

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

EVALUACIÓN DE ANTIXENOSIS DE *Schizaphis graminum* (Hemiptera:
Aphididae) EN CEBADA

por

Cintia Lucía TAGLIANI VEGA

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO
URUGUAY
2018

Tesis aprobada por:

Directora:

Ing. Agr. Mag. Silvana Abbate

Ing. Agr. Mag. Horacio Silva

Ing. Agr. Andrés Locatelli

Ing. Agr. Agustina Armand Pilon

Fecha:

10 de diciembre de 2018

Autora:

Cintia Lucía Tagliani Vega

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento está dedicado a la directora de tesis la Ing. Agr. Silvana Abbate por la orientación, el seguimiento continuo de la misma, y principalmente por la el apoyo moral a lo largo del trabajo e instancias de la carrera.

También un especial agradecimiento al Ing. Agr Horacio Silva, por la preocupación, confianza y apoyo durante la realización del trabajo.

A los Ing. Agustina Armand Pilón y Andrés Locatelli por su colaboración y apreciables aportes y disposición, junto al ayudante del laboratorio de entomología Señor Noel García.

Al personal de biblioteca de Facultad de Agronomía, Patricia Choca y Carol Guillemín por su disposición y ayuda a lo largo del trabajo.

Y sobre todo mi agradecimiento a mi familia por el apoyo incondicional durante toda la carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	V
 1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	 1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	2
2.1. EL CULTIVO DE CEBADA EN URUGUAY Y A NIVEL MUNDIAL.....	 2
2.2. LOS ÁFIDOS (HEMIPTERA: APHIDIDAE).....	2
2.3. IMPORTANCIA DE LOS ÁFIDOS EN LOS SISTEMAS AGRÍCOLAS PASTORILES DEL URUGUAY.....	 2
2.3.1. <u>Schizaphis graminum</u> (RONDANI). “Pulgón verde de los cereales”.....	 3
2.3.2. <u>Daños e importancia económica</u>	5
2.3.2.1 Medidas de manejo.....	5
2.3.3.2 Enemigos naturales.....	5
2.4. INTERACCIÓN INSECTO- PLANTA.....	6
 3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	 8
3.1. CRIA DE ÁFIDOS: <i>Schizaphis graminum</i>	8
3.2. MATERIALES VEGETALES.....	8
 4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	 12
 5. <u>CONCLUSIONES</u>	 17
 6. <u>RESUMEN</u>	 18
 7. <u>SUMMARY</u>	 19
 8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	 20

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Materiales de cebada evaluados en ensayos de antixenosis para el pulgón verde de los cereales	11
2. Genotipos resistentes	12

Figura No.	
1. Hembra áptera	4
2. Hembra alada.....	4
3. Plántulas de 84 genotipos de cebada.....	9
4. Método de libre elección de hospedero.....	9
5. Respuesta antixenótica de los 84 genotipos evaluados.....	13
6. Relación de parentesco entre los genotipos utilizados en base a 1000 SNPs aproximadamente	14

1. INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es un cultivo de gran importancia a nivel internacional, ocupando el cuarto lugar tanto en la producción como en el área sembrada de cereales en el mundo (Zhou, 2010). En Uruguay ocupa el segundo lugar en superficie sembrada de invierno luego del trigo (MGAP. DIEA, 2017). Su destino principal a nivel nacional es la producción de malta para la elaboración de cerveza. A lo largo de todo el ciclo del cultivo, la cebada es afectada por diversos agentes bióticos que provocan mermas de rendimiento.

Existen diversos factores sanitarios que afectan al cultivo de cebada, como los insectos plagas. Son una de las limitantes del cultivo. Lo áfidos o pulgones (Hemiptera: Aphididae) son insectos plaga que afectan directamente su productividad. Éstos son habituales en el sistema agrícola del Uruguay provocando pérdidas en el stand de plantas, afectando el área fotosintéticamente activa y la calidad del grano. Entre las especies presentes el pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*) puede ocasionar daños directos e indirectos en la cebada, provocando mermas del rendimiento del cultivo. La magnitud de las pérdidas varía en función del estado fenológico del cultivo al momento de la infestación, la presencia o no de enemigos naturales y la susceptibilidad o resistencia del material.

Entre las prácticas de manejo de control de plagas, el control químico es la más utilizadas por los productores, la cual presenta una serie de desventajas, presentando efectos negativos sobre los insectos benéficos, provocando contaminación ambiental y favoreciendo el surgimiento de poblaciones de individuos resistentes. La utilización de variedades resistentes aportaría una gran ventaja al sistema productivo del país, determinando la posibilidad de limitar la aplicación insecticida lo cual conllevaría a una menor presencia de residuos químicos en los alimentos y en el medio ambiente sin alterar el balance entre los insectos plaga y sus enemigos naturales. La identificación de germoplasma que presenten resistencia por antixenosis resulta primordial a la hora de seleccionar genotipos adaptados agrónomicamente al país.

El objetivo general de este trabajo es generar información para la identificación de genotipos de cebada resistentes a *Schizaphis graminum* con el fin de contribuir a un Manejo Integrado de Plagas (MIP) en dicho cultivo en Uruguay.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. EL CULTIVO DE CEBADA EN URUGUAY Y A NIVEL MUNDIAL

El cultivo de cebada cervecera (*Hordeum vulgare*) se encuentra ampliamente difundido en todo el mundo, ubicado en el cuarto lugar a nivel mundial en el área sembrada, después del trigo, el maíz y el arroz (Zhou, 2010). A nivel nacional es el segundo cultivo de invierno de importancia luego del trigo. En el año 2016 el área sembrada fue de 190.000 hectáreas aproximadamente con un rendimiento de 3.568 kg/ha en los últimos dos años (MGAP. DIEA, 2017).

En Uruguay la producción de cebada es destinada casi únicamente a la producción de malta, lo que determina que haya diversas restricciones en términos de requerimientos de calidad por parte de la industria. En este sentido, resulta fundamental contar con genotipos bien adaptados agrónomicamente para mantener la competitividad agrícola del cultivo, que sean capaces de expresar altas aptitudes en el malteo y tolerar diversos factores reductores del rendimiento durante su ciclo de desarrollo, como los insectos plaga.

2.2. LOS ÁFIDOS (HEMIPTERA: APHIDIDAE)

Los áfidos pertenecen al orden Hemiptera, suborden homóptera y familia Aphididae. Son insectos pequeños, de cuerpo blando y a menudo periforme. Presentan dos estructuras como principales rasgos, en el abdomen se encuentran un par de cornículos o sifones y una cauda. Los cornículos, son estructuras tubulares que se insertan dorso- lateralmente entre el quinto y sexto segmento abdominal, y la cauda es una prominencia media en el extremo del abdomen muy variable en su forma y con valor sistemático. Las antenas son largas de cuatro a seis segmentos. Viven en colonias sobre hojas y brotes tiernos de plantas herbáceas y leñosas (Bentancourt y Scatoni, 2010).

2.3. IMPORTANCIA DE LOS ÁFIDOS EN LOS SISTEMAS AGRÍCOLAS

Los áfidos causan daños directos e indirectos en los cultivos que afectan, provocando disminución del potencial de rendimientos. Los daños directos son ocasionados debido a la extracción de la savia de las plantas de las cuales se alimentan. Perforan el tejido epidérmico al introducir el estilete y a su vez inoculan saliva tóxica. Estos daños provocan clorosis, marchitamiento, manchas, disminución en los rendimientos. Dependiendo del biotipo del áfido de que se trate y el estado fenológico del cultivo hasta puede generar la muerte de las plantas. Al mismo tiempo generan daños indirectos cuando atacan el cultivo, ya que son transmisores o vectores de virus provocando enfermedades virósicas que hacen disminuir de rendimiento (Duggetti, 2012).

Los pulgones también pueden ser vectores de virus fitopatógenos, como el Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) y el Cereal Yellow Dwarf Virus (CYDV) quienes provocan respectivamente el enanismo de la planta y amarillamiento de las hojas en los cereales de invierno (Salvadori et al., 2009).

En el Uruguay los pulgones comenzaron a causar problemas en los cereales de invierno a partir de 1937, cuando se detectó la presencia de *Schizaphis graminum* (Silveira Guido y Conde, citados por Ribeiro et al., 2014). A partir del mismo año, en Argentina fue declarado plaga de la agricultura (Dughetti, 2012).

Hasta inicio de la década de los ochenta, tres especies de áfidos: *Sitobion avenae* (Fabricius), *Metopolophium dirhodum* y *Schizaphis graminum* dominaban en diferentes etapas del cultivo. Luego entre los años ochenta las poblaciones de pulgones se encontraban estabilizadas en niveles muy bajos de umbrales de daños económicos (UDE), debido a la presencia de enemigos naturales, los cuales muchos de ellos se introdujeron en los programas de control biológico clásico, realizados en Brasil, Argentina y Chile que luego colonizaron nuestro ambiente productivo (Ribeiro et al., 2014).

La adopción de la siembra directa fue acompañada de la aplicación en forma sistémica de insecticidas piretroide lo que determinó un incremento de las poblaciones de especies plaga tradicionales, así como también la aparición de otras especies que antes solo eran muy esporádicas debido a la eliminación de sus controladores biológicos (Ribeiro et al., 2014). Estas especies fueron: *Rhopalosiphum padi* (Linneo), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Bentancourt y Scatoni, 1999), presentes en toda la región agrícola del Uruguay, bajo ciertas condiciones ambientales (Salvadori, 2000) y en los últimos años se han encontrado *Sipha maidis* (Passerini) en el litoral Oeste uruguayo (Carballo, citado por Ribeiro et al., 2014).

2.3.1. *Schizaphis graminum* (RONDANI). “Pulgón verde de los cereales”

Schizaphis graminum es una especie cosmopolita difundida en todo el Uruguay que afecta cultivos de invierno tradicionales y algunas gramíneas silvestres. Este pulgón es considerado la principal plaga de los cultivos de avena y sorgo (Bentancourt y Scatoni, 2010).

Fue descrito por primera vez en Italia en 1852. Es considerada una plaga importante en todo el mundo que se encuentra presente en los cultivos de trigo, avena, cebada y centeno entre más de 60 especies de gramíneas (Wadley, Dhams et al., Daniels, citados por Cruz, 1986). El pulgón verde de los cereales afecta los cultivos desde la emergencia y a medida que la planta va creciendo se van estableciendo en el tallo y en las hojas más bajas (Salvadori et al., 2009).

Los pulgones adultos ápteros (figura No. 1) son de cuerpo pequeño, oval y alargado de color verde manzana brillante, presentan a lo largo del cuerpo una franja dorsal de color verde oscuro a verde azulada. Las antenas son de color oscuro y cortas pero superan a la mitad del cuerpo. Tanto ápteros como alados miden entre 1,3 a 2,1 mm (Dughetti et al., 2012).

Los adultos alados (figura No. 2) presentan la cabeza y el protórax de color castaño amarillento, el abdomen verdoso y resto del tórax negro (Ribeiro et al., 2014).



Figura No. 1. Hembra áptera



Figura No. 2. Hembra alada

Las poblaciones de *Schizaphis graminum* ocurren en mayor abundancia a fines de verano e inicio de otoño, poseen la facultad de reproducirse con temperaturas bajas y la misma inicia una o dos semanas posteriores al estado adulto, y en tres o cuatro semanas originan alrededor de sesenta a setenta descendientes (Bentancourt y Scatoni, 2010).

2.3.2. Daños e importancia económica

El pulgón verde se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial y es considerada plaga de importancia económica en cultivos de cereales en muchos países como Asia, África, Australia y en América (Johnson, Johnson et al., FPADT, citados por Cruz, 1986). En Uruguay es una especie cosmopolita que se encuentra difundida en todo el país. Se hospeda en avena, cebada, centeno, sorgo, trigo y otras gramíneas (Bentancourt y Scatoni, 2010).

Los daños generados por esta especie son directos al alimentarse de las hojas de la planta sobre las cuales produce marchitamiento debido a la extracción de la savia. Por otro lado, provoca daños indirectos al inyectar saliva toxicológica e inocular virus (Dughetti, 2012) Los síntomas observados al inicio son manchas pequeñas de color amarillas y pardas rojizas que luego se expanden quedando las hojas amarillentas, y esto se traduce en pérdida de vigor o la muerte de plantas (Bentancourt y Scatoni, 2010).

2.3.2.1. Medidas de manejo

En Uruguay, en la mayoría de los cultivos y pasturas de los sistemas agrícolas – pastoriles, los pulgones integran redes tróficas complejas, por lo cual el momento de realizar control químico debe ser preciso ya que puede afectar negativamente a sus controladores naturales (Ribeiro et al., 2014) y procurando utilizar productos selectivos.

Lo deseable es hacer un manejo integrado de plagas, combinando distintas mediadas de control y utilizando umbral de daño económico (UDE). El umbral de daño utilizado en Uruguay para *S. graminum*, es de 10% de plantas infestadas en el estado fenológico del cultivo, emergencia – macollaje. Este umbral es adaptado de los valores propuestos por EMBRAPA (2011) sobre el cultivo de trigo.

2.3.2.2. Enemigos naturales

Los áfidos presentan una amplia red de controladores naturales como parasitoides, predadores y hongos entomopatógenos. Ciertas especies de pulgones aparecen temprano en el ciclo de los cultivos, otorgándoles un importante rol en el mantenimiento de poblaciones de predadores ya que son la principal fuente de alimentación hasta que se presentan otras plagas en el sistema (Ribeiro et al., 2014).

Las principales especies parasitoides citadas en el país pertenecen a las familias Braconidae y Aphelinidae, los predadores más frecuentes corresponden a las familias Coccinelidae (Coleoptera), Syrphidae (Diptera), Chrysopidae (Neuroptera) y algunas chinches predadoras. Las especies de predadores más frecuentes asociadas a los áfidos son *Tropiconabis capsiformis* (Germar), *Orius tristicolor* (White) y *Orius insidiosus* (Say), *Eriopisconnexas* (Germar), *Chrysoperla externa* (Hagen) en cebada, avena, soja, alfalfa y campo natural (Ribeiro et al., 2014).

Los parasitoides de *Schizaphis graminum* de mayor incidencia en la región pertenecen la familia Aphididae (Stary 1993, Stary et al. 2007), *Aphidius colemani* y *Aphidius ervi* se han encontrado en Uruguay parasitando a este pulgón en cultivos de invierno (Ribeiro et al., 2014).

Los hongos entomopatógenos también considerados de importancia en el control de áfidos, causan epizootias que pueden disminuir la población de los mismos (Silva, 2016). Dado a las características del cuerpo de los áfidos (pequeño y blando), lleva a que sea fácil la penetración de hongos patógenos (Feng et al., 1992). Asociados a *Schizaphis graminum*, los hongos entomopatógenos mas destacados son: *Pandora neoaphidis* (Remaudière & Hennebert) Humber; *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko; y *Neozygites fresenii* (Nowakowski) Remaudière & Keller (Manfrino, 2004).

2.4. INTERACCIÓN INSECTO –PLANTA

En la actualidad, el control de plagas en los cultivos extensivos se basa casi exclusivamente en el control químico, lo cual trae aparejado una serie de problemas que determinan que esta práctica, de no ser complementada con otras estrategias de manejo, no sea sustentable, debido a los problemas ambientales que trae aparejada, como al efecto sobre organismos no blanco y generación de poblaciones de insectos resistentes.

Las plantas presentan distintos mecanismos que les permiten defenderse de los insectos (Kogan, 1975). El uso de variedades resistentes debe ser considerado en los planteos de MIP, ya que es una estrategia efectiva, que no afecta al medio ambiente (Castro et al., 1999). La identificación de variedades resistentes a diversas plagas, resulta indispensable para nutrir los programas de mejoramiento genético.

Painter (1951) clasificó los mecanismos de defensa en tres categorías: antixenosis (también llamada no preferencia), antibiosis y tolerancia. Una planta puede portar más de un mecanismo de resistencia lo cual su combinación tiene un efecto más benéfico que aquellos aportados de forma individual (Smith, 1989).

La antixenosis (no preferencia) es el mecanismo que lleva a los insectos a aceptar o rechazar una planta particular para la ovoposición, la alimentación o refugio, o una combinación de estos tres elementos (Painter, 1951).

La tolerancia es la capacidad de la planta de superar el ataque de un insecto. Crecer y reproducirse o compensar en cierta medida los daños causados por insectos plaga, sin que tenga una pérdida significativa de cantidad y calidad de su producción (Painter, 1951).

La antibiosis es el efecto adverso que ejerce la planta sobre la biología de los insectos, que ocurren cuando el mismo utiliza la planta para su alimentación. Afecta el ciclo, la fertilidad y la longevidad del individuo (Painter, 1951).

A nivel nacional, es limitada la información relacionada a la caracterización de variedades resistentes a insectos plaga. Zerbino y Ceretta (1991) evaluaron el comportamiento de diferentes híbridos de sorgo en relación a su capacidad de resistencia a *S. graminum*. Donde se observó que el crecimiento de la población no fue igual en todos los materiales, en algunos las lecturas fueron bajas y/o constantes y en otros el crecimiento fue muy rápido. Se consideró que lecturas de pulgones menores a 4 son materiales resistentes.

A nivel internacional, en Argentina entre el año 2004 y 2010 se realizó un estudio donde se caracterizó la resistencia a dicho pulgón en una población de líneas recombinantes doble haploide de cebada en base a la evaluación de antixenosis, antibiosis y tolerancia, pudiendo identificar genotipos resistentes (Tocho et al., 2012).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. CRÍA DE ÁFIDOS : *Schizaphis graminum*

La cría de áfidos fue iniciada a partir de ejemplares colectados de parcelas de avena del campo experimental Mario Cassinoni (EEMAC) de Facultad de Agronomía, durante el otoño. Las poblaciones fueron criadas y mantenidas sobre cebada susceptible (cultivar Danielle), en condiciones controladas de luz y temperatura ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 14 horas de fotoperiodo), en el laboratorio de la EEMAC.

La cría fue mantenida hasta lograr aproximadamente 1000 ninfas, número necesario para la evaluación de antixenosis. Para ellos periódicamente se sembraron plantas de cebada para reponer las plantas de la cría y se limpiaban las jaulas para mantener la cría saludable.

La obtención y el mantenimiento de un número de pulgones en la cría resultaban de fundamental importancia para poder realizar los diferentes ensayos.

3.2. MATERIAL VEGETAL

Para la realización de los ensayos, se sembraron 84 genotipos de cebada seleccionados a partir de variedades utilizadas en Uruguay, líneas avanzadas de los programas nacionales de mejoramiento (Facultad de Agronomía e INIA).

Los mismos se sembraron en tres tubos FalconTM (figura No. 3) para cada uno de los genotipos de modo de garantizar la obtención de al menos una planta por cada uno de los materiales genéticos a evaluar. Los tubos sembrados eran mantenidos en condiciones de luz y temperatura controladas, regados periódicamente y una vez emergidos las plántulas, se fertilizaron con un fertilizante líquido.

Se utilizó un diseño de bloques completos con 6 repeticiones en el tiempo, para poder realizar cada una de las repeticiones del ensayo se requería un mínimo de 1000 ninfas de pulgones, por lo tanto, dado la dificultad de obtener una cría tan numerosa, se debió utilizar un diseño de repeticiones en el tiempo, es decir realizar cada repetición en diferentes momentos.

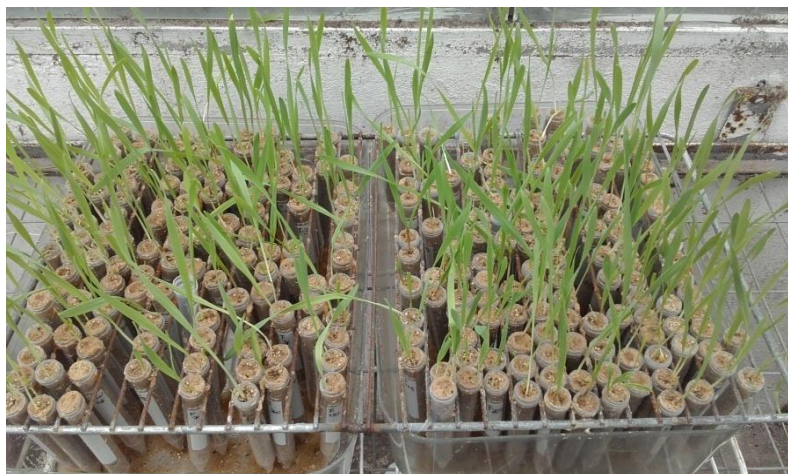


Figura No. 3. Plántulas de 84 genotipos de cebada

Cada repetición fue instalada cuando las plántulas de cebada alcanzaban las dos hojas totalmente expandidas. Posteriormente se colocaron aleatoriamente los tubos Falcon™ con cada uno de los genotipos de cebada en un recipiente de plástico circular de 60cm de diámetro, el cuál era rellenado con arena estéril (figura No. 4). De este modo cada plántula de cebada quedaba cubierta por arena a la misma altura, procurando tapar las extremidades de los tubos.



Figura No. 4. Método de libre elección de hospedero

La instalación de ensayo se realizó colocando aproximadamente 1000 ninfas de pulgones ápteros en el medio de la superficie de la circunferencia de arena. El recipiente era tapado con otro recipiente igual puesto de manera opuesta, procurando que las plantas queden erectas y que el experimento sea mantenido en condiciones de oscuridad.

De esta manera se elimina el efecto de la luz, que podría interferir a la hora de la elección de los pulgones.

Las mediciones se realizaron 24, 48 y 72 horas posteriores a la instalación, para lo cual se destapaba el recipiente y se contabilizaba la cantidad de pulgones que se observaban sobre cada uno de los genotipos de cebada.

Los datos de 6 repeticiones fueron analizados estadísticamente utilizando el Software R (R CRAN –project) con un paquete adicional multcomp, siguiendo un Modelo de Regresión Lineal Mixto (Bates et al., 2015) constituido de la siguiente manera:

$$\text{Modelo} = \text{lmer} (\text{Áfidos/planta} \sim \text{Genotipos} + (1|\text{Bloque}))$$

Donde la variable a evaluar fue el número de áfidos total por planta a las 48 horas de lectura, contando con un efecto fijo: 84 genotipos de cebada y un efecto aleatorio: 6 repeticiones.

Los genotipos evaluados en los ensayos de laboratorio se detallan en el cuadro No. 1.

Cuadro No. 1. Materiales de cebada evaluados en ensayos de antixenosis para el pulgón verde de los cereales *Schizaphis graminum*

Genotipos	
1.Ambev59	43. F92- ND19957
2.C9614	44. F93- ND1997
3. F2- Isaria	45. F101- ND19119
4. F5- Prior	46. F103- ND15403-3/ND16453
5. F8- Beka	47. F104- Alanda01
6. F11- Bido	48. F138- Carina
7. F15- Kenia	49. F153- Abay
8. F17- Plumage Archer	50. F155- Shishai
9. F18- Trumpf	51. F157- CLE240
10. F21- Perun	52. F159- CLE247
11. F23- Karl	53. F168- CLE 251
12. F24- Clipper	54. F170- CLE210
13. F25- Stirling	55. F171- Cerise
14. F26- Atlas 57	56. F172- URY Nursery
15. F27- Pirolina	57. F175- CLE246
16. F28- Maltería Heda	58. F183- CB9215
17. F29- Magnific102	59. F192- C97043
18. F31- Logan	60. F210- ND21990
19. F32- CLE 202/ INIA Ceibo	61. F228- Golondrina
20. F33- Ambev 488	62. F234- Gloria-Bar/Copal
21. F34- CLE 226	63. F240- Lignee640
22. F35- CLE 233/INIA Arrayán	64. F244- Rhodes/TB-B/Chz/3/Gloria-Bar/Copa
23. F39- MN610	65. F252- Trompillo-bar
24. F40- Br2	66. F259- Orosus
25. F44- Quilmes A.	67. F273- Jacinto
26. F46- MN 599	68. F288- Petunia1/Cali92//Bllu
27. F47- Bonita	69. F290- Tocte
28. F49- Quebracho	70. F296- Madre selva
29. F52- ND 10277	71. F304- Falcon-bar
30. F55- C9201	72. F305- Peregrin
31. F56- C9616	73. F308- Gobernadora
32. F59- C9046	74. F314- Recla112
33. F65- C9730	75. F316- Capuchona20
34. F68- C8828	76. F329- M104/Tocte
35. F70- C9528	77. F332- Legacy*2/5Ataco/Bermejo/Higo/3/CLN
36. F73- Scarlett	78. F343- Logan-bar//FCN I 2/Defra
37. F76- Harrington	79. F342- PFC9202/ Canela
38. F77- Bowman	80. F348- BR2/3Vanhals-Bar/Msel/Azaf/Glb24
39. F78- Norteña Carumbé	81. F356- La molina94
40. F79- Norteña Dayman	82. F358- BR Atahualpa
41. F88- ND 19848	83. F360- IBTA80
42. F86- ND 17293	84. O49

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La población de los 84 genotipos evaluados de cebada estuvo compuesta por variedades históricas comercializadas en Uruguay, líneas avanzadas de los programas nacionales de mejoramiento, ancestros comunes de variedades utilizadas a nivel nacional y fuentes de calidad maltera (INASE e INIA, 2017).

Se observó una amplia variabilidad en la respuesta antixenótica de los 84 genotipos evaluados, lo que resulta esperable al evaluar un número grande de materiales (Tocho et al., 2012). Dado que, a las 24 horas de evaluación, no todas las ninfas habían alcanzado una plántula y que a las 72 horas algunos individuos comenzaban a mudar, alcanzar el estado adulto y generar descendientes, se consideró que la evaluación de las 48 horas post-infestación estimaba con mejor precisión la respuesta de no preferencia o antixenosis.

Mediante el análisis estadístico de los resultados obtenidos a las 48 horas, se pudieron detectar diferencias significativas en la preferencia entre los 84 genotipos de cebada evaluados. Ocho genotipos presentaron en promedio un menor número de pulgones (p -valor $<0,06$) en relación al resto de los materiales evaluados (cuadro No. 2).

Cuadro No. 2. Genotipos resistentes

No. de genotipos	Genotipos	Media	P-Valor
1	F24: Clipper	3,8	0,0514
2	F44: Quilmes Ayelen	4,3	0,0546
3	F155: Shishai	4,3	0,0546
4	F157: CLE2400	4	0,0395
5	FONT159: CLE247	3,7	0,0281
6	F170: CLE210	4,3	0,0546
7	F343: F343	3,7	0,0281
8	O49: O49	4,2	0,0465

Test de Tuckey, p -valor $<0,06$

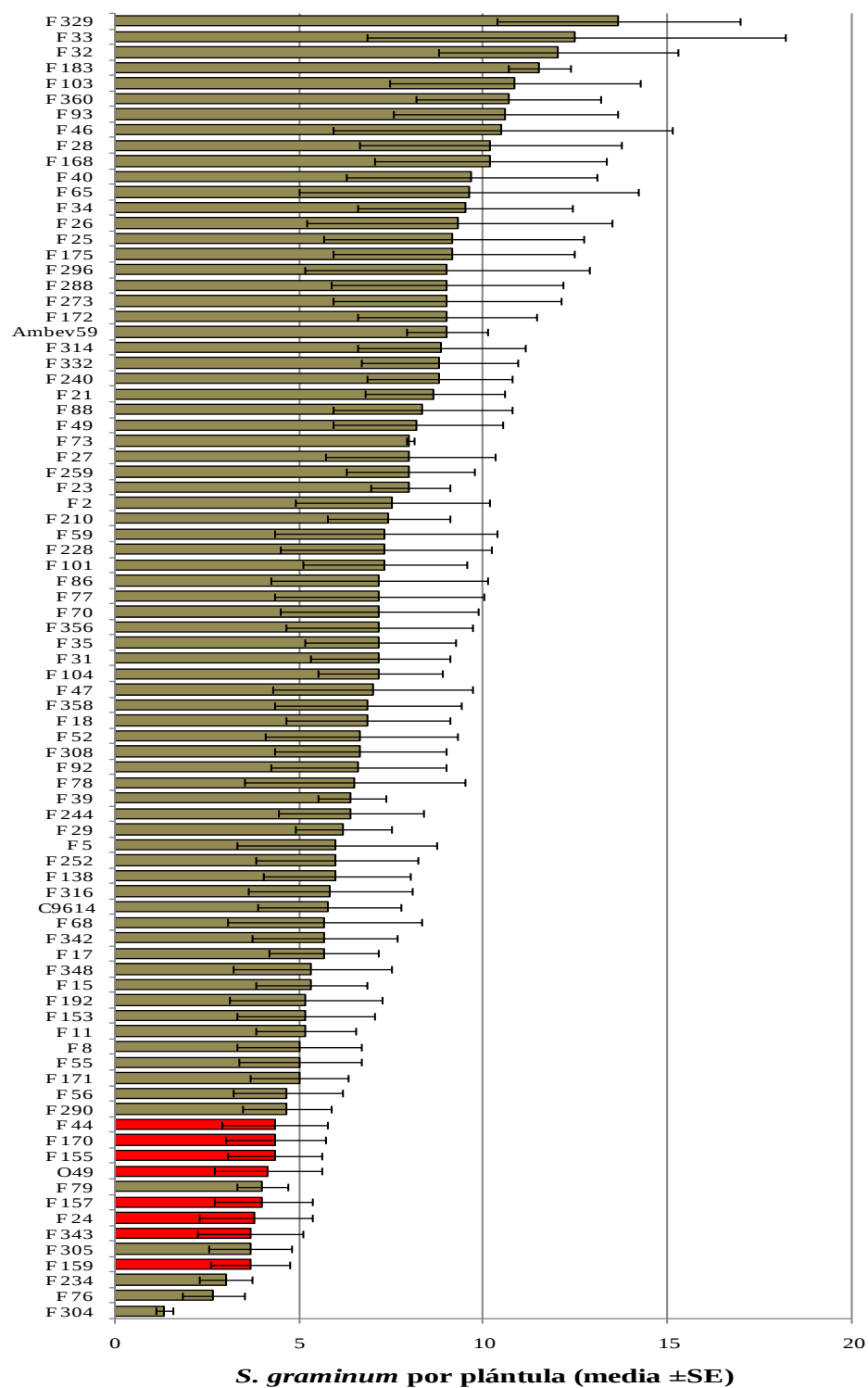


Figura No. 5. Respuesta antixenótica de los 84 genotipos evaluados

A las 48 horas post infestación, los genotipos que resultaron más susceptibles presentaron (en promedio de todos los ensayos) un número de hasta 13,7 individuos por plántula (figura No.5). En el otro extremo, los ocho materiales que presentaron resistencia registraron en promedio 4 ninfas por planta. En un ensayo similar, con la misma especie de áfido, Tocho et al. (2012) encontraron un promedio 11 individuos a las 24 horas en los materiales más preferidos y 4 individuos en las plántulas con menos preferencia. Sin embargo, el número de materiales que demostraron tener diferencias significativas atribuidas a la antixenosis fue muy superior (37 líneas), lo que demuestra la mayor variabilidad en este estudio.

Resulta interesante destacar que la población de genotipos evaluados incluía materiales o padres de materiales comercialmente utilizados en el país como: Scarlett, INIA Ceibo, INIA Arrayán, Norteña Carumbé, Norteña Dayman y Perun. Todos estos presentaron susceptibilidad al pulgón verde de los cereales.

Entre los materiales que presentaron resistencia por antixenosis, existe una fuerte influencia de germoplasma Australiano.¹ Según datos de parentesco en base a alrededor de 1000 SNPs, entre los ocho genotipos resistentes todos comparten más del 60% de las versiones alélicas para cada marcador (figura No.6). Esto podría explicarse por la composición de los materiales presentes en Uruguay. En otros trabajos en cereales de invierno y con áfidos, la expresión de antibiosis y antixenosis no se han asociado a orígenes o líneas parentales en particular (Saldúa y Castro, 2011).

Figura No. 6 .Relaciones de parentesco entre los genotipos utilizados en base a 1000 SNPs aproximadamente

F24	F44	F155	F157	F159	F170	F343	O49
F44	1	0.55	0.58	0.70	0.67	0.63	0.69
F155		1	0.56	0.53	0.52	0.62	0.56
F157			1	0.69	0.55	0.61	0.60
F159				1	0.65	0.58	0.68
F170					1	0.61	0.61
F343						1	0.63
O49							

A nivel internacional, la identificación de materiales de cebada con resistencia al pulgón verde de los cereales cuenta con muchos años (Webster e Inayatullah 1984, 1986), sin embargo la información a nivel nacional es muy limitada. Actualmente existe en el país una caracterización anual de cereales de invierno (trigo y cebada) en relación a su comportamiento sanitario, realizada por INIA e INASE, donde se detalla su

¹ Locatelli, A. 2018. Com. personal.

resistencia a las enfermedades más frecuentes. Pero no existe para Uruguay una caracterización del germoplasma utilizado en relación a su comportamiento hacia insectos plaga.

El método de libre elección del hospedero ha sido ampliamente utilizado en diversos ensayos de evaluación de respuesta antixenótica (Castro et al. 1994, 2001) En el presente ensayo se optó por realizarlo en condiciones de oscuridad, ya que Webster e Inayatullah (1988), determinaron que en los diferentes diseños de evaluación de antixenosis del *Schizaphis graminum* en cebada, la luz solar condicionaba la respuesta de los pulgones. Si bien al excluir la luz se evitan confundir el efecto de la luz con la respuesta antixenótica, esta situación no es la que realmente ocurre en el campo. En situaciones naturales los pulgones responden a un conjunto de señales que los guían hacia el hospedero deseado. Además, en general son las hembras aladas las que se encargan de colonizar los nuevos sitios de alimentación (Bentancourt y Scatoni, 2010). Se han identificado tres biotipos de *Schizaphis graminum* en Argentina (Noriega et al., 2000) y cada uno de ellos presenta diferencias en cuanto a su potencialidad como plaga en distintos cultivos. En Uruguay no se han determinado aún la presencia de diferentes biotipos. Esto dificulta la selección de un único conjunto de genotipos resistentes, ya que la variabilidad del áfido permanece desconocida (Condón et al., 2010).

La antixenosis no es el único mecanismo de defensa que presentan las plantas contra los insectos plaga, también pueden manifestarse respuestas de antibiosis o tolerancia (Painter, 1951). A nivel nacional, Cardozo y Meneses (2017) evaluaron la tolerancia a *S. graminum*, sobre ocho de los genotipos de cebada (Arrayán, Ceibo, Perún, Karl, F329, C9614 y AMBEV 59) y encontraron que todos los materiales presentaron el mismo peso seco de biomasa aérea en los tratamientos infestados en comparación con los testigos a excepción de F183. En el presente trabajo, estos mismos materiales fueron evaluados y no presentaron respuesta antixenótica, lo cual era predecible, ya que en general, cuando un genotipo presenta respuesta mediante un mecanismo de resistencia generalmente expresa en menor medida los otros mecanismos (tolerancia, antixenosis o antibiosis). Estos resultados indicarían que los diversos genotipos presentan estrategias de defensa diferencial y que la falta de respuesta de antixenosis no significa necesariamente que los materiales sean susceptibles al daño del pulgón.

Cabe destacar que dichos materiales utilizados por Cardozo y Meneses (2017), pertenecen al mismo germoplasma de cebada utilizado en el ensayo de antixenosis, lo cuales los genotipos tolerantes a *S. graminum* no presentaron respuesta antixenótica a esta especie en este trabajo.

En Argentina, existen trabajos con similares características al realizado por Cardozo y Meneses (2017), se identificó entre sus genotipos evaluadas diferentes niveles de tolerancia a *S. graminum* (Tocho et al., 2012). Estos materiales evaluados, sufrieron

significativamente bajas pérdidas de clorofila frente a la infestación, e incluso el contenido de muchas de ellas superó al de sus testigos.

La antixenosis y antibiosis son condiciones deseables para los materiales a campo y pueden ser objeto de selección, sin embargo a diferencia de la tolerancia, presentan una mayor presión de selección sobre las poblaciones de áfidos, y son formas de resistencia que pueden ser superadas en el largo plazo (Smith, 1989). El estudio de las diferentes formas de resistencia en los genotipos debe incluir experimentación en la mayor cantidad de fuentes de resistencia posible para evaluar a los mejores candidatos.

Durante muchos años, el proceso de selección de plantas por el hombre persiguiendo el objetivo del incremento del rendimiento y calidad del órgano a cosechar, se perdieron muchas defensas naturales de coevolución entre los vegetales y sus plagas (Bustamante y Patiño, 2001). La respuesta a esta situación a nivel productivo, ha sido la utilización de insecticidas, sin embargo la corta vida de muchos de estos productos y su conocido riesgo ambiental hace necesario buscar otras alternativas de manejo que resulten en estrategias de manejo de plagas sustentables. La información generada en este trabajo pretende ser un aporte a nivel nacional en este sentido.

5. CONCLUSIONES

Los resultados de la investigación permiten concluir que dentro de la población de genotipos de cebada (*H. vulgare*) evaluados existen líneas capaces de resistir al ataque de *Schizaphis graminum* por antixenosis (no preferencia), uno de los mecanismos de resistencia presentes en la planta. Lo que resulta relevante al momento de la elección de cultivar para la integración en los Programas de mejoramiento genético como en manejo integral de plagas (MIP).

Estos resultados estarían afirmando la hipótesis de trabajo planteada, basada en que existe genotipos menos preferidos por *S. graminum*, pero solamente ocho de los ochenta y tres materiales evaluados fueron considerados resistentes por antixenosis.

6. RESUMEN

La cebada (*Hordeum vulgare*) ocupa a nivel mundial el cuarto lugar tanto en producción como en área sembrada de cereales. En Uruguay es el segundo cultivo de importancia invernal. Existen diversos factores de restricción que influyen en rendimiento y calidad maltera. Entre éstos, el pulgón verde de los cereales *Schizaphis graminum*, se destaca por su gran potencial de daño. Este áfido genera importantes daños directos e indirectos durante el proceso de alimentación, al succionar fotoasimilados, inyectar saliva fitotóxica y transmitir virus. Durante el período de implantación, *S. graminum* es capaz de provocar la muerte de plántulas. Es por ello que resulta imprescindible contar con genotipos que sean capaces de tolerar/resistir el daño causado por este insecto plaga. La resistencia antixenótica al pulgón verde de los cereales ha sido registrada en diversos genotipos de cebada. La identificación de genotipos que presenten esta aptitud resultará de gran importancia para nutrir los programas de mejoramiento genético nacionales y minimizar el uso de insecticidas en dicho cultivo. El objetivo de este trabajo fue identificar dentro de una población heterogénea de cebada, genotipos resistentes a "*Schizaphis graminum*" con el fin de contribuir a un Manejo Integrado de Plagas (MIP) en dicho cultivo. Para ello se sembraron 83 genotipos de cebada en tubos de FalconTM, donde luego de llegar al estado de dos hojas completamente expandidas se dispusieron de manera aleatoria en un arena circular de 60 cm de diámetro. Se colocaron aproximadamente 1000 ninfas ápteras de *S. graminum* en el medio de la circunferencia y se mantuvieron en oscuridad durante 72 horas. Se utilizó el método de libre hospedero, evaluando el número de individuos por planta a las 24, 48 y 72 horas. Se realizaron 6 repeticiones las cuales se analizaron estadísticamente siguiendo un Modelo de Regresión Lineal Mixto. Ocho genotipos presentaron significativamente menor número de pulgones: Clipper, Quilmes Avelen, Shishai, CLE2400, CLE 247, CLE 210, FONT343 y O49. Estos materiales presentan en su genealogía un componente australiano. La identificación de genotipos con resistencia por antixenosis al pulgón verde de los cereales resulta de gran importancia a la hora de seleccionar materiales promisorios a incluir en el mejoramiento genético nacional. Hasta la fecha, la aptitud de los materiales genéticos en relación a su comportamiento hacia insectos plaga no es considerada y tampoco se encuentra disponible. La obtención de materiales comerciales de cebada resistentes al pulgón permitirá minimizar el daño de la plaga sin la necesidad de acudir al uso de insecticidas.

Palabras clave: Cebada; *Schizaphis graminum*; Antixenosis.

7. SUMMARY

The barley (*Hordeum vulgare* L.) occupies the fourth place in production as well as in cereal sown area. In Uruguay it is the second most important winter crop. There are several restriction factors that affect the performance and quality of the malt. Among these, the greenfly of cereals, *Schizaphis graminum*, stands out for its powerful harm potential. This aphid generates significant direct and indirect damage during the feeding process, by sucking photoassimilates, injecting phytotoxic saliva and transmitting viruses. During the implantation period, *S. graminum* is capable of causing the death of seedlings. That is why it is essential to have genotypes that are able to tolerate / resist the damage caused by this insect pest. The antixenotic resistance to the green aphid of the cereals has been registered in different genotypes of barley. The identification of genotypes that present this aptitude will be of great importance to nurture the national breeding programs and minimize the use of insecticides in this crop. The objective of this work was to identify, within a heterogeneous population of barley, genotypes resistant to "*Schizaphis graminum*" in order to contribute to Integrated Pest Management (IPM) in this crop. For this, 83 genotypes of barley were planted in Falcon™ tubes, where after reaching the state of two fully expanded leaves were randomly arranged in a circular sand of 60 cm in diameter. Approximately 1000 apterous nymphs of *S. graminum* were placed in the middle of the circumference and kept in darkness for 72 hours. The free host method was used, evaluating the number of individuals per plant at 24, 48 and 72 hours. Seven repetitions were made, which were analyzed statistically following a Mixed Linear Regression Model. Eight genotypes showed significantly fewer aphids: Clipper, Quilmes Avelen, Shishai, CLE2400, CLE 247, CLE 210, FONT343 and O49. These materials present an Australian component in their genealogy. The identification of genotypes with resistance for antixenosis to the green aphid of cereals is of great importance when selecting promissory materials to be included in the national genetic improvement. To date, the fitness of genetic materials in relationship to their behavior towards insect pests is not considered and is not available either.

Key words: Barley; *Schizaphis graminum*; Antixenosis.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Bates, D.; Maechler M.; Bolker, B.; Walker, S. 2015. lme4: linear Mixed Effects Models Using Eigen and S4. R package versión 1. (programa informático). San Francisco, USA, Github. s.p.
2. Bentancourt, C. M., Scatoni, I. B. 1999. Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay. Montevideo, Facultad de Agronomía. 207 p.
3. _____.; _____. 2010. Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay. 3ª. ed. Montevideo, Facultad de Agronomía. 581 p.
4. Bustamante, E.; Patiño, L. 2001. En búsqueda de un sistema de resistencia estable en plantas cultivadas. Manejo Integrado de Plagas. 60: 3-14.
5. Cardozo, I.; Meneses, L. 2017. Evaluación de tolerancia de cebada a *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae). Montevideo, Universidad de la República. 90 p.
6. Castro, A. M.; Martín, L. M.; Martín A.; Arriaga, H. O.; Tobes, N.; Almaraz, L. B. 1994. Screening for greenbug resistance in *Hordeum chilense* Roem et Schult. Plant Breeding. 112: 151-159.
7. _____.; Vasicek, A.; Ramos, S.; Worland, A.; Suarez, E.; Muñoz, M.; Giménez, D.; Clúa, A. 1999. Different types of resistance against greenbug, *Schizaphis graminum* Rond, and the Russian wheat aphid. *Diuraphis noxia* Mordvilko, in wheat. Plant Breeding. 118(2): 131-137.
8. _____.; Ramos, S.; Vasicek, A.; Worland, A.; Giménez, D.; Clúa, A.; Suárez, E. 2001. Identification of wheat chromosomes involved with different types of resistance against greenbug and Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Mordvilko). Euphytica. 118 (3): 321-330.
9. Condón, F.; Rebuffo, M.; Alzugaray, R.; Cuitiño, M. J. 2010. Mejoramiento genético de avena por resistencia al pulgón verde de los cereales. In: Altier, N.; Rebuffo, M.; Cabrera, K eds. Enfermedades y plagas en pasturas. Montevideo, INIA. pp. 97-104 (Serie Técnica no. 183).

10. Cruz, I. 1986. Resistencia de genotipos de sorgo ao pulgao-verde *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852); (Homoptera, Aphididae). Tese do título de Doutorem Ciencias- Área de Entomología. Sao Paulo, Brasil. Universidad de Sao Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”. 222 p.

11. Dughetti, A. 2012. Pulgones clave para identificar las formas ápteras que atacan a los cereales. (en línea). Buenos Aires, INTA Hilario Ascasubi. Estación Experimental Agropecuaria. 44 p. Consultado 11 jul. 2018. Disponible en http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Zoologia_Agricola/Manejo_Integrado/Material_Interes/Pulgones_clave_para_identificar_las_formas_apteras_que_atacan_cereales_by_dughetti_arturo_inta.pdf

12. Feng, M. G.; Nowierski R. M.; Johnson, J. B.; Poprawski, T. J. 1992. Epizootics caused by entomophthoralean fungi (Zygomycetes, Entomophthorales) in populations of cereal aphids (Homoptera, Aphididae) in irrigated small grains of southwestern Idaho, USA. (en línea). Journal of Applied Entomology. 113(1-5): 376-390. Consultado 9 mar. 2018. Disponible en https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao16_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=3704&p_r_p_-996514994_topicoId=1314

13. INASE; INIA (Instituto Nacional de Semillas, UY; Instituto Nacional de investigación agropecuaria, UY). 2017. Resultados experimentales de la evaluación Nacional de cultivares de cebada cervecera. (en línea). Colonia. 73 p. Consultado 20 jul. 2018. Disponible en http://www.inia.org.uy/convenio_inase_inia/Evaluacion_CI/Ano2017/PubCebadaPeriodo2017.pdf

14. Kogan, M. 1975. Plant resistance in pest management. In: Metcalf, R.; Luckmann, W. eds. Introduction to insect pest management. New York, Wiley. pp. 103-146 (Environmental science and technology).

15. Manfrino, R. G. 2014. Hongos entomophthorales patógenos de pulgones plaga de cultivos de cereales y hortícolas de la región pampeana de la Argentina. Estudios comparativos de la diversidad y prevalencia. Tesis por el título de Doctor en Ciencias Naturales. La Plata, Buenos Aires, Argentina. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. 173 p.

16. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias, UY). 2017. Encuesta agrícola primavera 2017. (en línea). Montevideo. 213 p. Consultado 12 jun. 2018. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/noticia/unidad-organizativa/oficina-de-programacion-y-politica-agropecuaria/2212-2017/diea-presento>.
17. Noriega, A.; Chidichimo, H.; Castro, A. 2000. Determinación de biotipos en tres poblaciones de pulgón verde colectados en tres localidades de importancia cerealera en Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía (La Plata), 104 (2): 85-92.
18. Painter, R. 1951. Insect resistance in crop plants. New York, McMillan. 520 p.
19. Ribeiro, A.; Silva, H.; Abbate, S. 2014. Manejo de plagas en trigo y cebada. Montevideo, Universidad de la República. CSIC. 62 p. (Biblioteca plural).
20. Saldúa, V.; Castro, A. 2011. Expresión de la antibiosis y de la antixenosis contra el pulgón negro de los cereales (*Sipha maydis*) en cultivares comerciales de trigos. Revista de la Facultad de Agronomía, (La Plata), 110 (1): 1- 11.
21. Salvadori, J. R. 2000. Pragas de trigo no Brasil. In: Guedes, J.; Dressler da Costa, I.; Castiglioni, E. eds. Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa María, Universidad Federal de Santa María. pp. 155-167.
22. _____.; Lau, D.; Valleda Silva, P. R. 2009. Cultivo de trigo. Pragas e métodos de controle. (en línea). Brasília, EMBRAPA Trigo. s.p. (Sistemas de producao no. 4). Consultado 11 jul. 2018. Disponible en https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=3704&p_r_p_-996514994_topicoId=1314
23. Silva, H. 2016. Descripción cuantitativa de una red trófica de tres niveles: leguminosas-áfidos-parasitoides y entomopatógenos. Tesis de Maestría. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 98 p.

24. Smith, C. 1989. Plant resistance to insects: a fundamental approach. New York, Wiley. 286 p.
25. Stary, P. 1995. The Aphididae of Chile (Hymenoptera, Ichneumonoidea, Aphididae). Deutsche Entomologische Zeitschrift 42(1):113 - 138.
26. _____.; Sampaio, M.; Bueno, V. H. 2007. Aphid parasitoids (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) and their associations related to biological control in Brazil. Revista Brasileira de Entomologia 51(1): 107-118.
27. Tocho, E. F.; Marinode Remes Lenicov, A. M.; Castro, A. M. 2012. Evaluación de la resistencia a *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae) en cebada. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina. 71 (1-2): 1-10.
28. Webster, J.; Inayatullah, C. 1984. Greenbug (Homoptera : Aphididae) resistance in triticale. Environmental Entomology. 13: 444-447.
29. _____.; _____. 1986. Susceptibility of “long” wheat to biotype Breengug (homoptera: Aphididae). Environmental Entomology. 15: 700-702.
30. _____.; _____. 1988. Assessment of experimental designs for greengug (Homoptera: Aphididae) Antixenosis test. Journal of Economic Entomology. 81 (4): 1246-1250.
31. Zerbino, M.; Ceretta, S. 1991. El pulgón de los cereales *Schizaphis graminum* en sorgo. Montevideo, INIA. 3 p. (Hoja de divulgación no.12).
32. Zhou, M. X. 2009. Barley production and consumption. (en línea). In: Zhang, G.; Li, C. eds. Genetics and Improvement of Barley Malt Quality. Berlin, Springer. pp. 1-17. Consultado 10 set. 2018. Disponible en <https://www.springer.com/gp/book/9783642012792>.