

Caracterización de la antibiosis a cuatro especies de pulgones como uno de los mecanismos de resistencia en leguminosas forrajeras perennes

Letícia Bao¹, María José Cuitiño², Mónica Rebuffo³, Rosario Alzugaray⁴, Noelia Casco⁵

Morfología, alimentación y daños causados por pulgones en leguminosas forrajeras

Los “pulgones de las plantas” también conocidos como áfidos, pertenecen a la familia Aphididae (Orden: Hemiptera). Son insectos pequeños de cuerpo blando y forma piriforme. Sus patas y antenas son largas y delgadas, y la mayoría de las especies presentan un par de cornículos tubulares (sifones) ubicados sobre la región dorsal del abdomen (Lamp *et al.*, 2007). Su aparato bucal es del tipo pico-suctor, especializado en puncionar los tejidos vegetales para la succión de savia en grandes cantidades.

Se observan sobre hojas y brotes jóvenes de diversas plantas y son generalmente más abundantes en primavera y otoño. Presentan gran capacidad reproductiva, por lo que son unos de los insectos más prolíficos. A pesar de ello, las poblaciones son reducidas por enemigos naturales, y condiciones ambientales adversas, principalmente las lluvias (Bentancourt *et al.*, 2009). Dentro de una misma especie se encuentran dos formas fundamentales, los ápteros (sin alas) y los alados. Los ápteros son la forma predominante cuando el hospedero y las condiciones ambientales son óptimas para su crecimiento y desarrollo. Cuando las condiciones promueven la migración (por ejemplo, deterioro de la planta hospedero o condiciones climáticas desfavorables), los pulgones pueden desarrollar formas aladas (Lamp *et al.*, 2007; Figura 1).

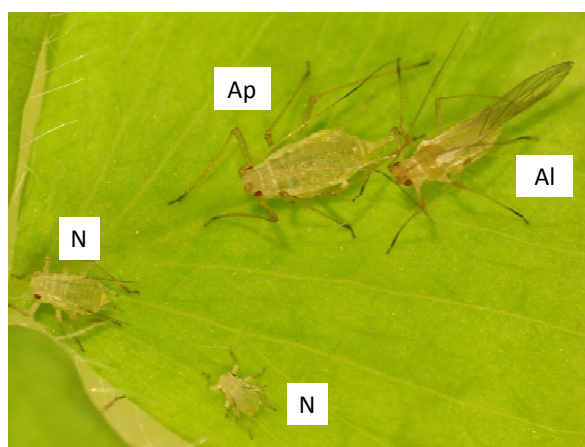


Figura 1. Colonia de pulgón azul *Acyrthosiphon kondoi* donde se observan ninfas (N), un individuo áptero (Ap) y uno alado (AI).

La función de estas hembras aladas es la dispersión en busca de un nuevo hospedero apropiado, proceso durante el cual prueban gran número de plantas, introduciendo sus estiletes en cada una de ellas. Este comportamiento es muy relevante para la comprensión de la dinámica de la transmisión viral (Carballo, 2001). Los áfidos presentan un diverso rango de ciclos biológicos, que son generalmente muy complejos (Van Emden y Harrington, 2007). En ciertas condiciones ocurre alternancia de fases de reproducción sexual con fases de reproducción partenogenética. En regiones donde los inviernos no presentan condiciones extremas, como en

¹ Ing. Agr. MSc. Facultad de Agronomía, Entomología.

² Ing. Agr. MSc. INIA La Estanzuela, Programa Nacional de Pasturas y Forrajes.

³ Ing. Agr. MPhil. INIA La Estanzuela, Directora Programa Nacional de Pasturas y Forrajes.

⁴ Ing. Agr., MSc, Investigador retirado, INIA La Estanzuela.

⁵ Ing. Agr. MSc. INIA La Estanzuela, Entomología.

Uruguay, no se encuentran machos ni huevos como formas invernantes. El ciclo consiste en generaciones sucesivas de hembras fundatrices, que producen descendencia por partenogénesis (Bentancourt *et al.*, 2009).

En los pulgones, los hábitos alimenticios han evolucionado hacia un mecanismo muy especializado de alimentación a base de savia de las plantas (Holman, 1974). Luego de que un pulgón ubica una fuente de alimento y se posa sobre ella, evalúa su conveniencia a través de estímulos físicos y químicos. Secreta una gota de saliva sobre la cual inserta su aparato bucal. Si la información recibida es aceptable, inserta el aparato bucal hasta los vasos cribosos del floema, por medio de sus partes bucales, principalmente los estiletes mandibulares y maxilares (Minks y Harrewijin, 1987). La mayoría penetran al tejido intercelularmente. En una planta turgente la savia está bajo presión y a causa de ello los pulgones no necesitan succionar para obtener su alimento (Holman, 1974). A su vez, los pulgones han desarrollado mecanismos que impiden la oclusión de sus sitios de alimentación, evitando que se interrumpa el flujo de savia. Mediante la inyección de saliva logran inhibir las proteínas de coagulación de la planta, sobrepasando así la defensa desencadenada por el hospedero (Tjallingii, 2006).

Los daños provocados por los pulgones pueden dividirse en directos e indirectos. Dentro de los primeros se consideran aquellos debidos a la presencia de muy altas poblaciones dentro de un cultivo, por lo que por sus hábitos alimenticios, la succión de savia sobre la planta es intensa, y esto puede conducir a la deformación de brotes y amarillamiento de hojas (Lamp *et al.*, 2007). Por otra parte, los daños indirectos corresponden a perjuicios que pueden ser provocados por un número bajo de insectos, como es la transmisión de enfermedades a virus. Dentro de los insectos los pulgones son el grupo más exitoso en lo que a transmisión de virus vegetales se refiere (Harris, 1981; Nault, 1997). En el caso de las pasturas, las enfermedades causadas por estos patógenos son factores significativos en la reducción de la producción y persistencia de muchas leguminosas forrajeras; disminuyen el rendimiento del forraje y la calidad nutricional del alimento disponible, e interfieren en el proceso de fijación simbiótica del nitrógeno (Campbell, 1986).

Desde el punto de vista de los daños directos causados por los pulgones, el momento más crítico es durante la implantación de la pastura porque pueden producir muerte de plantas situación que se agrava más en otoños secos (Alzugaray, 1991).

En Uruguay las especies de pulgones más frecuentes en praderas con leguminosas son *Acyrtosiphon kondoi* Shinji (pulgón azul de la alfalfa), *Acyrtosiphon pisum* Shinji (pulgón verde de la alfalfa), *Aphis craccivora* Koch (pulgón negro) y *Therioaphis trifolii* (Monell) (pulgón manchado de la alfalfa) (Alzugaray y Ribeiro, 2000). Tres especies de pulgones (manchado, azul y verde) han sido ampliamente reportados causando daños en cultivos de alfalfa (*Medicago sativa* L.) tanto por su daño directo como por ser vectores de virus (Van Emden y Harrington, 2007).

En trabajos realizados en Uruguay, las tres especies de pulgones están presentes en el campo en cultivos de alfalfa, trébol rojo y lotus durante todo el año, especialmente en condiciones de escasez de precipitaciones y temperatura elevada (primavera y verano y ciertos periodos del otoño) (Ribeiro, 2008). En el caso de *T. trifolii* su alimentación provoca reacciones tóxicas en las plantas que resultan en clorosis, caída de hojas y muerte de plantas con altas densidades poblacionales (Nickel y Sylvester, 1959; Lamp *et al.*, 2007).

Los principales daños directos se dan en la implantación o en los rebrotes, fundamentalmente en los períodos cálidos y secos. Si se detecta que la acción de los enemigos naturales no es efectiva, en caso de aplicar algún insecticida, se deben considerar productos selectivos. De esa forma será posible una rápida recuperación de las poblaciones de enemigos naturales que regularán las subsiguientes poblaciones de pulgones u otros fitófagos (Alzugaray y Ribeiro, 2000). Si bien se pueden usar insecticidas aplicados a la semilla para proteger el cultivo de los pulgones durante la implantación, en el caso particular de las leguminosas estos productos pueden afectar la sobrevivencia del rizobio presente en el inoculante que también se aplica sobre la semilla en el momento de la siembra (Fox *et al.*, 2007). Por lo tanto, el uso de curasemillas en leguminosas forrajeras perennes no es una práctica mayormente utilizada. A su vez, tampoco es recomendable la aplicación de insecticidas dada la utilización directa del cultivo para alimentar animales de pastoreo.

La resistencia de las plantas a los pulgones, como a otros insectos, se alcanza mediante mecanismos que evitan la colonización (antixenosis), que impiden el crecimiento y reproducción de los mismos (antibiosis), o que estimulan características de la planta de forma que no se vea

afectada por la alimentación del insecto (tolerancia). Estos mecanismos pueden presentarse por separado o juntos, en diferentes proporciones (Holtkamp y Clift, 1993).

Se deben considerar a los cultivares resistentes como una herramienta útil dentro de un plan de manejo integrado de plagas de forma de asegurar la durabilidad de esta medida de control frente a la posibilidad de que surjan biotipos de pulgones resistentes al cultivar obtenido por mejoramiento (Sunnucks *et al.*, 1997; Van Emden, 2007; Dogimont *et al.*, 2010). A la hora de desarrollar un programa de mejoramiento es importante conocer con cierto detalle cómo actúan los mecanismos de resistencia en la planta que se pretende mejorar en relación al grupo de insectos sobre los cuales se pretende lograr un efecto a través de la planta mejorada. La antixenosis es la resistencia de la planta a ser colonizada por pulgones, y se comprueba por la alta proporción de pulgones alados que no permanecen en la planta y que se alejan de la misma (Van Emden, 2007). Ensayos realizados en Uruguay con pulgón azul muestran diferencias entre las leguminosas evaluadas (Rebuffo *et al.*, 2010).

Dentro de los mecanismos de resistencia, la antibiosis se refiere a las características relacionadas a la planta que afectan en forma negativa la multiplicación de los pulgones que la parasitan, a través de la reducción de la sobrevivencia, crecimiento y fecundidad (número de ninfas por hembra progenitora). Entre las características de la planta que presentan un efecto negativo sobre el desarrollo y reproducción de los pulgones se encuentran, la presencia de tricomas glandulares, toxinas y factores nutricionales (Van Emden, 2007).

Metodología

En el marco del proyecto INIA ANII FMV_1_2009_2065: “Herramientas sustentables para reducir pérdidas económicas por áfidos en trébol rojo en sistemas intensivos de producción” se realizaron entre otros, ensayos de antibiosis para poder avanzar en la comprensión de la relación insecto-leguminosa, desde el punto de vista del efecto de la planta hospedero sobre el desarrollo, reproducción y sobrevivencia del insecto.

Para ello se evaluó la antibiosis a pulgón azul, pulgón manchado, pulgón negro y *Nearctaphis bakeri* (Cowen) (pulgón del trébol). El experimento se realizó en tubos de ensayo con plántulas de alfalfa ‘Crioula’, trébol rojo (*Trifolium pratense* ‘Antares’), trébol blanco (*Trifolium repens* ‘Zapicán’), *Lotus corniculatus* ‘San Gabriel’ y *L. uliginosus* tetraploide ‘LE 205’, en INIA La Estanzuela (Colonia, Uruguay). Se instaló un pulgón en estadio de ninfa recién nacida, por plántula y se realizó conteo y remoción diaria de crías, permaneciendo la ninfa fundadora hasta su muerte.

Resultados

El pulgón manchado se desarrolló y reprodujo solamente sobre alfalfa presentando una tasa reproductiva de 4 ninfas/día en un período reproductivo promedio de 15 días. Tanto el pulgón azul como el pulgón negro lograron diferentes grados de sobrevivencia sobre las cinco leguminosas evaluadas. El pulgón azul sobrevivió por mayor tiempo en trébol rojo y alfalfa, mientras que el pulgón negro lo hizo por períodos similares en todas las leguminosas evaluadas (Figura 2).

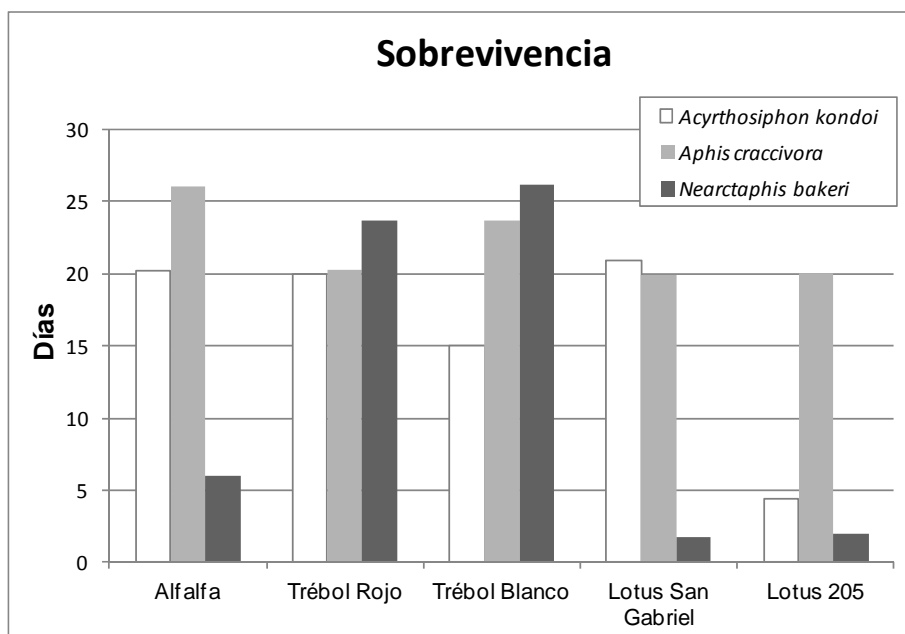


Figura 2. Sobrevivencia en días para cada especie de pulgón sobre cinco leguminosas.

En lo que se refiere a la reproducción, el pulgón negro logró generar descendencia en todas las leguminosas siendo más prolífico en alfalfa. El pulgón azul, se reprodujo en alfalfa, tréboles y Lotus 'San Gabriel', presentando la mayor tasa reproductiva sobre alfalfa y trébol rojo. Por otra parte, el pulgón del trébol se reprodujo en alfalfa y tréboles, presentando la mayor tasa reproductiva sobre trébol blanco (Figura 3).

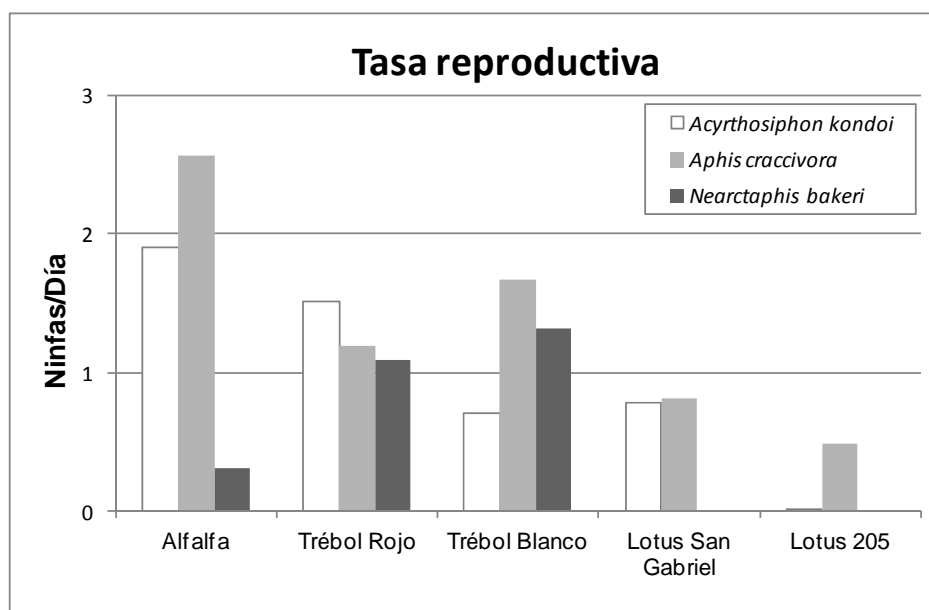


Figura 3. Tasa reproductiva expresada como ninfas/día para cada especie de pulgón sobre cinco leguminosas.

Conclusiones

Las cuatro especies de pulgón evaluadas presentaron diferentes comportamientos respecto a las cinco leguminosas evaluadas. Algunas especies como el pulgón negro mostraron menos especificidad por la planta hospedero, mientras que otras, como el pulgón manchado lograron sobrevivir y reproducirse solo en una especie vegetal.

Bibliografía

- Alzugaray, R. 1991. Guía para el reconocimiento y manejo de insectos en pasturas. INIA, Uruguay. Boletín de Divulgación, N° 10. 19p.
- Alzugaray, R.; Ribeiro, A. 2000. Insectos en pasturas. En: Zerbino, M. S. y Ribeiro, A. (eds). Manejo de plagas en pasturas y cultivos. La Estanzuela. INIA. Serie Técnica N° 112, p. 13-30.
- Bentancourt, C.; Scatoni, I.; Morelli, E. 2009. Insectos del Uruguay. Universidad de la República Facultad de Agronomía-Facultad de Ciencias, Montevideo. 658p.
- Blackman, R.L.; Eastop V.F. 1985. Aphids on the world's crops: An identification guide. John Wiley y Sons. Wiley- Interscience Publications. 466 p.
- Campbell, C.L. 1986. Quantifying clover yield losses due to virus diseases. En: Edwardson, J.R. y Christie, R.G. (eds). Viruses infecting forage legumes Vol. III, Monograph 14. Agricultural Experimental Station. University of Florida: Gainesville. p. 735-742.
- Carballo, R. 2001. Algunos aspectos a considerar en el manejo de áfidos en la producción de papa para semilla. En: Aldabe, L.; Aldabe, R.; Borde, J.; Carballo, R.; Curbelo, L.; De los Santos, M.; Díaz, L.;
- Gómez Etchebarne, C.; Fernández, D.; Maeso, D.; Molinelli, C.; Proto, A.; Verdier, E.; Vilaró, F.; Zink, R. Producción de semilla de papa en el Uruguay. PREDEG. p. 41-52.
- Dogimont, C.; Abdelhafid, B.; Chovelon, V.; Boissot, N. 2010. Host plant resistance to aphids in cultivated crops: Genetic and molecular bases, and interactions with aphid populations. Comptes rendus Biologies. CRASS3- 2912; 8 p..
- Fox, J.E.; Gullledge, J.; Engelhaupt, E.; Burow, M.E.; Mclachlan, J.A. 2007. Pesticides reduce symbiotic efficiency of nitrogen-fixing rhizobia and host plants. PNAS 104(24): 10282-10287.
- Harris, K. F. 1981. Arthropod and nematode vectors of plant viruses. Annual Review of Phytopathology 19: 391-426.
- Holman, J. 1974. Los áfidos de Cuba. Instituto Cubano del libro, La Habana. Ed. Organismos. 304 p.
- Holtkamp, R.H.; Clift, A.D. 1993. Establishment of three species of lucerne aphids on 24 cultivars of lucerne. Aust. J. Agric. Res. 44: 53-58.
- Lamp, W. O.; Berberet, R.C.; Higley, L.G.; Baird, C.R. 2007. Handbook of forage and rangeland insects. Entomological Society of America. 180 p.
- Minks, A.K.; Harrewijin, P. 1987. Aphids, their biology, natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam. 700 p.
- Nault, L.R. 1997. Arthropod transmission of plant viruses. Annals of the Entomological Society of America 90: 521-541.
- Nickel, J.L.; Sylvester, E.S. 1959. Influence of feeding time, stylet penetration, and developmental instar on the toxic effect of the spotted alfalfa aphid. Journal of Economic Entomology 52: 249.
- Rebuffo, M.; Alzugaray, R.; Cuitiño, M. 2010. Daño por pulgones y mecanismos de resistencia en leguminosas forrajeras perennes. p 83-96. En: Enfermedades y plagas en pasturas. Serie Técnica 183, INIA.
- Sunnucks, P.; Driver, F.; Brown, W.V.; Carver, M.; Hales, D.F.; Milne, W.M. 1997. Biological and genetic characterization of morphologically similar *Therioaphis trifolli* (Hemiptera: Aphididae) with different host utilization. Bulletin of Entomological Research 87: 425-436.
- Tjalingii, W.F. 2006. Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. Journal of Experimental Botany 57(4): 739-745.
- Van Emden, H.F. 2007. Host- plant resistance. En: Van Emden, H.F.; Harrington, R. (eds.) Aphids as crop pests. CAB International. p. 447-468.
- Van Emden, H.F.; Harrington, R. 2007. Aphids as crop pests. CAB International. 717 p.