se pesó y se determinó que área le correspondía de acuerdo al peso.

Los cálculos usados para la determinación de la tasa de asimilación de CO_2 fueron los siguientes:

El flujo se obtuvo midiendo el tiempo que demora el aire en recorrer un determinado volumen:

$$J_{CO_2} = V/t \quad \text{flujo de aire (l/h)}$$

$$A = \text{área foliar (dm}^2\text{)}$$

Con estos datos se puede calcular el volumen de CO_2 asimilado por la hoja:

$$I_{CO_2} = J_{CO_2} \times \Delta CO_2$$

donde J_{CO_2} corresponde al flujo y ΔCO_2 es la lectura obtenida del aparato.

El volumen de CO_2 es 22,4 l/mol y su peso 44 g/mol, con estos datos podemos calcular su densidad

$$44 \text{ g/mol} / 22,4 \text{ l/mol} = 2 \text{ g/l} \quad \text{densidad del } CO_2 \text{ (s)}$$

luego, para determinar la masa de CO_2 acumulada en 1 hora (I') se realiza el siguiente cálculo:

$$I'_{CO_2} = I_{CO_2} \times s_{CO_2} \quad \text{masa de } CO_2 \text{ acumulado por la hoja en 1 hora}$$

al referirnos a la hoja tenemos,

$$i_{CO_2} = I'_{CO_2} / A \text{ (dm}^2\text{)} \quad \text{masa de } CO_2 \text{ asimilado por la hoja en 1 hora referido al área foliar}$$

2.7. Daño por temperatura

Se sembró cebada Aramir, Cruzat y Atlas 57 en macetas con tierra estéril. Se mantuvieron bajo condiciones controladas de luz y temperatura (25 °C y 14 hrs luz / 10 osc.) durante 10 días. Después se cambiaron a diferentes

regímenes de temperatura: 20, 30, 35 y 40 °C durante 4 días. Para evitar el estrés hídrico se regó diariamente con abundante agua. Un grupo de plántulas se mantuvo a 25 °C como control. A los 14 días se midió en cada cultivar de cebada el daño producido por la temperatura. Se utilizaron los mismos parámetros que para medir el daño por áfidos, asimilación de CO₂, potencial hídrico, contenido de clorofila, peso seco y contenido de gramina en la planta.

2.8. Ensayo de campo

Para estimar el efecto de los áfidos sobre el rendimiento de dos cultivares de cebada se realizó un ensayo en el campo. La siembra se realizó en parcelas de 1m² cada una, ubicadas en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile. Se preparó el terreno, abonándolo con salitre potásico en una cantidad equivalente a 40 Kg/ha. Se sembró cebada de los cultivares Aramir y Atlas 57 a fines de Julio, en hileras dentro de cada parcela. Se realizaron tres repeticiones por cada cultivar. Tres para el control y tres para el infestado. La distribución de los cultivares se realizó como se muestra en la Figura 5. Cada parcela se cubrió con una jaula de madera y cubierta con tela blanca para impedir la infestación natural y la perturbación del cultivo por animales e insectos. En el estado 30 de la escala de Zadoks (Zadoks et al., 1974) se retiraron las jaulas y se permitió la infestación natural.



Figura 5. **Distribución de las parcelas y jaulas en el ensayo de campo**

La primera fila de jaulas corresponde al cultivar Atlas 57, de izquierda a derecha parcelas control e infestadas. La segunda fila corresponde al cultivar Aramir. De izquierda a derecha parcelas control e infestadas.

Para evitar la infestación de las parcelas control se asperjó periódicamente con Etiofencarb en dosis de 1 ml/lt.

Se midió el contenido de gramina en las hojas presentes en el cultivo. La primera medición se realizó 14 días después de la siembra y luego cada 14 días. Las hojas se numeraron en orden de aparición, realizándose esto durante alrededor de 74 días. La separación de las hojas en el estado de encañado se realizó utilizando sólo el eje central para las mediciones de gramina.

En el estado 50 de la escala de Zadoks se determinaron las especies de áfidos presentes y su número. Esto se llevó a cabo contando el número de áfidos por eje, tomando como muestra 5 ejes por parcela. En ese momento se midió la cantidad de clorofila y el peso seco de las plantas como expresión del daño causado por los áfidos. Luego se asperjaron todas las parcelas, a fin de llevar a término el cultivo y medir su rendimiento.

Los parámetros de rendimiento usados fueron: número de espigas por planta, número de granos por espiga, peso seco total de la planta y además los indicados para verificar la calidad cervecera del grano como son peso del grano y contenido de proteína. La evaluación del número de espigas/planta y el número de granos/espiga, se realizó muestreando 25 plantas de cada parcela. Para medir el peso seco se tomaron 3 plantas completas de cada parcela y se

colocaron en una estufa a 70 °C durante 24 hrs. El peso de los granos se determinó pesando 50 semillas de cada parcela. La medición del contenido de proteína del grano se obtuvo por el método colorimétrico de Bradford. Se pulverizó 1 gr de semillas (por parcela) con hielo seco en un molinillo, luego el polvo se disolvió en buffer fosfato pH 7,2 , se tomó una alícuota de 0,1 ml la cual se hizo reaccionar con 5 ml de reactivo Bradford. Después de 2 min se midió la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 240 (Bradford, 1976).

3. RESULTADOS

3.1.- Efecto de la gramina en la sobrevivencia de 4 especies de áfidos.

Para determinar el efecto de gramina en la sobrevivencia de los áfidos, se incorporó este compuesto a dietas artificiales en distintas concentraciones. Se evaluó la sobrevivencia contando el número de áfidos vivos a las 24 horas. La sobrevivencia de las 4 especies de áfidos estudiadas disminuyó al aumentar el contenido de gramina en la dieta artificial. *D. noxia* fue el áfido menos afectado presentando un 50% de sobrevivencia en dietas con 5,5 mM de gramina (Figura 6). El áfido más sensible a gramina fue *R. padi* con un 50% de sobrevivencia en dietas con 1,5 mM de gramina. *R. maidis* y *S. graminum* presentaron una sobrevivencia similar y levemente superior a *R. padi*.

3.2.- Efecto de gramina sobre la tasa de crecimiento poblacional y preferencia de algunos áfidos de los cereales..

El cultivar que presentó la mayor tasa de crecimiento poblacional para todas las especies de áfidos estudiadas fue Aramir (0,1 mmol de gramina por Kg de peso fresco). El cultivar Atlas 57, que posee el mayor contenido de gramina (3,8 mmol de gramina por Kg de peso fresco), fue el menos adecuado para los áfidos, observándose esto en las bajas tasas de crecimiento poblacional encontradas (Figura 7).

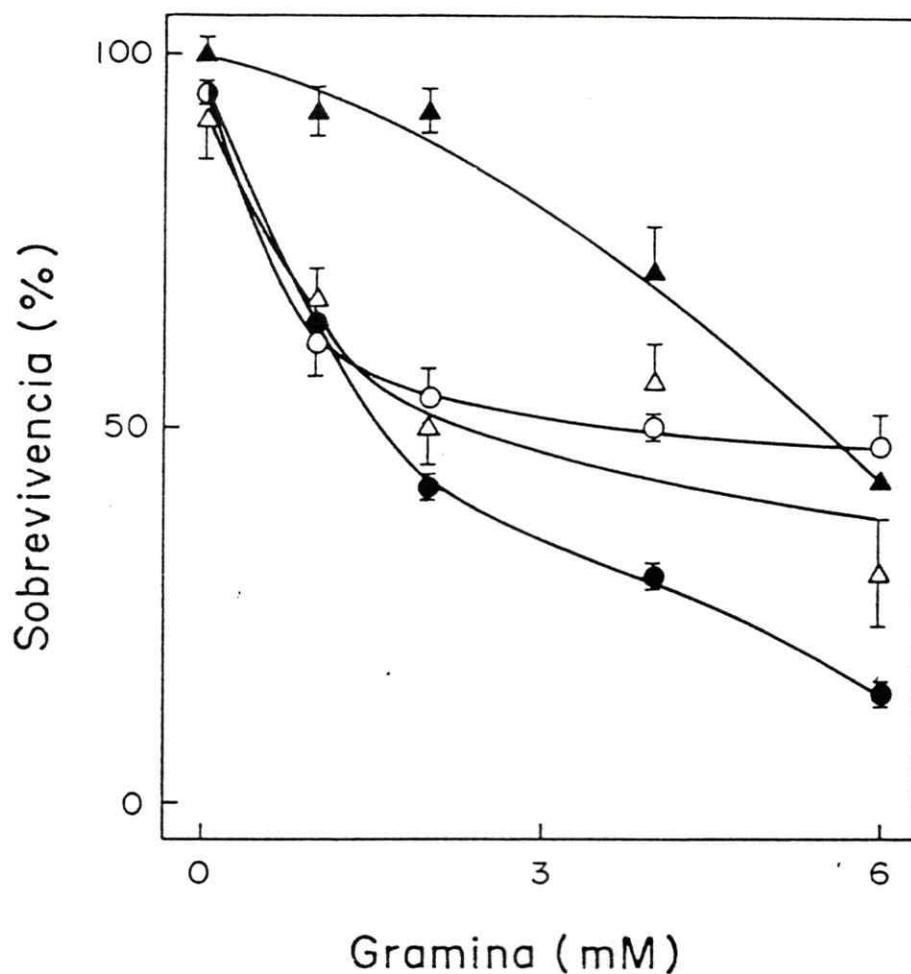


Figura 6. Efecto de gramina sobre la sobrevivencia de áfidos alimentados en dietas artificiales. Se incorporó diferentes cantidades de gramina en la dieta artificial y se midió la sobrevivencia de los áfidos a las 24 hrs. Cada valor representa el promedio de 5 repeticiones de 10 áfidos cada una. Las barras verticales corresponden al error estándar. \blacktriangle = *D. noxia*; \triangle = *R. maidis*; \bullet = *R. padi*; \circ = *S. graminum*.

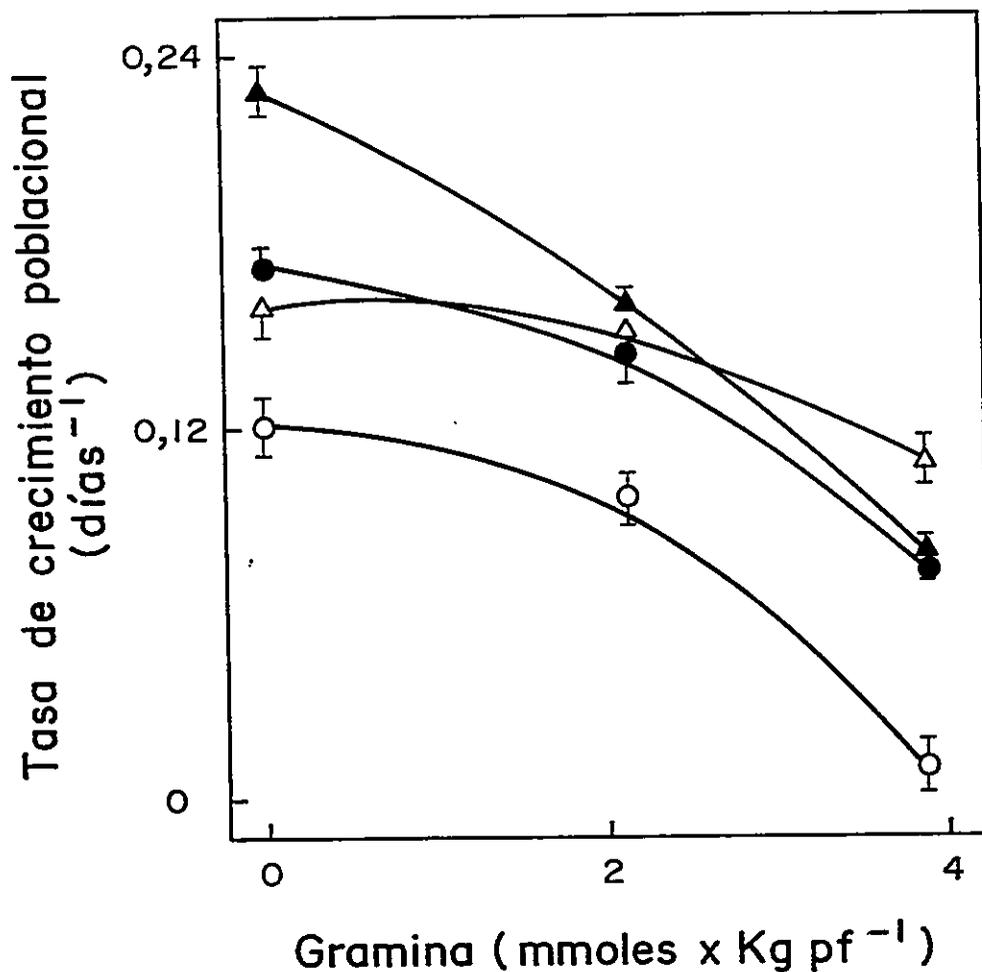


Figura 7.

Susceptibilidad de la cebada a los áfidos

Se midió la tasa de crecimiento poblacional de 4 especies de áfidos en plántulas de cebada con diferentes niveles de gramina (Aramir=0,1; Cruzat=2,1; Atlas 57=3,8 mmol/Kg pf). Cada valor representa el promedio de 3 repeticiones \pm e.e. ○ - *S. graminum*; ● = *R. padi*; ▲ = *D. noxia*; △ = *R. maidis*.

Todas las especies de áfidos estudiadas disminuyeron sus poblaciones de áfidos en los cultivares con gramina. Los áfidos más afectados por el aumento de gramina en la planta fueron *D. noxia* , *S. graminum* y *R. padi*. La tasa de crecimiento poblacional de *R. maidis* fue la menos alterada.

Se evaluó la preferencia de las 4 especies de áfidos frente a tres cultivares de cebada con diferentes contenidos de gramina. Sólo *S. graminum* mostró preferencia por la cebada Aramir, encontrándose en ésta el 47% de los áfidos totales (test de t, $P < 0,05$). No se observó ninguna relación entre preferencia y contenido de gramina de la cebada con los áfidos *R. padi*, *D. noxia* y *R. maidis* (Figura 8).

3.3.- Efecto de gramina en la conducta alimentaria de 4 especies de áfidos de los cereales

Los registros de la Figura 9 muestran las ondas características obtenidas con el monitor electrónico. Se obtuvo diferentes patrones de conducta alimentaria, dependiendo del cultivar y de la especie de áfido en estudio. *R. padi* fue uno de los áfidos que presentó la mayor variación en su patrón alimentario frente a plantas con gramina. En el cultivar Aramir se alimentó 59,7 minutos desde tejidos no floemáticos y sólo 11,3 minutos desde el floema. En la cebada Atlas 57, sin embargo, disminuyó casi 5 veces la ingestión desde tejidos no floemáticos,

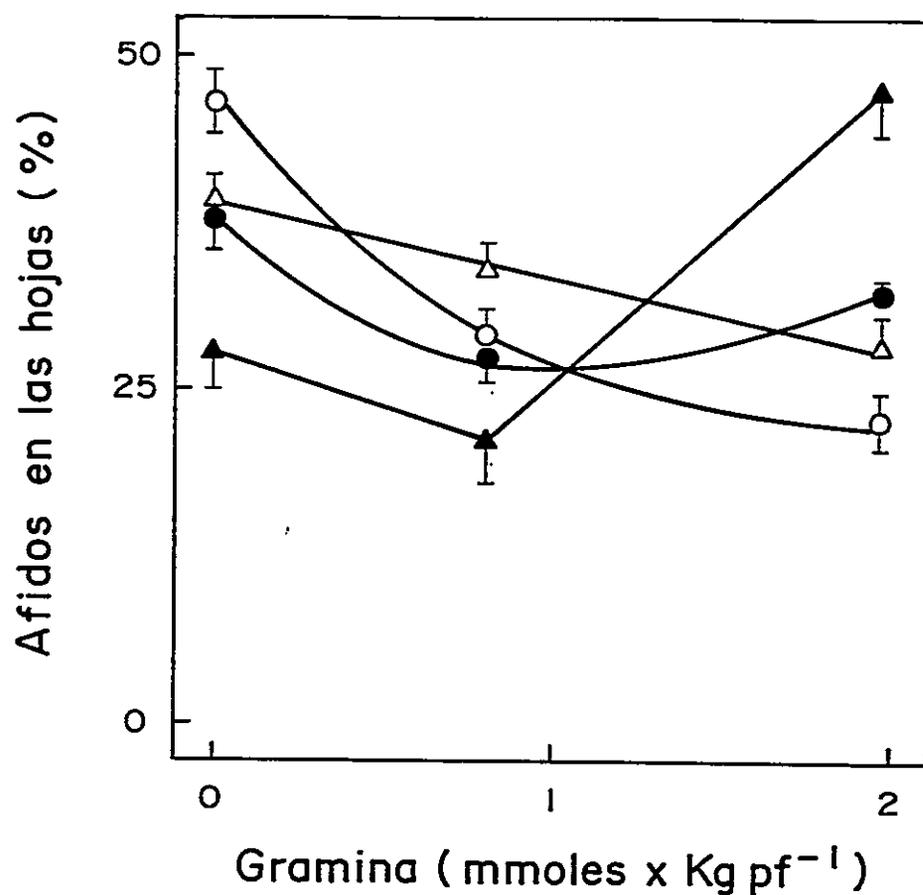


Figura 8.

Ensayo de preferencia

Se evaluó la preferencia de 4 especies de áfidos frente a 3 cultivares de cebada con diferente contenido de gramina (Aramir=0,1; 177=0,8; Cruzat=2,1 mmol/Kg pf). Cada valor representa el promedio de 4 repeticiones \pm e.e.

▲ = *D. noxia*; △ = *R. maidis*; ○ = *S. graminum*;
● = *R. padi*.

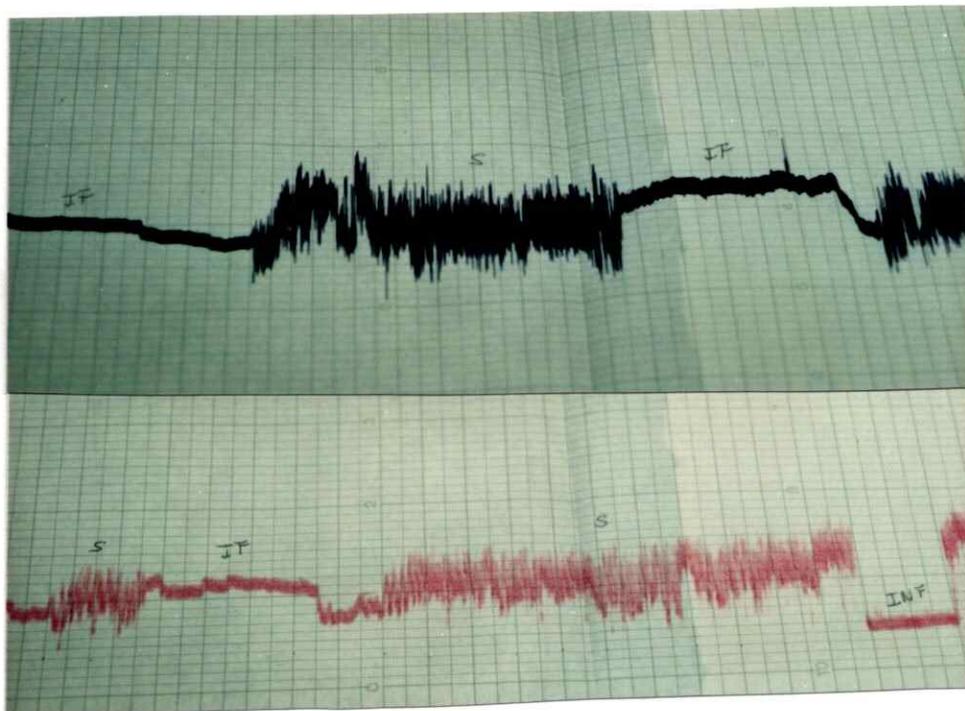


Figura 9. Registro característico de ondas obtenidas en plantas con el monitor de alimentación. Patrón de ondas obtenidas con ninfas de *S. graminum* (4to estadio) sobre hojas de cebada cv Aramir. S=salivación; IF=ingestión floemática; INF=ingestión no floemática.

triplicando el tiempo de ingestión floemática. **R. maidis** se alimentó más desde el floema en la variedad sin gramina, no encontrándose diferencias significativas en los tiempos de ingestión frente a ambos cultivares. **D. noxia** y **S. graminum**, presentaron una conducta alimentaria similar, alimentándose principalmente desde el floema en plantas sin gramina. Sin embargo, la respuesta de ambas especies frente a plantas con gramina fue diferente. En el cultivar Atlas 57, **D. noxia** disminuyó el tiempo de ingestión desde tejidos no floemáticos. **S. graminum** disminuyó el tiempo de ingestión floemática y no floemática.

Al estudiar la conducta alimentaria de los áfidos frente a plantas con gramina, se detectó otro tipo de onda que fue interpretada como ondas no floemáticas (ONF) (Figura 10). Estas ondas no correspondían con las anteriormente descritas, por lo cual se las asoció a una actividad de búsqueda dentro del tejido. Todos los áfidos incrementaron el tiempo de ondas no floemáticas frente al cultivar Atlas 57 (prueba de t, $P < 0,05$), siendo **D. noxia** el que registró el menor tiempo asociado a ellas (Tablas 1 y 2). El registro definido como onda de no ingestión, corresponde a cualquier actividad realizada por el áfido sin contactar con el sustrato (desplazamientos, movimientos, etc.), el cual se asocia a la línea base del registro.

El tiempo de no ingestión fue diferente en ambos cultivares con casi todas las especies de áfidos

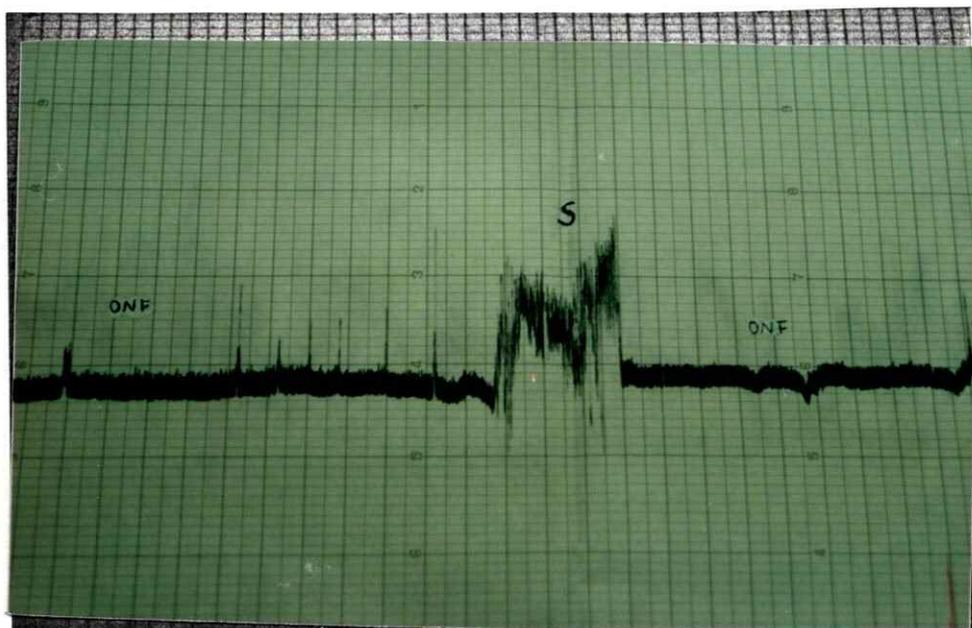


Figura 10. Registro de ondas obtenidas en plantas con gramina.
Ondas obtenidas con ninfas de *S. graminum* sobre hojas de cebada cv Atlas 57. S=salivación; ONF=ondas no floemáticas.

Tabla 1. Conducta alimentaria de *R. padi* y *R. maidis* en dos cultivares de cebada

Afido/Cultivar	S	IF	INF	ONF	NI
	(minutos)				
<i>R. padi</i>					
Aramir	77,4*	11,3*	59,7*	0*	30,8*
Atlas 57	43,9	35,8	10	37,8	52
<i>R. maidis</i>					
Aramir	81	38	19	10*	32*
Atlas 57	75,4	25	14,5	56,9	7,6

Se registró la conducta alimentaria de áfidos adultos ápteros en dos cultivares de cebada, Aramir y Atlas 57 (0,1 y 3,8 mmoles/Kg pf de gramina) durante 3 horas. Los valores representan el promedio de 10 repeticiones. S=salivación, IF=ingestión floemática, INF=ingestión no floemática, ONF=ondas no floemáticas, NI=no ingestión. Los valores seguidos de un asterisco presentan diferencias significativas entre filas (prueba de t, $P < 0.05$).

TABLA 2. Conducta alimentaria de *S. graminum* y *D. noxia* en dos cultivares de cebada

Afido/Cultivar	S	IF	INF	ONF	NI
	(minutos)				
<i>S. graminum</i>					
Aramir	67,0	55*	23*	0*	35,5
Atlas 57	65,7	34	1,8	44	35,0
<i>D. noxia</i>					
Aramir	65,8	47	32,0*	2,7*	32,4*
Atlas 57	57,0	44	2,6	19,4	57

Se registró la conducta alimentaria de áfidos adultos ápteros en dos cultivares de cebada Aramir y Atlas 57 (0,1 y 3,8 mmoles/Kg pf de gramina), durante 3 horas. Los valores corresponden a un promedio de 10 repeticiones.

S=salivación, IF=ingestión floemática, INF=ingestión no floemática, ONF=ondas no floemáticas, NI=no ingestión. Los valores seguidos de un asterisco presentan diferencias significativas entre filas (prueba de t, $P < 0.05$).

estudiadas. *R. padi* y *D. noxia* presentaron un mayor tiempo de no ingestión en el cultivar Atlas 57, al contrario de *R. maidis* que presentó una disminución de esta onda. *S. graminum* no mostró diferencias significativas en el tiempo de no ingestión frente al cultivar con gramina (prueba de t , $P > 0,05$).

Otra forma de evaluar si la presencia de un compuesto altera la conducta alimentaria de los áfidos, es medir el número de veces que el áfido prueba el tejido, es decir contar el número de penetraciones realizadas en la planta. Se encontró que *S. graminum* y *R. maidis* disminuyeron las pruebas en el cultivar Atlas 57. *D. noxia* y *R. padi* no presentaron diferencias significativas en el número de pruebas realizadas en ambos cultivares (Prueba de t , $P > 0,05$) (Tabla 3).

3.4.- Evaluación del daño producido por cada especie de áfido en variedades de cebada con diferente contenido de gramina

3.4.1. Contenido de clorofila

Las plantas infestadas presentaron menores niveles de clorofila que los controles, a excepción del cultivar Atlas 57 infestado con *R. maidis* y con *R. padi*, en los cuales no hubo cambios en el contenido de clorofila de las plantas. Cada especie de áfido produjo un nivel de daño diferente, siendo *S. graminum* el que provocó la mayor pérdida de clorofila en todos los cultivares usados. Este áfido

Tabla 3. Número de penetraciones en el tejido realizadas por 4 especies de áfidos en plantas con diferente contenido de gramina

Especie	Número de penetraciones	
	Aramir	Atlas 57
S. graminum	5,0 ± 0,66*	3,0 ± 0,61
R. maidis	3,9 ± 0,77*	1,5 ± 0,34
R. padi	3,0 ± 0,51	4,2 ± 1,0
D. noxia	3,2 ± 0,98	4,1 ± 0,97

Se registró la conducta alimentaria de áfidos adultos ápteros durante 3 horas, sobre plántulas de cebada de 7 días. De los registros se obtuvo el número de penetraciones al tejido realizado por cada especie de áfido. Los valores obtenidos corresponden al promedio de 10 repeticiones ± DS. Los valores seguidos por un asterisco representan diferencias significativas entre columnas (prueba de t, $P < 0,05$).

produjo una pérdida de clorofila de 63% en la variedad Aramir y de 37% en la variedad Atlas 57 (Tabla 4). Se encontró que, al aumentar el contenido de gramina en la planta, la pérdida de clorofila asociada a los áfidos fue significativamente menor (Prueba de t, $P < 0,05$). Sin embargo frente al cultivar Cruzat, el cual posee un contenido de gramina intermedio, el daño provocado por los áfidos **R. padi** y **R. maidis** fue mayor que el medido en la variedad Aramir.

Al calcular el daño producido por 1 áfido, se obtuvo que la mayor pérdida de clorofila se verificó con el áfido **S. graminum**. Se encontró que al aumentar el contenido de gramina en la planta la pérdida de clorofila ocasionada por esta especie fue menor (Figura 11).

3.4.2. Asimilación de CO_2

Los valores de asimilación de CO_2 obtenidos, fueron diferentes frente a cada especie de áfido estudiado y menores que en los controles no infestados. Se encontró que la disminución de la asimilación de CO_2 fue similar en los tres cultivares de cebada frente a **S. graminum**, **D. noxia** y **R. padi**. La única especie que provocó una mayor disminución de la asimilación de CO_2 con el aumento de gramina en la planta fue **R. maidis** (Prueba de t, $P < 0,05$) (Tabla 5).

El áfido más dañino medido con este parámetro fue **S. graminum**, el cual produjo una disminución de la asimilación

Tabla 4. Disminución del contenido de clorofila producido por áfidos en cebada.

Disminución de clorofila (% control)

Especie	Aramir	Cruzat	Atlas 57
S. graminum	63a	68a	37b
D. noxia	26a	25a	9b
R. maidis	9a	31b	0a
R. padi	9a	29b	0a

El porcentaje de disminución de clorofila se calculó con respecto al control no infestado (Aramir= 1,47 mg/g ; Cruzat=2,0 m/g; Atlas 57=1,0 mg/g). Los datos representan el promedio de tres repeticiones. Los valores seguidos por letras diferentes presentan diferencias significativas entre cultivares (prueba de t, $P < 0,05$).

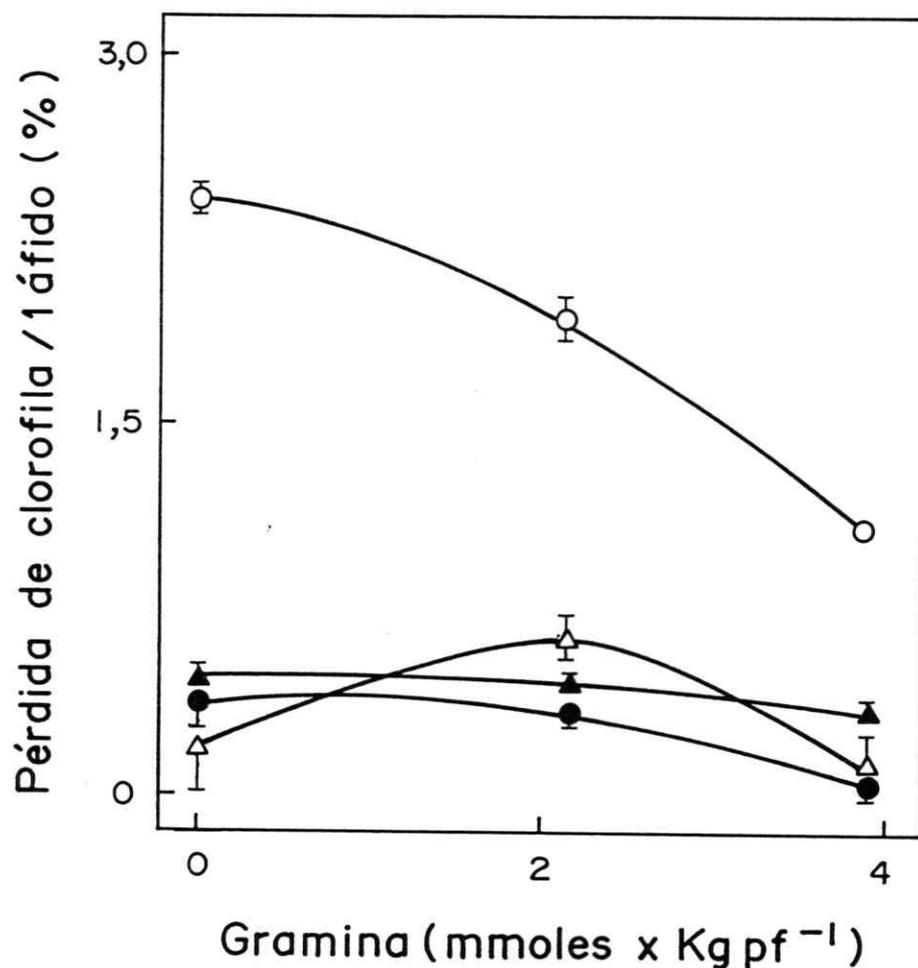


Figura 11. Pérdida de clorofila ocasionada por cada especie de áfido .

Se evaluó la pérdida de clorofila ocasionada por cada especie de áfido en tres cultivares de cebada (Aramir=0,1; Cruzat=2,1; Atlas 57=3,8 mmol/Kg pf). Los valores representan el promedio de 3 repeticiones \pm e.e. \blacktriangle = D. noxia; \triangle =R. maidis; \circ = S. graminum; \bullet =R. padi.

Tabla 5. Disminución de la asimilación de CO₂ producido por áfidos en cebada.

Disminución de la asimilación de CO₂
(% control)

Especie	Aramir	Cruzat	Atlas 57
S. graminum	70a	80a	66a
D. noxia	51a	60a	64a
R. maidis	7a	45b	51b
R. padi	38a	40a	35a

Los datos se expresan como porcentaje de disminución de la asimilación de CO₂ respecto al control no infestado (Aramir=4,8 mg/h/dm² ; Cruzat=5,0 mg/h/dm²; Atlas 57 =4,8 mg/h/dm²). Los datos representan el promedio de 3 repeticiones. Los valores seguidos de letras diferentes presentan diferencias significativas entre cultivares (prueba de t, P<0,05).

de CO₂ del 70% en la variedad Aramir y del 66% en la variedad Atlas 57.

3.4.3. Potenciales hídricos

Las plantas infestadas presentaron menores potenciales hídricos que sus controles no infestados. Se encontró que cada especie de áfido produjo un nivel de daño diferente en los distintos cultivares de cebada utilizados. Plantas con gramina presentaron menores disminuciones en el potencial hídrico frente a las especies **D. noxia** y **R. maidis** (Prueba de t, $P < 0,05$) (Tabla 6). **R. padi** fue el áfido que produjo los menores daños, no encontrándose diferencias significativas entre los potenciales hídricos de los cultivares utilizados (Prueba de t, $P > 0,05$). **S. graminum** resultó, de acuerdo a este parámetro, el áfido más dañino, provocando una disminución del potencial hídrico de un 107% en la variedad sin gramina y de un 95% en el cultivar Atlas 57.

Con el fin de determinar que población de áfidos provoca déficit hídrico en cebada con y sin gramina, se infestaron plántulas de cebada de 10 días con diferentes cantidades de áfidos iniciales. Después de 3 días se midió el potencial hídrico de las plantas. En la cebada Aramir se encontró que la disminución del potencial hídrico fue proporcional al número de individuos sobre la planta, encontrándose disminuciones del potencial hídrico con poblaciones

Tabla 6. Disminución del potencial hídrico producido por áfidos en cebada.

Disminución del potencial hídrico
(% control)

Especie	Aramir	Cruzat	Atlas 57
S. graminum	107a	110a	95a
D. noxia	87a	70a	55b
R. maidis	65a	59a	31b
R. padi	39a	40a	24b

El porcentaje de disminución del potencial hídrico se calculó con respecto al control no infestado (Tensión xilemática de Aramir = - 4,1 bar ; Cruzat= -4,1 bar ; Atlas 57 = - 4,5 bar) . Los datos representan el promedio de 5 repeticiones. Los valores seguidos por letras diferentes presentan diferencias significativas entre cultivares (prueba de t, $P < 0,05$).

superiores a 40 áfidos (Prueba de t, $P < 0,05$) (Figura 12). En la cebada Cruzat, se encontró una disminución significativa del potencial hídrico con 8,5 áfidos (Prueba de t, $P < 0,01$), disminuyendo gradualmente con el incremento poblacional. Si bien se encontró una disminución del potencial con un menor número de áfidos, los potenciales encontrados en la cebada Aramir fueron mucho menores que los de la cebada Cruzat.

Para determinar el tiempo requerido por los áfidos para provocar déficit hídrico en las plantas, se realizó una cinética del efecto de la infestación con *S. graminum*. Se colocó 10 áfidos por planta y se midió cada 2 horas el potencial hídrico y el número de estomas abiertos, como indicadores del déficit hídrico. Se encontró que 6 horas después de infestadas las plantas, estas presentaron un menor número de estomas abiertos y una disminución significativa del potencial hídrico (Prueba de t, $P < 0,05$) (Tabla 7).

3.4.4. **Peso seco**

La disminución en el peso seco producido por cada especie de áfido fue diferente, siendo *S. graminum* el áfido más dañino para todos los cultivares. No se encontró relación entre el contenido de gramina y la pérdida de peso ocasionada por los áfidos *S. graminum* y *R. maidis* (Tabla 8). Sin embargo, las infestaciones con *R. padi* y *D. noxia*

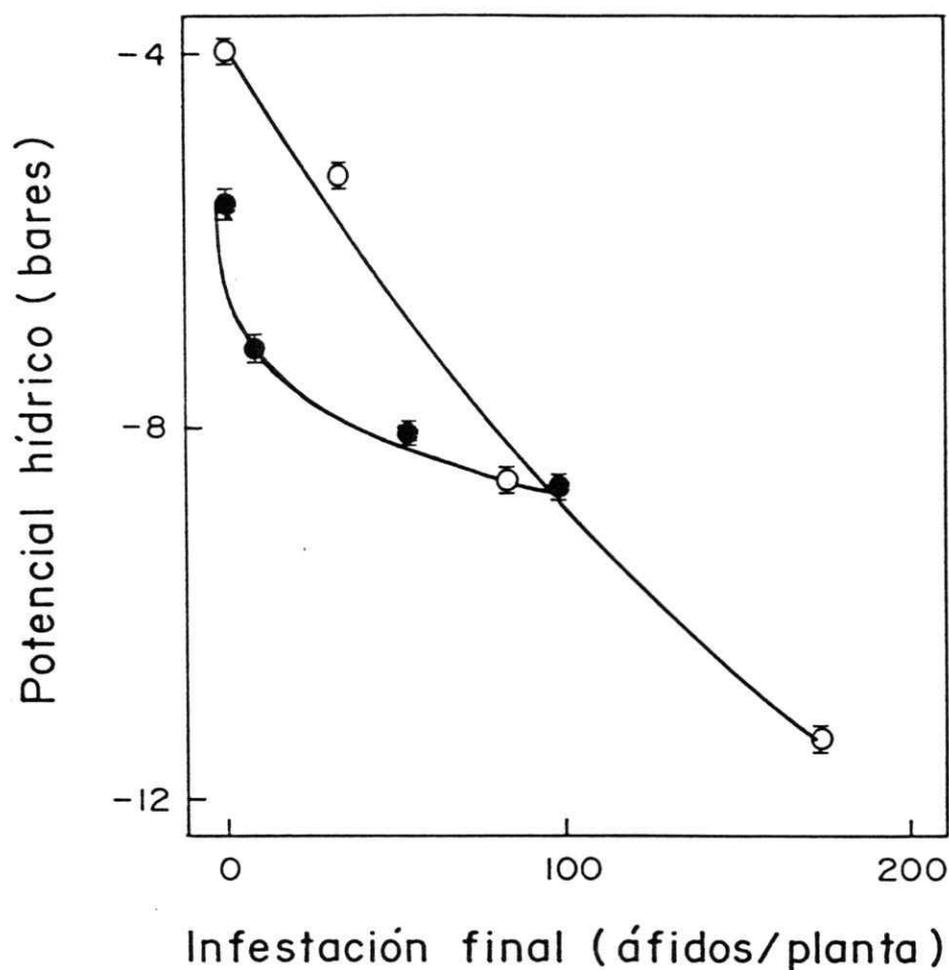


Figura 12. Efecto del número de áfidos sobre el potencial hídrico.

Se midió la variación del potencial hídrico de 2 cultivares de cebada con diferente contenido de gramina (Aramir y Cruzat) frente al áfido *S. graminum*. Cada valor representa el promedio de 4 repeticiones \pm e.e. ○=Aramir; ●=Cruzat.

Tabla 7. Cinética de la variación del potencial hídrico y de la apertura estomática en cebada sin gramina infestada con *S. graminum*.

Tiempo (hrs)	Potencial hídrico (bares)	Estomas abiertos (%)
0	- 4,3 ± 0,2	65 ± 1,9
2	- 4,5 ± 0,4	68 ± 4,5
4	- 4,7 ± 0,2	60 ± 3,7
6	- 5,2 ± 0,5	44 ± 5,0
8	- 7,6 ± 0,4	36 ± 3,2

Plántulas de cebada cv Aramir de 10 días, fueron infestadas con 10 ninfas de *Schizaphis graminum* por planta. Cada 2 horas se midió el potencial hídrico y el número de estomas abiertos. Cada valor representa el promedio de 3 repeticiones ± el error estándar.

Tabla 8. Disminución del peso seco de la planta producido por áfidos en cebada.

Disminución del peso seco de la planta (% control)			
Especie	Aramir	Cruzat	Atlas 57
S. graminum	45a	40a	34a
D. noxia	45a	15b	8b
R. maidis	32a	24a	17a
R. padi	0a	38b	41b

El porcentaje de disminución del peso seco se calculó con respecto a los controles no infestados (Aramir = 0,022 g ; Cruzat= 0,021 g ; Atlas 57 = 0,024 g). Los datos representan el promedio de 3 repeticiones. Los valores seguidos por letras diferentes presentan diferencias significativas entre cultivares (prueba de t, $P < 0,05$).

mostraron algunas tendencias. Se observó una mayor pérdida de peso seco en las plantas infestadas con *R. padi* al aumentar el contenido de gramina en ellas. Al contrario, plantas con gramina infestadas con *D. noxia*, presentaron menores pérdidas en su peso seco que aquellas plantas sin gramina (Prueba de t, $P < 0,05$).

3.5.- Daño producido por la temperatura en cultivares de cebada con diferente contenido de gramina.

Se midió el contenido de gramina en los 3 cultivares de cebada utilizados, durante cada tratamiento de temperatura. Aramir no presentó variación en la concentración de este metabolito con los diferentes tratamientos. Los cultivares Cruzat y Atlas 57 mostraron un incremento en el contenido de gramina al aumentar la temperatura, alcanzando un valor máximo de 4,2 mmoles /Kg pf a los 40°C en el cultivar Atlas 57 (Figura 13). Las plántulas bajo estas condiciones mostraban necrosis sólo en algunos ápices foliares.

La evaluación del daño se realizó utilizando los parámetros usados anteriormente. No se encontró diferencias significativas en el peso seco de la cebada Cruzat frente a los distintos tratamientos de temperatura (Prueba de t, $P > 0,05$) (Figura 14). Sin embargo, en los cultivares Aramir y Atlas 57 se observó una disminución del peso seco a temperaturas superiores a 35 °C.

Con respecto al contenido de clorofila, este presentó

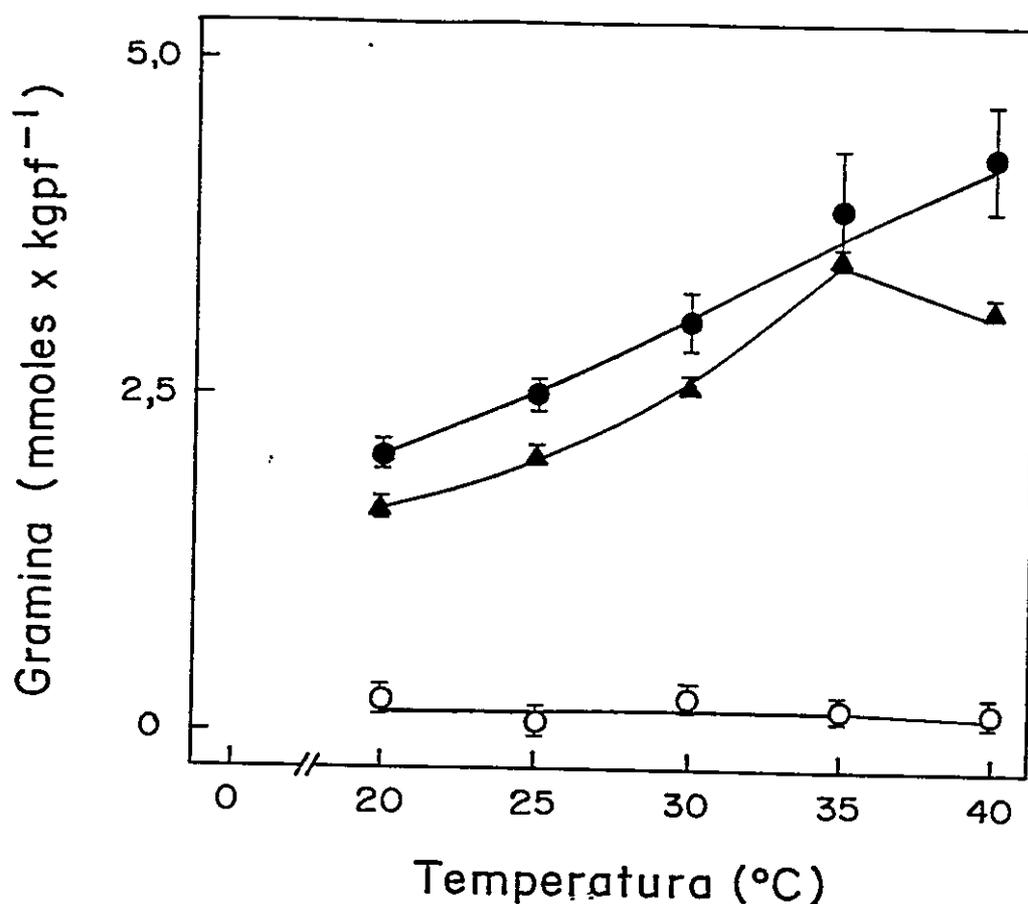


Figura 13. Efecto de la temperatura sobre el contenido de gramina en cebada

Se midió la variación del contenido de gramina por efecto de la temperatura en 3 cultivares de cebada con diferente contenido de gramina. Cada valor representa el promedio de 3 repeticiones \pm e.e. o = Aramir; \blacktriangle = Cruzat; \bullet = Atlas 57.

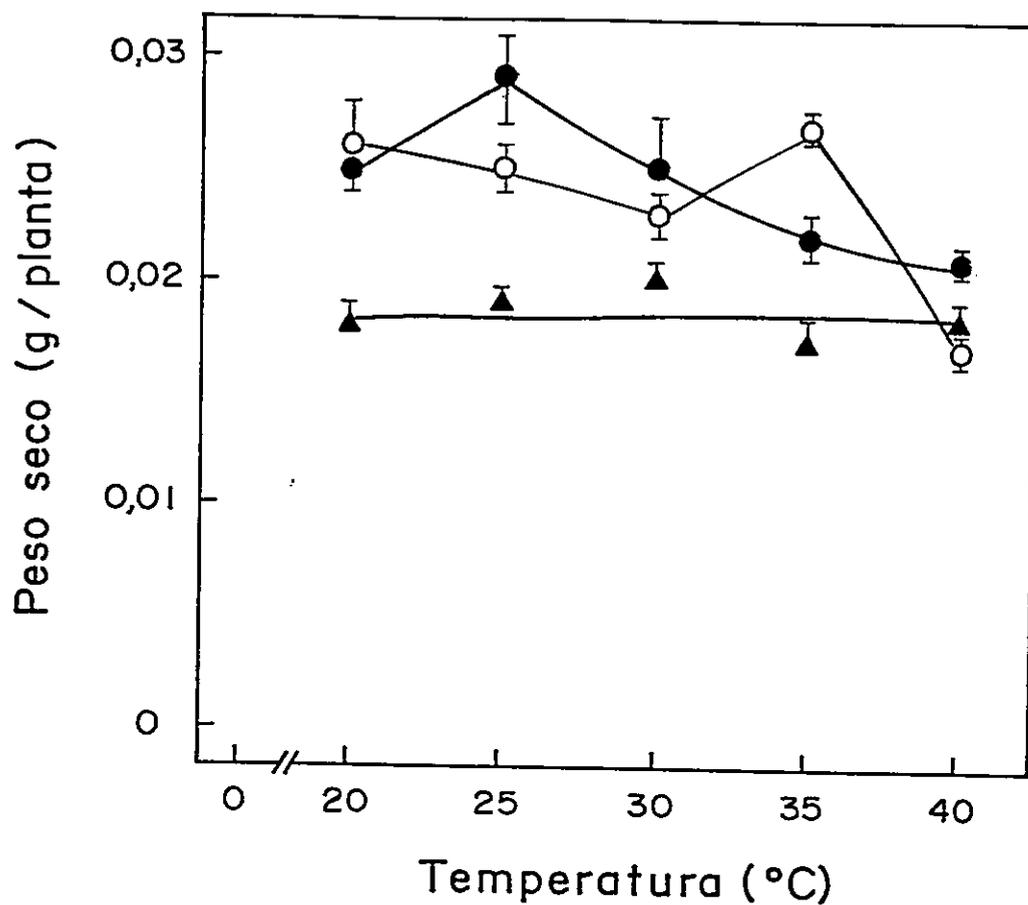


Figura 14. Efecto de la temperatura sobre el peso seco de tres cultivares de cebada

Se midió la variación del peso seco de tres cultivares de cebada con diferente contenido de gramina por efecto de la temperatura. Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones \pm e.e. o = Aramir; \blacktriangle = Cruzat; \bullet = Atlas 57.

sus menores valores a los 20°C en los cultivares Aramir y Cruzat. En la cebada Atlas 57 no se observó diferencias significativas en el contenido de clorofila de las plantas durante los diferentes regímenes de temperatura (Figura 15).

La asimilación de CO₂ presentó en todos los cultivares un valor máximo a 25 °C, temperatura a la cual crece habitualmente la cebada. Por sobre esa temperatura, se observó una menor capacidad fotosintética en todos los cultivares. La cebada Cruzat presentó los mayores valores de asimilación de CO₂ en casi todas las temperaturas (Figura 16).

El potencial hídrico disminuyó en todos los cultivares al aumentar la temperatura, siendo nuevamente Cruzat, la que presentó los mayores potenciales hídricos cuando las temperaturas fueron más elevadas (Figura 17).

3.6.- Efecto de gramina en la susceptibilidad de un cultivo a los áfidos

El mayor contenido de gramina fue de 1,7 mmol/Kg pf y se registró en la primera hoja a los 14 días. La concentración de este compuesto disminuyó al aumentar la edad de la planta en todas las hojas estudiadas (Figura 18).

Aramir presentó un grado de infestación y daño superior con respecto a Atlas 57 (Figura 19). Se encontró que la especie predominante en las parcelas de Aramir fue *R. padi*,

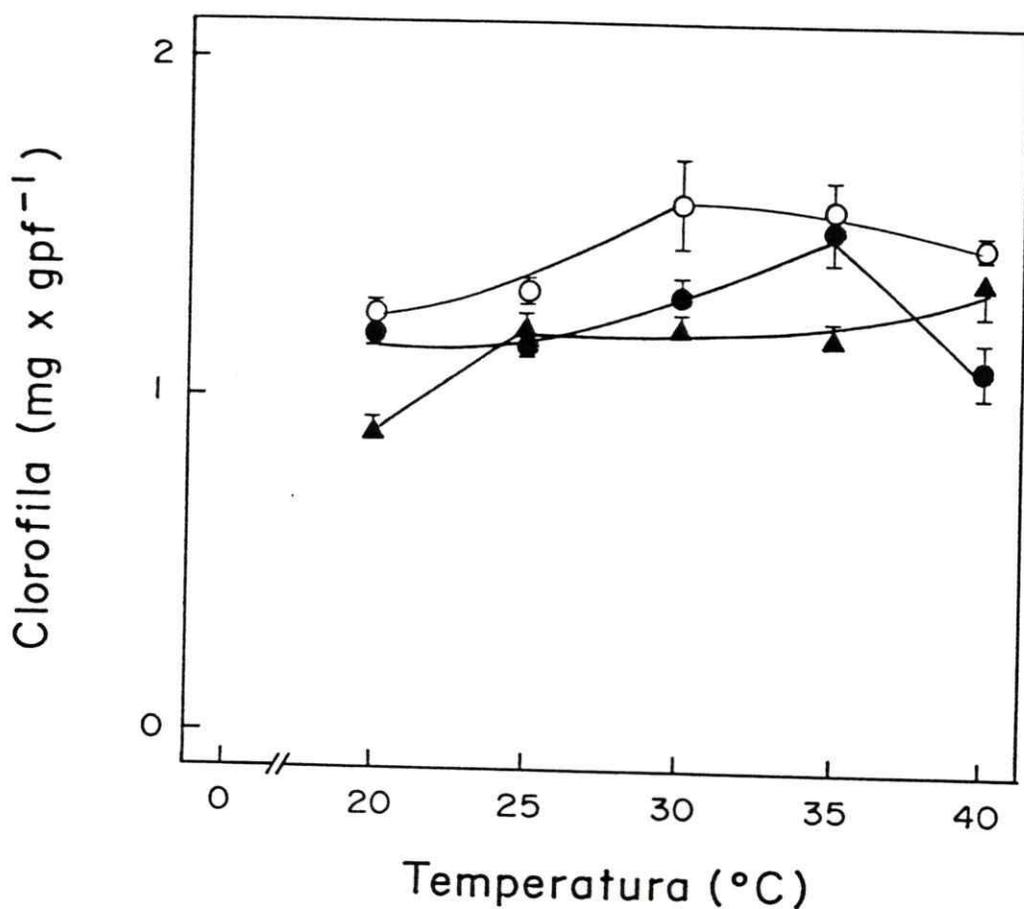


Figura 15. Efecto de la temperatura sobre el contenido de clorofila en cebada.

Se midió la variación del contenido de clorofila por efecto de la temperatura en 3 cultivares de cebada con diferente contenido de gramina. Cada valor representa el promedio de 3 repeticiones \pm e.e. o =Aramir; \blacktriangle =Cruzat; \bullet =Atlas 57.

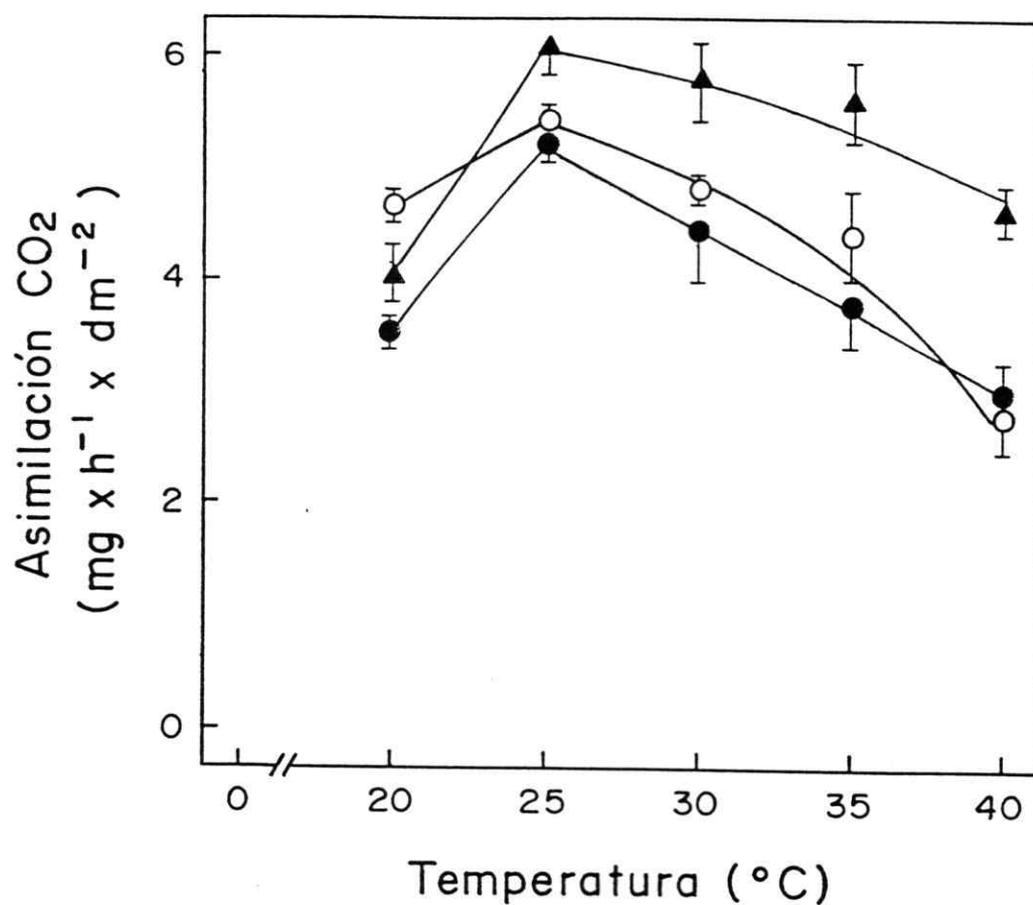


Figura 16. **Efecto de la temperatura sobre la asimilación de CO₂ en cebada**

Se midió la variación de la asimilación de CO₂ por efecto de la temperatura en 3 cultivares de cebada con diferente contenido de gramina. Cada valor representa el promedio de 4 repeticiones \pm e.e. o = Aramir; ▲ = Cruzat; ● = Atlas 57.

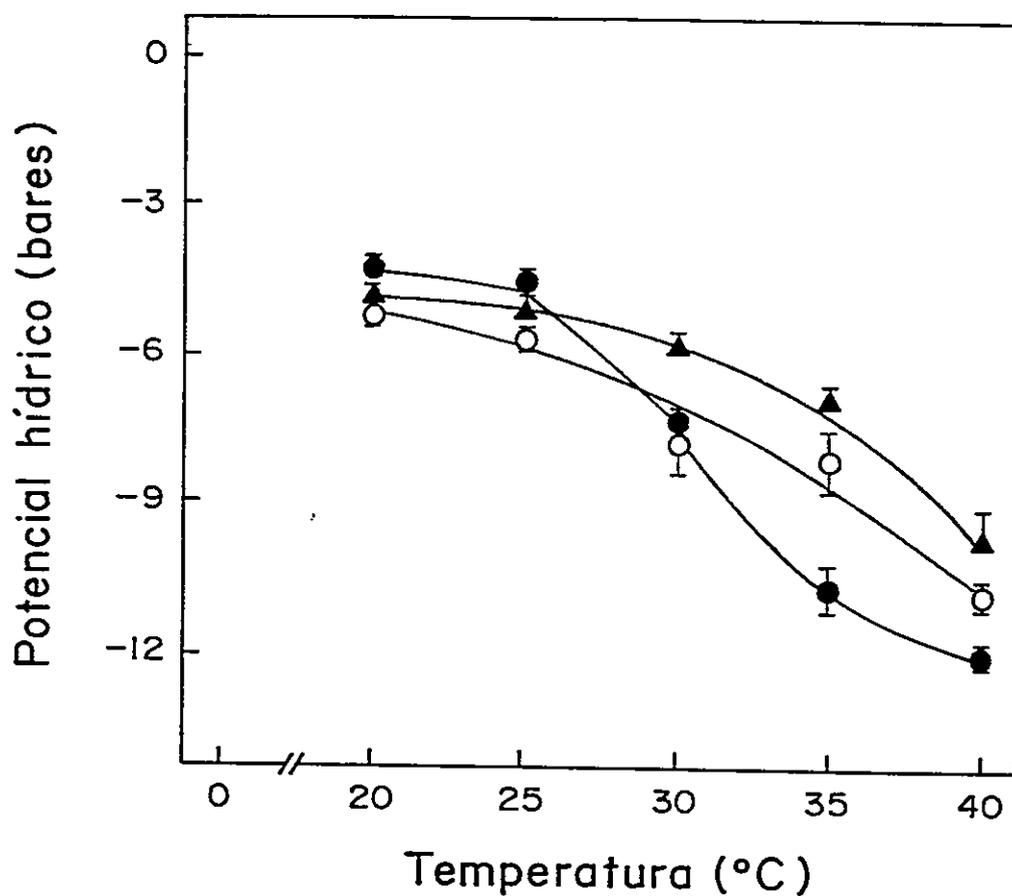


Figura 17. Efecto de la temperatura sobre el potencial hídrico en plántulas de cebada. Se midió la variación del potencial hídrico por efecto de la temperatura en 3 cultivares de cebada con diferente contenido de gramina. Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones \pm e.e. o = Aramir; ▲ = Cruzat; ● = Atlas 57.

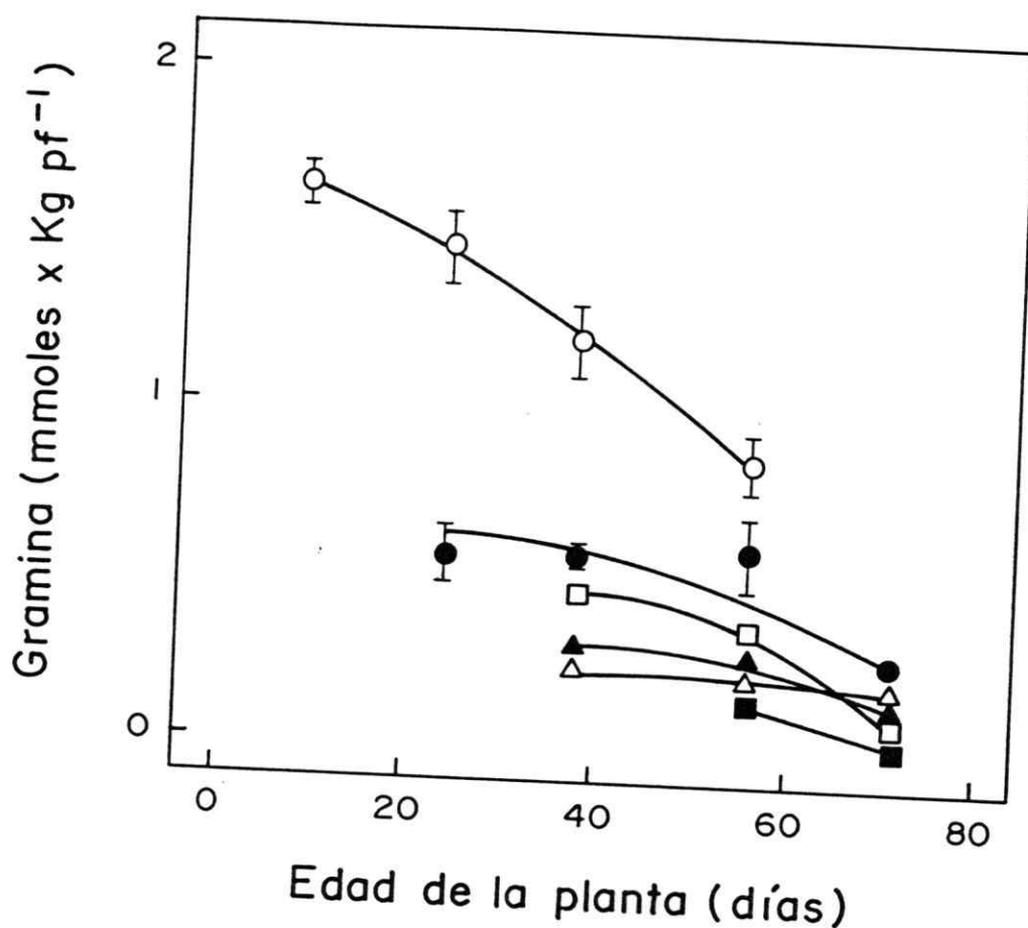
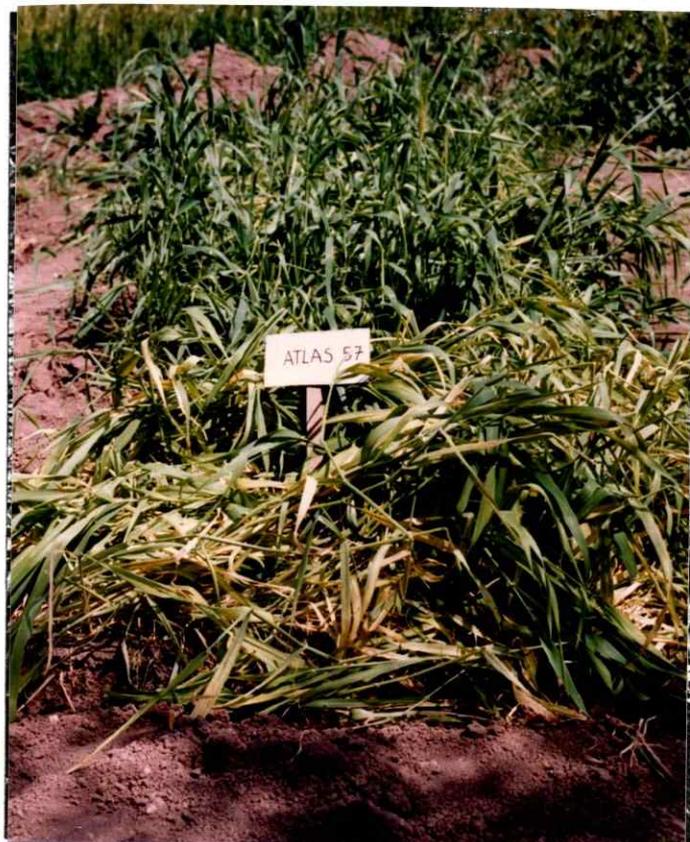


Figura 18. Contenido de gramina en un cultivo de cebada en el campo.

Se midió el contenido de gramina en el cultivar Atlas 57. Las mediciones se realizaron cada 14 días hasta el estado 35 (Escala de Zadocks). Cada valor representa el promedio de 3 repeticiones \pm e.e. ○ = 1a hoja; ● = 2a hoja; △ = 3a hoja; ▲ = 4a hoja; ◻ = 5a hoja; ■ = 6a hoja.

Figura 19. Parcelas infestadas de Aramir y Atlas 57 en un ensayo de campo.

En la fotografía se muestran plantas infestadas de ambos cultivares. Las plantas tenían 1 mes de infestadas, en este estado se tomaron muestras para medir peso seco y contenido de clorofila.



con 255 individuos por eje, siendo la menos abundante *S. avenae* con 0,8 áfidos por eje. Las poblaciones de *M. dirhodum* y *S. graminum* presentaron valores intermedios y semejantes entre sí (Tabla 9). Las especies que disminuyeron significativamente sus poblaciones frente al cultivar con gramina fueron: *R. padi* (Prueba de t, $P < 0,01$) y *M. dirhodum* (Prueba de t, $P < 0,05$). No se encontró variación en el número de áfidos de las especies *S. graminum* y *S. avenae* frente al cultivar con gramina.

3.7.- Daño producido por áfidos en un cultivo de cebada

Las parcelas de Aramir presentaban severos síntomas de daño, los que se visualizan en la Figura 20 a. La primera y segunda parcela de este cultivar no llegó a la formación de grano. Todas las parcelas del cultivar Atlas 57 llegaron a la formación de grano. Se observó una notoria disminución en el tamaño de las plantas infestadas de ambos cultivares con respecto a sus controles no infestados (Figura 20 b).

El contenido de clorofila y peso seco de las plantas se calculó como porcentaje de los controles no infestados. El porcentaje de clorofila y de peso seco fue inferior en el cultivar Aramir, con valores de 61 y 44% contra 89 y 70% del cultivar Atlas 57 (Tabla 10). De las parcelas infestadas sobrevivió un 83% de las plantas del cultivar Atlas 57 y sólo un 23% en el cultivar Aramir. Las

Tabla 9. Número y especies de áfidos presentes en dos cultivares de cebada en el campo.

Cultivar	Afidos / Eje			
	<i>S.graminum</i>	<i>R.padi</i>	<i>S.avenae</i>	<i>M.dirhodum</i>
Aramir	16	255**	0,8	42*
Atlas 57	21	29	0,4	20

Cada valor representa el promedio de 5 repeticiones. Los valores seguidos por asteriscos presentan diferencias significativas entre cultivares (Prueba de t, * = $P < 0,05$, ** = $P < 0,01$).

Figura 20. Parcelas control e infestadas de Aramir y Atlas 57 en un ensayo de campo.
La fotografía muestra: (a) parcelas infestadas de Aramir y Atlas 57 ; (b) parcelas control no infestadas.



(a)



(b)

Tabla 10. Número de áfidos por eje y evaluación del daño ocasionado por los áfidos en dos cultivares de cebada en el campo (T=100%)

Cultivar	Afido/ eje	Clorofila (%)	Peso seco (%)	Sobrevivencia (%)
Aramir	313**	61*	44*	23*
Atlas 57	71	89	70	83

En el estado 30 de la escala de Zadoks se permitió la infestación natural de las parcelas de Aramir y Atlas 57. En el estado 50 se contó el número de áfidos por eje, clorofila, peso seco y sobrevivencia de las plantas infestadas. Todos los valores se expresan con respecto a los controles no infestados (Clorofila Aramir = 2,8 mg/g y Atlas 57 = 3,7 mg/g ; Peso seco Aramir = 1,0 g y Atlas 57 = 1,7 g). Los datos representan el promedio de 3 repeticiones. Los valores seguidos por asteriscos presentan diferencias significativas entre cultivares (prueba de t, **= $P < 0,01$, *= $P < 0,05$).

poblaciones promedio de áfidos por eje en estas variedades fueron de 313 en Aramir y 71 en Atlas 57.

3.8.- Rendimiento de las variedades de cebada utilizadas en el ensayo de campo

El rendimiento de ambas variedades se midió de acuerdo a parámetros de importancia agronómica y cervecera como son: el peso seco total de la planta, número de espigas por planta, número de granos por espiga, peso y contenido de proteína de los granos. Debido a la baja sobrevivencia de las parcelas de Aramir todos los valores obtenidos para este cultivar presentan errores estandar muy elevados.

El número de granos por espiga, el peso seco total de la planta, peso y contenido de proteína de los granos, disminuyó significativamente en los individuos de la cebada Aramir infestada que sobrevivieron, con respecto a su control no infestado (Prueba de t, $P < 0,05$). No se observó variación en el número de espigas por planta.

La cebada Atlas 57 infestada, presentó una disminución significativa en el número de espigas y en el peso seco total de la planta (Prueba de t, $P < 0,05$). El número de granos por espiga, el peso y contenido de proteína del grano no presentó diferencias significativas con respecto al control no infestado (Tabla 11).

El rendimiento de los cultivares control Aramir y Atlas 57 fueron diferentes. El cultivar con gramina, mostró un

Tabla 11. Rendimiento de dos cultivares de cebada en el campo.

	ARAMIR		ATLAS 57	
	NI	I	NI	I
N° espigas/planta	1,9 ± 0,1a	0,6 ± 0,5a	2,5 ± 0,18a	1,6 ± 0,04b
Peso seco/planta (g)	4,5 ± 0,4a	0,6 ± 0,5b	7,5 ± 1,0a	4,0 ± 0,8b
N° granos/espiga	22,0 ± 1,2a	6,0 ± 4,8b	33,0 ± 1,5a	28,0 ± 3,5a
Peso 50 semillas (g)	2,1 ± 0,06a	1,0 ± 0,01b	2,2 ± 0,1a	1,9 ± 0,2a
Proteína grano (mg/g)	15,1 ± 1,8a	9,2 ± 0,5b	12,9 ± 0,4a	13,4 ± 0,3a
Rendimiento total (g/parcela)	266,9 ± 41a	11,1 ± 9,0b	370 ± 83a	124,7 ± 48b

Se evaluó el rendimiento de dos cultivares de cebada en un ensayo de campo. NI= no infestada, I= infestada. Cada valor representa el promedio de 3 repeticiones ± el error estandar. Los valores seguidos por letras diferentes presentan diferencias significativas entre plantas infestadas y no infestadas (prueba de t, P<0,05).

mayor peso seco total de la planta y número de granos por espiga. El número de espigas por planta, el contenido de proteína y el peso de los granos, no mostró diferencias significativas entre ambos cultivares ($P > 0,05$). El rendimiento total del cultivo expresado en gramos/parcela fue similar en los controles no infestados de ambos cultivares. El rendimiento del cultivar Atlas 57 resultó 10 veces superior al del cultivar Aramir al ser sometidos ambos a infestación por áfidos.

A fin de comparar los rendimientos de ambos cultivares infestados, se calculó el porcentaje de rendimiento de las plantas infestadas con respecto a sus controles. Se encontró que el cultivar Atlas 57 infestado presentó mayores porcentajes de rendimiento. El número de granos por espiga, el peso seco total de la planta, el peso y contenido de proteína de los granos entre ambos cultivares infestados fueron significativamente distintos ($P < 0,05$). No se encontró diferencias importantes en el número de espigas por planta entre cultivares ($P > 0,05$) (Tabla 12).

Tabla 12. Comparación del rendimiento de dos cultivares de cebada infestada en el campo (T=100%).

	Aramir (% del control)	Atlas 57 (% del control)
N° espigas/planta	31	64
N° granos/espiga	27*	84
Peso seco/planta	13*	53
Peso 50 semillas	47*	86
Proteína del grano	61*	100

Se evaluó el rendimiento de dos cultivares de cebada infestados en el campo, calculando el porcentaje de rendimiento con respecto a sus controles no infestados (Aramir: número de espigas/planta=1,9; peso seco/planta=4,5 g ; número de granos / espiga=22; peso 50 semillas=2,1 g y proteína del grano=15,1 mg/g ; Atlas 57: número de espigas/planta=2,5, peso seco/planta=7,5 g, número de granos / espiga=33, peso 50 semillas=2,2 g y proteína del grano=13,4 mg/g). Los valores seguidos de asteriscos presentan diferencias significativas entre cultivares (prueba de t, * = P<0,05).

4. DISCUSION

La presencia de metabolitos secundarios en las plantas es considerado un mecanismo de resistencia contra el ataque de insectos. Gramina es un protoalcaloide indólico presente en Gramíneas, Leguminosas y otras familias de plantas. Su presencia en dietas artificiales se ha correlacionado con una disminución en la sobrevivencia y tasa reproductiva de los áfidos (Zúñiga y Corcuera, 1986). En ensayos de laboratorio se han encontrado buenas correlaciones entre presencia de gramina y disminución de las poblaciones de *S. graminum* y *R. padi* en plántulas de cebada (Corcuera, 1984 ; Zúñiga *et al.*, 1985). Se ha encontrado también que los áfidos *S. graminum* y *R. padi* alteran sus patrones alimentarios en plantas con un alto contenido de este alcaloide (Zúñiga *et al.*, 1988). En esta tesis, se estudió el efecto de gramina en la conducta alimentaria de 4 especies de áfidos de los cereales y se evaluó la resistencia de algunos cultivares de cebada tanto en condiciones de laboratorio como en ensayos de campo. Se realizaron experimentos adicionales para establecer si en condiciones de alta temperatura el contenido de gramina endógeno pudiera ser nocivo para el desarrollo de la planta. Esto último en base a lo sugerido por Hanson (1983) en que el aumento de la concentración de gramina por la alta temperatura sería tóxico para la planta.

En la primera parte de esta discusión, se tratará el efecto de gramina sobre los áfidos y luego la resistencia de plantas con gramina en el laboratorio y en el campo. Se discutirá la posible fitotoxicidad de gramina bajo condiciones de alta temperatura y los factores adicionales que participan en la resistencia de las plantas a los insectos.

Efecto de gramina sobre los áfidos

La presencia de gramina afectó a todas las especies de áfidos estudiadas, ya sea en ensayos con dietas artificiales, así como en las plantas. El áfido más sensible a la incorporación de gramina en la dieta artificial, fue *R. padi*, siendo el menos afectado *D. noxia*. Esta diferencia en la respuesta frente a un mismo compuesto tóxico, podría estar basado en diferencias fisiológicas entre especies, como por ejemplo la posibilidad de un organismo de destoxificar sustancias .

Al evaluar el efecto de gramina sobre los áfidos, se encontró que todas las especies presentaron disminuciones en sus tasas de crecimiento poblacional frente a los cultivares con este alcaloide. Sin embargo, al igual que en las dietas artificiales, algunos áfidos fueron más afectados que otros. Esto podría explicarse en base a la teoría de discriminación dual, la cual señala que aquellos insectos con un rango de hospederos menor tendrían

mecanismos más apropiados para detoxificar compuestos secundarios específicos de la planta que aquellos más generalistas (Kennedy y Booth, 1951). Los áfidos que poseen un menor rango de hospederos son *S. graminum* y *D. noxia* los cuales son los menos afectados por la alta concentración de gramina en la planta. Por otra parte también podría atribuirse a las diferentes conductas alimentarias. Por ejemplo, *R. padi* se alimenta principalmente desde tejidos no floemáticos, sin embargo, frente a plantas con gramina modifica su sitio de alimentación, ingiriendo desde el floema y disminuyendo el tiempo de ingesta total. Ha sido ampliamente documentado en la literatura que cambios en los patrones alimentarios van acompañados de reducciones de la tasa reproductiva, período post reproductivo y tasa de crecimiento poblacional de áfidos sobre plantas resistentes (Montlor et al., 1983 ; Sumner et al., 1986). Los cambios en patrones alimentarios pueden asociarse con la distribución de factores de resistencia en las plantas. Gramina se localiza en la epidérmis y células parenquimáticas del mesófilo en plántulas de cebada (Argandoña et al., 1987). Diversos autores han indicado que la presencia de metabolitos secundarios en los tejidos que rodean el haz vascular, serían factores importantes en el mecanismo de resistencia (Montlor et al., 1983 ; Montlor y Tjallingii, 1989). Esto se fundamenta en que los áfidos, previo a alimentarse del floema, realizan numerosas pruebas

que incluyen salivación e ingestión no floemática, lo cual determina en primera instancia la aceptabilidad del sustrato. Siguiendo este razonamiento, la presencia de gramina en tejidos no floemáticos, demoraría la llegada del áfido al floema, afectando la tasa reproductiva de ellos. De acuerdo a estos antecedentes el mecanismo de resistencia podría estar dado por una alteración en el patrón alimentario del áfido y/o por la posible ingesta del compuesto.

Resistencia de la cebada a los áfidos

Se midió la antibiosis y antixenosis de algunos cultivares con diferentes contenidos de gramina, frente a varias especies de áfidos. En este estudio se encontró que ambos mecanismos estarían dando cuenta del efecto de gramina sobre los áfidos. Por una parte la menor ingesta y el mayor tiempo de búsqueda en las plantas con un alto contenido del alcaloide así como las menores tasas de crecimiento poblacional encontradas en ellas.

El menor número de áfidos encontrado en la plantas es tanto una consecuencia de la antibiosis y antixenosis, como del estado fisiológico de la planta. Existen en la literatura diversos antecedentes que indican que el aumento poblacional de insectos en las plantas altera la calidad nutricional de las mismas, ya sea por el retiro de traslocados o por el daño provocado (Van Emden *et al.*,

1969). Durante la senescencia, tal como ocurre en plantas infestadas por áfidos, las membranas se debilitan, los lípidos se descomponen y muchos constituyentes citoplasmáticos favorecen que el áfido abandone el tejido hospedero (Thomas y Stoodart, 1980).

El estado fisiológico del hospedero debe ser considerado al analizar la resistencia o susceptibilidad de la planta frente a los patógenos. Un parámetro usado en la determinación del estado final de la planta fue el contenido de clorofila. Al respecto, se ha demostrado que una moderada infestación de una cebada susceptible, produce reducciones del 50 % en el contenido de clorofila (Gerloff y Ortman, 1971). Al correlacionar el daño ocasionado por diversas especies de áfidos y el contenido de gramina en las plantas, se encontró que aquellas que contenían un alto contenido de este alcaloide presentaron menores pérdidas en el contenido de clorofila. Esto puede atribuirse a un menor daño mecánico, como sería el menor número de pruebas realizadas por algunos áfidos en aquellas plantas con gramina.

La pérdida de clorofila durante la senescencia está acompañada de una degradación de la ribulosa 1,5 bisfosfato carboxilasa-oxigenasa (Rubisco) (Wardley *et al.*, 1984). Este menor contenido de clorofila y de Rubisco podría reducir la capacidad fotosintética de las células afectadas y así disminuir la capacidad de la planta para

asimilar carbohidratos. En este trabajo se encontró que las plantas infestadas mostraron una menor asimilación fotosintética con respecto a plantas no infestadas, frente a las 4 especies de áfidos estudiadas. En la literatura se encuentran resultados disímiles con respecto a este punto. Algunos autores han informado que la infestación de cebada con *R. padi* no produjo cambios en la fotosíntesis de las plantas (Mallot y Davy, 1978). Otros en cambio han encontrado un incremento de ella frente a la infestación (Hawkins et al., 1987). Estas diferencias indican que la tasa de intercambio de CO_2 es una respuesta específica del sistema planta-áfido que esté siendo investigado. De acuerdo a las mediciones realizadas en esta tesis, cabe destacar que si bien, la asimilación fotosintética disminuyó en todos los cultivares frente a los áfidos, no se encontró una relación entre contenido de gramina y menor daño en las plantas (asociado a este parámetro).

Utilizando la disminución del potencial hídrico como parámetro de daño, se encontró que todas las plantas disminuyeron sus potenciales frente a la infestación, independientemente de la especie de áfido y del cultivar utilizado. Se encontró que plantas con gramina presentaron menores disminuciones del potencial hídrico frente a algunas especies de áfidos. *S. graminum* fue el áfido que produjo las mayores disminuciones de los potenciales en todos los cultivares. La diferencia existente entre el daño

ocasionado por este áfido y las otras especies puede atribuirse a la presencia de pectinesterasas en su saliva las cuales provocan la ruptura de la pared celular y por lo tanto un mayor daño (Campbell *et al.*, 1985).

Se ha sugerido también que durante el proceso de alimentación se dañarían los cloroplastos, lugar donde se encuentran las enzimas que participan en las rutas biosintéticas de glicil betaína y prolina (Rayapati y Stewart, 1988; Hanson *et al.*, 1985). Al respecto se ha encontrado que las plantas infestadas acumulan menos solutos frente a condiciones de estrés (Riedell, 1989), por lo que se deduce que son incapaces de acumular estos compuestos al mismo nivel que las plantas sanas. De acuerdo a estos antecedentes y a las diferencias encontradas frente a las diferentes especies de áfidos, sería interesante medir el contenido de solutos osmorreguladores en los diferentes cultivares frente a varias especies de áfidos.

Se observaron reducciones significativas de peso seco en las plantas infestadas respecto a sus controles no infestados. Estos resultados concuerdan con los de otros autores, quienes han encontrado reducciones del peso seco en plantas de arveja infestadas con *A. pisum*, de papa con *M. persicae* y de cebada con *R. padi* (Barlow *et al.*, 1977; Barlow y Mesmer, 1982 ; Galecka, 1977 ; Petit y Smilowitz, 1982 ; Mallot y Davy, 1978).

En el presente estudio no se encontró ninguna relación

entre el contenido de gramina y la pérdida de peso seco frente a las diferentes especies de áfidos. Plantas con gramina fueron menos dañadas por *D. noxia*. Esta misma planta, sin embargo, perdió más peso frente a *R. padi*. Estas diferencias pudieran estar dadas por conductas alimentarias disímiles en sus hospederos.

Los resultados anteriores fueron obtenidos bajo condiciones controladas de luz y temperatura, en el laboratorio. Es difícil extrapolar con certeza, lo que podría ocurrir en condiciones naturales. Fue necesario para esto realizar un ensayo de campo y evaluar así la importancia de gramina como parte de un mecanismo de resistencia natural. Bajo estas condiciones, se encontró que la cebada Atlas 57 (con gramina) toleró mejor la infestación natural, llegando en todas las parcelas a la formación de grano. Kanehisa *et al.*, (1990) en Japón, han encontrado también que aquellas líneas de cebada con un alto contenido de gramina fueron menos atacadas por áfidos durante ensayos de campo.

El alto nivel de daño encontrado en las parcelas Aramir (sin gramina) puede atribuirse a las enormes poblaciones de áfidos de la especie *R. padi* encontradas en este cultivar. En los últimos años se ha encontrado una variación en la importancia relativa de las distintas especies de áfidos. Ha sido manifiesta la reducción de los áfidos *S avenae* y *M. dirhodum* y el aumento relativo de *R. padi*. La cual también

ha mostrado un incremento en su densidad promedio en la zona Centro Norte y Sur del país (Norambuena **et al.**, 1982 **revisar y preguntar la referencia exacta**). Otro factor a considerar es que durante el período en el cual se permitió la infestación, la especie predominante era **R. padi**.

Considerando los rendimientos obtenidos en las parcelas infestadas, se demuestra que el cultivar Atlas 57 es más resistente al ataque de los áfidos. Esto último apoya los resultados encontrados bajo condiciones de laboratorio, en que la presencia de gramina se correlaciona con menores poblaciones de áfidos y con menores daños en las plantas.

Fitotoxicidad de gramina y consideraciones generales

De acuerdo a las condiciones experimentales planteadas en este trabajo, no se encontró una correlación entre el contenido de gramina endógeno y el daño producido por la alta temperatura en plantas de cebada. La diferencia de estos resultados con los planteados por Hanson (1983) se podrían atribuir a diferencias metodológicas. Este autor sometió a plantas de cebada a un estrés de temperatura más prolongado que el usado en esta tesis, además manipuló otra variable como es la adición de una cierta cantidad de gramina exógena a la solución que contenía las plantas o callos de cebada. Bajo estas condiciones, la mayor cantidad de gramina circulando por el haz vascular provocó una

reducción en el crecimiento y necrosis en las hojas de plantas de cebada con un alto contenido de gramina.

De acuerdo a los resultados expuestos, de este trabajo se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1. La presencia de gramina en los tejidos vegetales altera el patrón alimentario de los áfidos y por lo tanto modifica sus niveles poblacionales en las plantas.
2. Bajo condiciones de laboratorio, plántulas de cebada con una mayor concentración de gramina presentaron poblaciones más bajas de áfidos que aquellas sin gramina.
3. En el campo, la cebada con gramina presentó un nivel de daño inferior y un rendimiento mayor, frente a la infestación, que aquellos cultivares sin este metabolito.
4. La acumulación de gramina endógena en los tejidos por efecto de breves períodos de temperatura alta (4 días) no afectaría procesos fisiológicos importantes de las plantas.
5. De las 4 especies de áfidos estudiadas el más dañino para todos los cultivares fue **S. graminum**.

En estudios realizados anteriormente se estableció que existiría una correlación entre contenido de gramina en las plantas y resistencia al ataque de pulgones. Se determinó también que este alcaloide modifica la conducta alimentaria

de 2 especies de áfidos de los cereales. En este trabajo se confirma este planteamiento aportando más antecedentes acerca del rol de gramina en la planta. Por una parte este metabolito afectó la conducta alimentaria de otras 2 especies de áfidos no estudiadas anteriormente, observándose además que cada especie de áfido produce un nivel de daño diferente en la planta. También se encontró que aquellas plantas con gramina resultaban menos dañadas por algunas especies de áfidos.

Todos los experimentos realizados anteriormente se llevaron a cabo bajo condiciones controladas. En esta tesis se comprobó también el rol defensivo de gramina en condiciones de campo encontrándose que las plantas eran menos atacadas por áfidos y que presentaban mayores rendimientos que aquellas sin este compuesto.

El planteamiento de eliminar gramina de la planta por su posible fitotoxicidad (Hanson *et al.*, 1981 ; 1983) debe ser reconsiderado, ya que en este y otros trabajos se ha demostrado que la presencia de este alcaloide le confiere a la planta resistencia a los áfidos tanto en condiciones controladas como en el campo y por lo tanto desde ese punto de vista es una característica deseable de mantener.

BIBLIOGRAFIA

- Apablaza, J.U. y Tiska, V.V. 1973. Poblaciones de áfidos (Homóptera : Aphididae) en trigo de la zona Central chilena. Rev. Chil. Ent. 7, 173-181.
- Archer, T.L., Onken, A.B., Matheson, R.L., y Bynum, E.D. Jr., 1982. Nitrogen fertilizer influences on greebug dynamics and damage to sorghum. J. Econ. Entomol. 75, 695-698.
- Argandoña, V.H., Luza, J.C., Niemeyer, H.M., y Corcuera, L.J., 1980. Role of hydroxamic acids in the resistance of cereal to aphids. Phytochemistry 19, 1665-1668.
- Argandoña, V.H., Corcuera, L.J., Niemeyer, H.M., y Campbell, B.C., 1983. Toxicity and feeding deterrency of hydroxamic acids from Gramineae in synthetic diets against the greenbug *Schizaphis graminum*. Ent. exp. appl. 24, 134-138.
- Argandoña, V.H., Zúñiga, G.E., y Corcuera, L.J., 1987. Distribution of gramine and hydroxamic acids in barley and wheat leaves. Phytochemistry 26, 1917-1918.
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24, 1-15.
- Aruta, C., Carrillo, R., y Gonzalez, S. 1974. Determinación para Chile de hongos entomopatógenos del género *Entomophthora*. Agro sur 2, 62-70.
- Auclair, J.L., 1963. Aphid feeding and nutrition. Ann. Rev. Entomol. 8, 439-490.
- Auclair, J.L., 1965. Feeding and nutrition of pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Homóptera: Aphididae), on chemically defined diets of various pH and nutrient levels. Ann. Entomol. Soc. Amer. 58, 865-875.
- Avé, D.A., Gregory, P., y Tingey, W., 1987. Aphid repellent sesquiterpenes in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* and *S. tuberosum*. Ent. exp. appl. 44, 131-138
- Ba - Angood, S.A., y Stewart, R.K., 1980. Economic thresholds and economic injury levels of cereal aphids on barley in Southwestern Quebec. Can. Entomol. 112, 759-764.

Barlow, C.A., Randolph, P.A., y Randolph, J.C., 1977. Effects of pea aphid **Acyrtosiphon pisum** (Homóptera:Aphididae), on growth and productivity of pea plants, **Pisum sativum**. Can. Entomol. 109, 1491-1502.

Barlow, C.A., y Mesmer, I., 1982. Pea aphid (Homóptera: Aphididae) induced changes in some growth rates of pea plants. J. Econ. Entomol. 75: 765-768.

Barnes, R.F., Simons, A.B., y Marten, G.C., 1971. Evaluation of selected clones of **Phalaris arundinacea**. II Indole alkaloid derivatives. Agronomy J. 63, 507-509.

Burton, R.L., 1986. Effect of greenbug (Homoptera : Aphididae) damage on root and shoot biomass of wheat seedlings. J. Econ. Entomol. 79, 663-636.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. Anal. Biochem. 72, 248-254.

Brown, C.M., y Holbrook, F.R., 1976. An improved electronic system for monitoring feeding of aphids. Am. J. Potato 53, 457-462.

Caballero, C. 1972. Incidencia del ataque del pulgón de los cereales **Metopolophium dirhodum** (Walker 1848) en los rendimientos de trigo. Revista peruana de Entomología 15, 51-56.

Campbell, B.C., y Dreyer, D.L., 1985. Host-plant resistance of sorghum: differential hydrolisis of sorghum pectic substances by polysaccharases of greenbug biotypes (**Schizaphis graminum**, Homoptera : Aphididae). Arch. Insect Biochem. Physiol. 2, 203-215.

Campos, L. 1976. Los pulgones de los cereales. El Campesino 107, 38-41.

Carrillo, R., Mellado, M., y Pino, A., 1974. Los áfidos **Sitobion avenae** y **Metopolophium dirhodum**, su influencia en el rendimiento, ubicación en la planta y sus enemigos naturales. Agro Sur 2, 71-85.

Carrillo, R., y Mellado, M. 1975. Efecto de la época de siembra y del áfido **Metopolophium dirhodum** (Walker) en el rendimiento de cultivares de trigo de primavera (**Triticum aestivum** L.). Agric. Tec. 35, 190-204.

Carrillo, R. y Mundaca, N. 1976. Efecto del nitrógeno en las poblaciones, progenie y velocidad de desarrollo de los áfidos *M. dirhodum* y *S. avenae* en trigo (*Triticum aestivum* L.). *Agro Sur* 4, 15-20.

Castro, A.M., y Rumi, C.P., 1987. Greenbug damage on the aerial vegetative growth of two barley cultivars. *Environ. Exp. Bot.* 27, 263-271.

Corcuera, L.J., 1984. Effects of indole alkaloids from Gramineae on aphids. *Phytochemistry* 23, 539-541.

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

Coulman, B.E., Woods, D.L., y Clark, K.W., 1977. Distribution within the plant, variation with maturity, and heritability of gramine and hordenine in reed canary grass. *Can. J. Plant Sci.* 57, 771-777.

Dixon, A.F.G., 1987. Parthenogenetic reproduction and rate of increase in aphids. Minks, A.K., y Harrewijn, P. (eds.), *Aphids their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier Science Publishers B.V. pp 197-206.

Dorschner, K.W., Johnson, R.C., Eikenbary, R.D., y Ryan, J.D., 1986. Insect-plant interactions: greenbugs disrupt acclimation of winter wheat to drought stress. *Environ. Entomol.* 15, 118-121.

Dreyer, D.L., y Campbell, B.C., 1983. Association of the degree of methylation of intercellular pectin with plant resistance to aphids and with induction of aphid biotypes. *Experientia* 40, 224-226.

Echeverría, N.L., y Campos, L.S. 1979. Efectos de la época de siembra y densidad poblacional de áfidos en rendimientos de trigo y cebada. *Inv. Agrícola (Chile)* 5, 111-117.

Ehmann, A., 1977. The van Urk-Salkowsky reagent. A sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin layer chromatographic detection and identification of indole derivatives. *J. Chromatography* 132, 267-276.

Fereres, A., Gutierrez, C., Del Estal, P., y Castañera, P., 1988. Impact of the english grain aphid, *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera:Aphididae), on the yield of wheat plants subject to water deficits. *Environ. Entomol.* 17, 596-602.

- Foott, W.H., y Timmins, P.R., 1973. Effects of infestation by the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis* on field corn in Southwestern Ontario. *Can. Entomol.* 105, 449-458.
- Galecka, B., 1977. Effect of aphid feeding on the water uptake by plants and on their biomass. *Ekol. Pol.* 25, 531-537.
- Gallagher, C.H., Koch, J.H., Moore, R.M., y Steel, J.D., 1964. Toxicity of *Phalaris tuberosa* for sheep. *Nature* 204, 542-545.
- Gerloff, E.D., y Ortman, E.E., 1971. Physiological changes in barley induced by greenbugs feeding stress. *Crop Sci.* 11, 174-176.
- Gibson, R.W., y Pickett, J.A., 1983. Wild potato repels aphids by release of aphid alarm pheromone. *Nature* 302, 608-609.
- Hanson, A.D., Traynor, P.L., Ditz, K.M., y Reicosky, D.A., 1981. Gramine in barley forage - effects of genotype and environment. *Crop Sci.* 21, 726-730.
- Hanson, A.D., Ditz, K.M., Singletary, G.W., y Leland, T.J., 1983. Gramine accumulation in leaves of barley grown under high temperature stress. *Plant physiol.* 71, 896-904.
- Hanson, A.D., May, A.M., Grumet, R., Bode, J., Jamieson, G.C., y Rhodes, D., 1985. Betaine synthesis in chenopods: Localization in chloroplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82, 3678-3682.
- Harper, A.M., y Freyman, S., 1979. Effect of pea aphid, *Acyrtosiphum pisum*, in cold-hardiness of alfalfa. *Can. Entomol.* 111, 635-636.
- Harvey, T.L., Hackerott, H.L., y Sorensen, E.L., 1971. Pea aphid injury to resistant and susceptible alfalfa in the field. *J. Econ. Entomol.* 64, 513-517.
- Hawkins, C.D.B., Aston, M.J., y Whitecross, M.I., 1987. Short-term effects of aphid feeding on photosynthetic CO₂ exchange and dark respiration in legume leaves. *Physiol. Plant.* 71, 379-383.
- Jansson, R.K., y Smilowitz, Z., 1985. Development and reproduction of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Homoptera:Aphididae), on upper and lower leaves of three potato cultivars. *Can. Entomol.* 117, 247-252.

- Jensen, D.D., 1954. The effect of aphid toxins on *Cymbidium* orchid flowers. *Phytopathology* 44, 493-494.
- Johnson, B., 1966. Wing polymorphism in aphids. IV The effect of temperature and photoperiod. *Entomol. exp. appl.* 9, 301-313.
- Juneja, P.S., Percy, S.C., y Gholson, R.K., 1975. Chemical basis for greenbug resistance in small grains. II Identification of the major neutral metabolite of benzil alcohol in barley. *Plant Physiol.* 56, 385-389.
- Kanehisa, K., Tsumuki, H., Kawada, K., y Rustamani, M.A., 1990. Relations of gramine content and aphid populations on barley lines. *Appl. Ent. Zool.* 25, 251-259.
- Kennedy, J.S., 1951. Benefits to aphid from feeding on galled and virus-infected leaves. *Nature* 168, 825-826.
- Kennedy, G.G., McLean, D.L., y Kinsey, M.G., 1978. Probing behavior of *Aphis gossypii* on resistant and susceptible muskmelon. *J. Econ. Entomol.* 71, 13-16.
- Kennedy, J.S., y Booth, C.O. 1951. Host alternation in *Aphis fabae* Scop. I. Feeding preference and fecundity in relation to the age and kind of leaves. *J. appl. Biol.* 38: 25-64.
- Kenten, J., 1955. The effect of photoperiod and temperature on reproduction in *Acyrtosiphon pisum* (Harris) and on the forms produced. *Bull. Ent. Res.* 46, 599-625.
- Klingauf, F.A., 1970. Zur Wirtswahl der Grünen Erbsenlaus, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Homoptera : Aphididae). *Entomol. Z.* 65, 419-427.
- Klingauf, F.A., 1987. Host plant finding and acceptance. In: Minks, A.K., and Harrewijn, P. (eds.), *Aphids their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier Science Publishers B.V. pp 209-223.
- Kogan, M., y Ortman, E.F., 1978. Antixenosis a new term proposed to define Painter's "non-preference" modality of resistance. *Bull. Ent. Soc. Am.* 24, 175-176.
- Lamb, K.P. y Whites, D.F. 1966. Effect of temperature, starvation and crowding on reproduction of alate young by the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Entomol. exp. appl.* 9, 174-184.

Lamb, R.J., y Pointing, P.J., 1972. Sexual morph determination in the aphid, **Acyrtosiphon pisum**. J. Insect Physiol. 18, 2029-2042.

Lambrot, L. y Guerrero., 1979. Dinámica poblacional de los áfidos de cereales y sus enemigos naturales en la provincia de Santiago durante las temporadas 1976 y 1977. Inv. Agrícola (Chile) 5, 23-32.

Lamerink, J., y Banfield, R.A., 1980. Effect of aphid control by disulfoton on seed yield components and seed quality of oilseed rape. New Zealand J. Exp. Agr. 8, 45-48.

Lees, A.D., 1967. The production of the apterous and alate forms in the aphid **Megoura viciae** (Buckton), with special reference to the role of crowding. J. Insect Physiol. 13, 289-318.

Mallot, P.G., y Davy, A.J., 1978. Analysis of effects of the bird cherry-oat aphid on the growth of barley: unrestricted infestation. New Phytologist 80, 209-218.

McLean, D.L., y Kinsey, M.G., 1964. A technique for electronically recording aphid feeding and salivation. Nature 202, 1358-1359.

McLean, D.L., y Kinsey, M.G., 1967. Probing behavior of the pea aphid **Acyrtosiphon pisum**. I Definitive correlation of electronically recorded wave forms with aphid probing activities. Ann. Entomol. Soc. Am. 60, 400-406.

McLean, D.L., y Kinsey, M.G., 1968a. Probing behavior of the pea aphid, **Acyrtosiphon pisum**. I Comparisons of salivation and ingestion in host and non-host plant leaves. Ann. Entomol. Soc. Am. 61, 730-739.

Mittler, T.E., Dadd, R.M., y Daniels, S.C.Jr., 1970. Utilization of different sugars by the aphid **Myzus persicae**. J. Insect Physiol. 16, 1873-1890.

Montlor, C.B., Campbell, B.C., y Mittler, T.E., 1983. Natural and induced differences in probing behavior of two biotypes of the greenbug, **Schizaphis graminum** in relation to resistance in sorghum. Entomol. exp. appl. 34, 99-106.

Montlor, C.B., y Tjallingii, W.F., 1989. Stylet penetration by two aphid species on susceptible and resistant lettuce. Entomol. exp. appl. 52, 103-111.

- I.N.I.A. 1982 .(Norambuena, H.M., Gerding, M.P., y Quiroz, C.E.) Situación actual e impacto económico de los áfidos en la producción de trigo en Chile. INIA Apartado 139 páginas 81-87.
- Niemeyer, H.M., Corcuera, L.J., y Pérez, F.J., 1982. Reaction of a cyclic hydroxamic acid from gramineae with tiols. *Phytochemistry* 21, 2287-2289.
- Ortman, E.E., y Painter, R.M., 1960. Quantitative measurements of damage by the greenbug, **Toxoptera graminum**, to four wheat varieties. *J. Econ. Entomol.* 53, 798-826.
- Parry, W.H., 1971. Differences in the probing behavior of **Elatobium abietinum** feeding on Sitka and Norway spruces. *Ann. Appl. Biol.* 69, 177-185.
- Petit, F.L., y Smilowitz, Z., 1982. Green peach aphid feeding damage to potato in various plant growth stages. *J. Econ. Entomol.* 75, 431-435.
- Pollard, D.G., 1973. Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera:Aphidoidea): a review. *Bull. Ent. Res.* 62, 631-714.
- Rabbinge, R., Drees, E.M., Van der Graaf, M., Verberne, F.C.M., y Wesselo, A., 1981. Damage effects of cereal aphids in wheat. *Netherland J. Plant Pathol.* 87, 217-232.
- Rayapati, P.J., y Stewart, C.R., 1988. Pyrroline-n-carboxylase reductase activity from pea plastids. *Plant Physiol.* 86, S-63.
- Riedell, W.E., 1989. Effects of russian wheat aphid infestation on barley plant response to drought stress. *Physiol. Plant.* 77, 587-592.
- Salas, M.L., Corcuera, L.J., y Argandoña, V.H., 1990. Effect of potassium nitrate on gramine content and resistance of barley against the aphid **Schizaphis graminum**. *Phytochemistry* 29, 3789-3791.
- Saxena, P.N., y Chada, H.L., 1971. The greenbug, **Schizaphis graminum**. I Mouthparts and feeding habits. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 64, 897-904.
- Schaefer, G.A., 1966. The use of direct current for electronically recording aphid feeding and salivation. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 59, 1022-1024.

Scholander, P.F., Hammel, H.T., Hemmingsen, E.A., y Brandstret, E.D., 1964. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 52, 119-125.

Shade, R.E., y Kitch, L.W., 1983. Pea aphid biology on glandular-haired Medicago species. Environ. Entomol. 12, 237-340.

Sharma, M.L., Larriveé, J.M., y Theriault, L.M., 1975. Séquences de descendance des formes sexués chez le puceron du pois **Acyrtosiphon pisum** (Homoptera : Aphididae) en relation avec la durée des photoperiodes. Can. Entomol. 107, 1063-1067.

Shukle, R.H., Lampe, D.J., Lister, R.M., y Foster, J.E., 1987. Aphid feeding behavior: relationship to barley yellow dwarf virus resistance in Agropyrum species. Phytopathology 77, 725-729.

Simons, A.B., y Marten, G.C., 1971. Relationships of indole alkaloids to palatability of **Phalaris arundinacea**. Agron. J. 63, 915-919.

Sumner, L.C., Dorschner, K.W., Ryan, J.D., Eikenbary, R.D., Johnson, R.C., y McNew, R.W., 1986. Reproduction of **Schizaphis graminum** (Homoptera:Aphididae) on resistant and susceptible wheat genotypes during simulated drought stress induced with polyethylene glycol. Environ. Entomol. 15, 756-762.

Thomas, H., y Stoddart, J.L., 1980. Leaf senescence. Ann. Rev. Plant Physiol. 31, 83-111.

Tjallingii, W.F., 1978. Electronic recording of penetration behavior by aphids. Entomol. exp. appl. 24, 721-730.

Tood, G., Getahum, A., y Cress, D.C., 1971. Resistance in barley to the greenbug **Schizaphis graminum**. I. Toxicity of phenolic and flavonoid compounds and related substances. Ann. Entomol. Soc. Am. 64, 718-722.

Tsumuki, H., Kanehisa, K., y Kawada, K., 1989. Leaf surface wax as a possible resistance factor of barley to cereal aphids. Appl. Ent. Zool. 24, 295-301.

Van Emden, H.F., 1967. An increase in the longevity of adult **Aphis fabae** fed artificially through parafilm membranes on liquids under pressure. Entomol. exp. appl. 10, 166-170.

Van Emden, H.F., Eastop, V.F., Hughes, R.D., y Way, H.J., 1969. The ecology of **Myzus persicae**. Ann. Rev. Entomol. 17, 596-602.

Van Emden, H.F., 1972. Aphids as phitochemist. In: Harborne, J.B. (ed.), Phitochemical Ecology, Academic Press, London-New York. pp 25-43.

Wardley, T.M., Bhalla, P.L., y Dalling, M.J., 1984. Changes in the number and composition of chloroplast during senescence of mesophyll cells of attached and detache primary leaves of wheat (**Triticum aestivum**). Plant Physiol. 75, 421-424.

Wearing, C.H., 1968. Responses of aphids to pressure applied to liquid diet behind a parafilm membrane. Longevity and larviposition of **Myzus persicae** (Sulz.) and **Brevicoryne brassicae** (L.) (Homoptera:Aphididae) feeding on sucrose and sinigrin solutions. New Zealand J. Sci. Tech. 11, 105-121.

Willard, T.S., y Penner, D., 1976. Benzoxasinones: cyclic hydroxamic acids found in plants. Residue Rev. 64, 67-76.

Wilson, R.L., Starks, K.J., y Wood, E.A., 1978. Resistance in four oat lines to two biotypes of the greenbug. J. Econ. Entomol. 71, 886-887.

Wink, M., Hartmann, T., Wiffe, L., y Rheinheimer, J., 1982. Interrelationship between quinolizidine alkaloid producing legumes and infesting insects: explotación of the alkaloid containing phloem sap of **Cytisus scoparius** by the broom aphid, **Aphid cytisorum**. Naturforschung. Z. 37, 1081-1086.

Wratten, S.D., 1975. The nature of the effects of the aphids **Sitobion avenae** and **Metopolophium dirhodum** on the growth of wheat. Ann. Appl. Biol. 79, 27-34.

Wratten, S.D., 1978. Effects of feeding position of the aphids **Sitobion avenae** and **Metopolophium dirhodum** on wheat yield and quality. Ann. Appl. Biol. 90, 11-20.

Zadoks, J.C., Chang, T.T., y Konzak, C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Res. 14, 415-421.

Zerené, M.Z., Caglevic, M.D., y Ramirez, I.A. 1988. Un nuevo áfido de los cereales detectado en Chile. Agricultura Técnica 48, 60-61.

Zúñiga, E.S., 1967. Lista preliminar de áfidos que atacan los cultivos en Chile, sus huéspedes y enemigos naturales. *Agricultura Técnica* 27, 165-167.

Zúñiga, G.E., Salgado, M.S., y Corcuera, L.J., 1985. Role of indole alkaloid in the resistance of barley seedlings to aphids. *Phytochemistry* 24, 945-947.

Zúñiga, G.E., y Corcuera, L.J., 1986. Effect of gramine in the resistance of barley seedlings to the aphid *Rhopalosiphum padi*. *Entomol. exp. appl.* 40, 259-262.

Zúñiga, G.E., Varanda, E.M., y Corcuera, L.J., 1988. Effect of gramine on the feeding behavior of the aphids *Schizaphis graminum* and *Rhopalosiphum padi*. *Entomol. exp. appl.* 47, 161-168.