



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

**TESIS DOCTOR EN AGRONOMÍA**

**Alternativas de manejo de áfidos limitantes de  
la producción de alfalfa en el Sudoeste  
bonaerense**

**Ing. Agr. Jorge Alejandro Jose Bizet Turovsky**

**BAHIA BLANCA**

**ARGENTINA**

**2018**





**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

**TESIS DOCTOR TESIS DOCTOR EN AGRONOMÍA**

**Alternativas de manejo de áfidos limitantes de  
la producción de alfalfa en el Sudoeste  
bonaerense**

**Ing. Agr. Jorge Alejandro Jose Bizet Turovsky**

**BAHIA BLANCA**

**ARGENTINA**

**2018**

## Prefacio

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Agronomía durante el período comprendido entre Junio de 2013 y Septiembre de 2018 bajo la dirección de la Dra. Lilian René Descamps.

Ing. Agr. Jorge Alejandro Jose Bizet Turovsky



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el...../...../....., mereciendo la calificación la de.....(.....)

## Agradecimientos

Dar las gracias es la tarea más sencilla y simple, pero resulta ser la más compleja de todas, no por el hecho de no estar agradecido sino por no saber por dónde empezar.

Los primeros pasos que me llevaron a este momento fueron a ciegas, por un camino lleno de dudas que fueron despejadas por dos personas que me guiaron y acompañaron sin nada a cambio a lo largo de estos seis años. No habrá nunca ningún escrito que pueda condensar o contemplar lo que siento en este momento y que resuma lo agradecido que estoy.

A la primera persona que tengo agradecer es a Lilian Descamps. Lili durante este tiempo no fuiste una directora que estaba dirigiendo a un discípulo en su tesis doctoral, fuiste, sos y serás mucho más que eso. Lo que me ayudaste no tiene precio, dándome palabras de aliento, marcándome el rumbo a seguir e indicándome que hacer para ir mejorando. Siempre me sentí apoyado y valorado en momentos en que ni yo tenía esa confianza en mí. Esta tesis no solo es mía, es nuestra, y te estaré eternamente agradecido.

La segunda persona fundamental en esta tesis fue Carolina Sánchez Chopa. Caro, no solo fuiste una compañera de trabajo, durante este tiempo te transformaste en la codirectora encubierta de esta tesis. Te comprometiste en este proyecto haciéndolo tuyo también. Participaste y te involucraste en cada aspecto mejorando de manera sustancial esta tesis.

También tengo que agradecer a todas las personas que de algún u otro modo me han acompañado durante esta etapa y, entre ellas, a Veronica Misler por ayudarme con la redacción en inglés y a Silvia Frayssinet por indicarme lo que era mejor para mí.

A mis amigos que, sin darnos cuenta, empezamos juntos el desafío de iniciar un posgrado.

Y, por último, a mi familia que me apoyo durante este tiempo.

## Resumen

---

A pesar de los beneficios a corto plazo que se obtienen al utilizar insecticidas sintéticos convencionales para el control de plagas agrícolas, su uso continuo puede generar varios problemas a largo plazo (contaminación ambiental, eliminación de entomofauna benéfica, selección de individuos resistentes y daños a la salud humana). Esta situación lleva a una búsqueda permanente de métodos alternativos de control. En la presente Tesis se analizó la resistencia de cultivares de *Medicago sativa* L., la actividad insecticida, el efecto sobre la reproducción y la actividad repelente de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* Labill. y de *Mentha x piperita* L. en adultos de *Acyrtosiphon pisum* H., *Aphis craccivora* K. y *Therioaphis trifolii* M. (Hemiptera: Aphididae).

En 23 cultivares de *M. sativa* se evaluaron la resistencia por antixenosis y por antibiosis y la tolerancia. Los cultivares ACA 605, Brava y CW 194 resultaron antixenóticos. Los cultivares CW 194, CW 1010, EBC 90, Pampa Flor, Sirosal y Venus, poseen resistencia por antibiosis. Finalmente, Carmina, CW 194, CW 830 y SPS 6550 fueron altamente tolerantes al ataque de estos áfidos.

La actividad insecticida de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* se evaluó a través de ensayos de inmersión propuestos por la FAO y por exposición a hojas tratadas. Los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* producen toxicidad por inmersión y por contacto.

El efecto subletal de los aceites esenciales fue evaluado utilizando el método de inmersión de hoja. Ambos aceites disminuyeron la progenie en las tres especies de áfidos evaluadas.

Por otra parte, el efecto repelente se analizó mediante una prueba de elección foliar. Ambos aceites produjeron un efecto repelente en adultos de *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii*.

En consecuencia, los cultivares resistentes y los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* tienen una potencial aplicación como herramientas dentro del manejo integrado de plagas.

## Abstract

---

Although the use of synthetic insecticides is really advantageous for the control of agricultural pests at short periods, their continuous use can generate several long-term problems (environmental contamination, elimination of beneficial entomofauna, generation of resistance and damage to human health).

This situation leads to a permanent search for alternative methods of control. In this thesis were assessed the resistance of cultivars of *Medicago sativa* L., the insecticidal activity, the effect on the reproduction and the repellent activity of essential oils of *Eucalyptus globulus* Labill. and *Mentha x piperita* L. on adults of *Acyrtosiphon pisum* H., *Aphis craccivora* K. and *Therioaphis trifolii* M. (Hemiptera: Aphididae).

Twenty-three cultivars of *M. sativa* were evaluated for their antixenosis and antibiosis resistance and tolerance. Cultivars ACA 605, Brava and CW 194 were antixenotic. Cultivars CW 194, CW 1010, EBC 90, Pampa Flor, Sirosal and Venus, had resistance by antibiosis. Finally, Carmina, CW 194, CW 830 and SPS 6550 were highly tolerant to the attack of these aphids.

The insecticidal activity of both essential oils was evaluated through two methods: toxicity by immersion using the FAO dip test protocol and exposition to a pretreated leaf. Essential oils of *E. globulus* and *M. x piperita* produced toxicity by immersion and by contact.

The sublethal effect of essential oils on reproduction was evaluated using the leaf-dipping method. Both essential oils decreased progeny production of all the three aphid species evaluated.

On the other hand, the repellent effect was analyzed by foliar choice test. Both oils produced a repellent effect on adults of *A. pisum*, *A. craccivora* and *T. trifolii*.

Therefore, *M. sativa* resistance cultivars and essential oils of *E. globulus* and *M. x piperita* have potential applications for integrated management of this pest.

## Índice General

---

<b>Prefacio</b> .....	I
<b>Agradecimientos</b> .....	II
<b>Resumen</b> .....	III
<b>Abstract</b> .....	V
<b>Índice General</b> .....	VII
<b>Índice de Figuras</b> .....	XI
<b>Índice de Tablas</b> .....	XIV
<b>Capítulo 1</b> .....	1
<b>Introducción General</b> .....	2
1.1. – Retos de la agricultura en el siglo XXI.....	2
1.2. – <i>Medicago sativa</i> L.....	3
1.2.1. – Posición sistemática y clasificación taxonómica.....	3
1.2.2. – Centro de origen.....	5
Lámina 1.1. Descripción botánica de <i>Medicago sativa</i> L.....	6
1.2.3. – Variedades.....	7
1.2.4. – Grado de reposo invernal.....	8
1.2.5. – Superficie sembrada.....	8
1.2.6. – Importancia del cultivo.....	9
1.2.7. – Usos.....	10
1.2.8. – Usos alternativos.....	10
1.2.9. – Requerimientos.....	11
1.2.10. – Plagas limitantes.....	12
1.3. – Áfidos.....	13
Lámina 1.2. <i>Acyrtosiphon pisum</i> Harris.....	16
Lámina 1.3. <i>Aphis craccivora</i> Koch.....	17
Lámina 1.4. <i>Therioaphis trifolii</i> Monell.....	18
Lámina 1.5. Listado de especies hospederas de los áfidos <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>T. trifolii</i> en Argentina.....	19

1.3.1. – Posición sistemática y clasificación taxonómica de los áfidos.....	20
1.3.2. – Aparato bucal.....	23
1.3.3. – Daños .....	25
1.3.4. – Virosis.....	26
1.3.5. – Reproducción.....	27
1.4. – Manejo Integrado de Plagas .....	28
1.4.1. – Manejo Integrado de Plagas en <i>M. sativa</i> .....	29
1.4.1.1. – Control biológico .....	30
1.4.1.2. – Control cultural .....	31
1.4.1.3. – Control genético.....	32
1.4.1.4. – Control químico .....	33
1.5. – Hipótesis general.....	35
1.6. – Objetivos generales .....	36
<b>Capítulo 2.....</b>	<b>37</b>
<b>Resistencia vegetal a insectos plaga .....</b>	<b>38</b>
2.1. – Historia de la resistencia.....	38
2.2. – Definición de resistencia .....	39
2.3. – Resistencia por antixenosis .....	41
2.3.1 – Introducción.....	41
2.3.2. – Selección de las hospederas.....	42
2.3.2.1. – Color .....	42
2.3.2.2. – Compuestos volátiles .....	43
2.3.2.3. – Tricomas .....	44
2.3.2.4. – Ceras .....	45
2.3.2.5. – Aleloquímicos .....	46
2.3.2.6. – Impedimentos físicos .....	47
2.3.2.7. – Necrosis local.....	47
2.3.3. – Hipótesis .....	48
2.3.4. – Objetivo .....	48
2.3.5. – Materiales y Métodos .....	48
2.3.5.1. – Insectos .....	48

2.3.5.2. – Material vegetal .....	49
2.3.5.3. – Ensayo de resistencia por antixenosis.....	49
2.3.6. – Resultados.....	50
2.3.7. – Discusión .....	55
2.4. – Resistencia por antibiosis .....	60
2.4.1 – Introducción.....	60
2.4.2. – Mecanismos de la resistencia por antibiosis.....	60
2.4.2.1. – Tricomas .....	61
2.4.2.2. – Aleloquímicos .....	61
2.4.2.3. – Nivel nutricional de las plantas.....	63
2.4.2.4. – Aminoácidos no proteicos.....	64
2.4.3. – Parámetros demográficos y poblacionales.....	64
2.4.4. – Hipótesis .....	65
2.4.5. – Objetivo .....	65
2.4.6. – Materiales y Métodos .....	65
2.4.7. – Resultados.....	67
2.4.8. – Discusión .....	83
2.5. – Tolerancia.....	86
2.5.1 – Introducción.....	86
2.5.2. – Hipótesis .....	88
2.5.3. – Objetivo .....	88
2.5.4. – Materiales y Métodos .....	88
2.5.5. – Resultados.....	89
2.5.6. – Discusión .....	93
<b>Capítulo 3.....</b>	<b>97</b>
<b>Aceites esenciales.....</b>	<b>98</b>
3.1. – Insecticidas de origen vegetal.....	98
3.2. – Aceites esenciales.....	101
3.2.1. – <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. ....	103
3.2.1.1. – Posición sistemática y clasificación taxonómica.....	103
Lámina 3.1. Descripción botánica de <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.....	105

3.2.1.2. – Propiedades, usos etnomedicinales e industriales del aceite de <i>E. globulus</i> .....	106
3.2.1.3. – Bioactividad del aceite de <i>E. globulus</i> en artrópodos plaga ..	107
3.2.2. – <i>Mentha x piperita</i> L. ....	111
3.2.2.1. – Posición sistemática y clasificación taxonómica .....	112
Lámina 3.2. Descripción botánica de <i>Mentha x piperita</i> L. ....	114
3.2.2.2. – Propiedades, usos etnomedicinales e industriales del aceite de <i>M. x piperita</i> .....	115
3.2.2.3. – Bioactividad del aceite de <i>M. x piperita</i> en artrópodos plaga	116
3.2.3. – Hipótesis .....	120
3.2.4. – Objetivos.....	120
3.2.5. – Materiales y Métodos .....	121
3.2.5.1. – Insectos .....	121
3.2.5.2. – Material vegetal .....	121
3.2.5.3. – Aceites esenciales .....	122
3.2.5.4. – Bioensayos .....	123
3.2.5.4.a. – Toxicidad por inmersión .....	123
3.2.5.4.b. – Toxicidad por contacto .....	124
3.2.5.4.c. – Efectos sobre la reproducción .....	124
3.2.5.4.d. – Repelencia.....	125
3.2.6. – Resultados.....	126
3.2.6.1. – Toxicidad por inmersión .....	126
3.2.6.2. – Toxicidad por contacto .....	131
3.2.6.3. – Efectos sobre la reproducción.....	135
3.2.6.4. – Repelencia.....	141
3.2.7. – Discusión .....	147
<b>Capítulo 4</b> .....	153
<b>Conclusiones finales y perspectivas</b> .....	154
<b>Bibliografía</b> .....	158

## Índice de Figuras

---

1.1. <i>Medicago sativa</i> .....	6
1.2. Hojas.....	6
1.3. Inflorescencia.....	6
1.4. Frutos.....	6
1.5. Hembra áptera de <i>A. pisum</i> .....	16
1.6. Hembra alada de <i>A. pisum</i> .....	16
1.7. Hembra áptera de <i>A. craccivora</i> .....	17
1.8. Hembra alada de <i>A. craccivora</i> .....	17
1.9. Hembra áptera de <i>T. trifolii</i> .....	18
1.10. Hembra alada de <i>T. trifolii</i> .....	18
1.11. Filogenia de la superfamilia Aphidoidea.....	22
2.1. Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) de <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y de <i>T. trifolii</i> en diferentes cultivares de <i>M. sativa</i> .....	74
2.2. Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) de <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y de <i>T. trifolii</i> en diferentes cultivares de <i>M. sativa</i> .....	75
2.3. Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) de <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y de <i>T. trifolii</i> en diferentes cultivares de <i>M. sativa</i> .....	76
2.4. Curvas teóricas de crecimiento poblacional de <i>A. pisum</i> sobre los cultivares de <i>M. sativa</i> .....	78
2.5. Curvas teóricas de crecimiento poblacional de <i>A. craccivora</i> sobre los cultivares de <i>M. sativa</i> .....	80
2.6. Curvas teóricas de crecimiento poblacional de <i>T. trifolii</i> sobre los cultivares de <i>M. sativa</i> .....	82
2.7. Porcentaje de disminución de peso seco (DPS) de los cultivares de <i>M. sativa</i> frente al áfido <i>A. pisum</i> .....	90
2.8. Porcentaje de disminución de peso seco (DPS) de los cultivares de <i>M. sativa</i> frente al áfido <i>A. craccivora</i> .....	91
2.9. Porcentaje de disminución de peso seco (DPS) de los cultivares de <i>M. sativa</i> frente al áfido <i>T. trifolii</i> .....	92

3.1. <i>Eucalyptus globulus</i> .....	105
3.2. Hojas y Flores.....	105
3.3. Frutos.....	105
3.4. Hojas de <i>Mentha x piperita</i> .....	114
3.5. Inflorescencia.....	114
3.6. Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre los áfidos <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>T. trifolii</i> durante la primera hora.....	129
3.7. Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre los áfidos <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>T. trifolii</i> durante las primeras 6 horas.....	130
3.8. Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre los áfidos <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>T. trifolii</i> durante las primeras 24 horas.....	130
3.9. Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre los áfidos <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>T. trifolii</i> a las 24 horas.....	133
3.10. Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre los áfidos <i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>T. trifolii</i> a las 48 horas.....	134
3.11. Promedio de ninfas paridas por día de <i>A. pisum</i> en plantas de <i>M. sativa</i> tratadas con los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> .....	135
3.12. Curva teórica de crecimiento poblacional de <i>A. pisum</i> en plantas de <i>M. sativa</i> tratadas con los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> .....	136
3.13. Promedio de ninfas paridas por día de <i>A. craccivora</i> en plantas de <i>M. sativa</i> tratadas con los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> .....	137
3.14. Curva teórica de crecimiento poblacional de <i>A. craccivora</i> en plantas de <i>M. sativa</i> tratadas con los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> .....	138
3.15. Promedio de ninfas paridas por día de <i>T. trifolii</i> en plantas de <i>M. sativa</i> tratadas con los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> .....	139

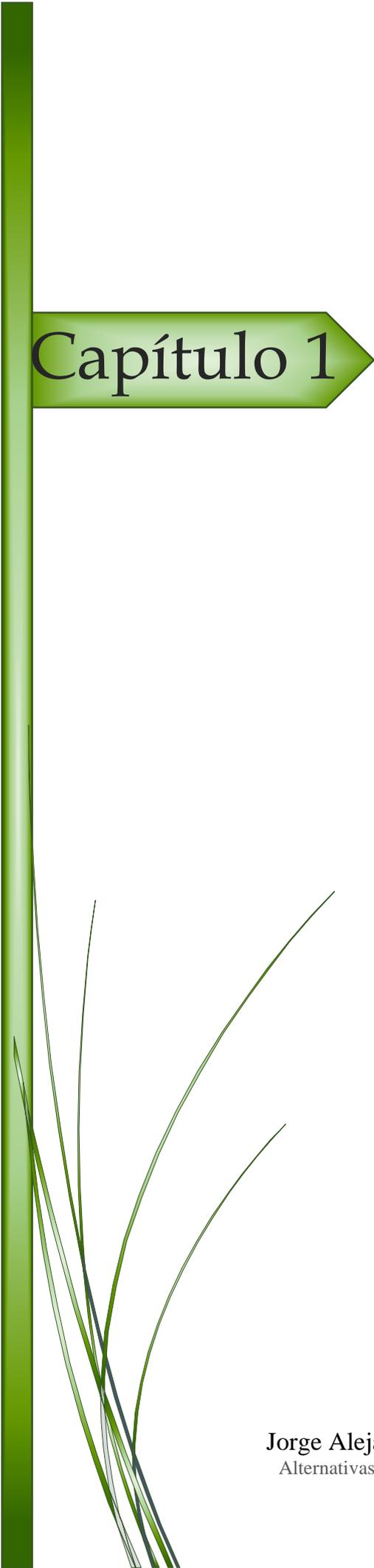
3.16. Curva teórica de crecimiento poblacional de <i>T. trifolii</i> en plantas de <i>M. sativa</i> tratadas con los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> .....	140
3.17. Actividad repelente del aceite esencial de <i>E. globulus</i> durante las primeras 24 horas.....	144
3.18. Actividad repelente del aceite esencial de <i>E. globulus</i> a las 48 horas.....	145
3.19. Actividad repelente del aceite esencial de <i>M. x piperita</i> durante las primeras 24 horas.....	146
3.20. Actividad repelente del aceite esencial de <i>M. x piperita</i> a las 48 horas. ....	147

## Índice de Tablas

---

1.1. Especies de áfidos halladas en pasturas de <i>M. sativa</i> en distintos países del mundo. ....	14
1.2. Listado de virosis observadas en <i>M. sativa</i> y sus respectivos vectores. ....	27
1.3. Controladores biológicos de áfidos plaga de <i>M. sativa</i> . ....	31
1.4. Insecticidas sintéticos utilizados para el control de áfidos plaga de <i>M. sativa</i> en distintos países del mundo. ....	34
2.1. Número de adultos de <i>A. pisum</i> presentes en cultivares de <i>M. sativa</i> . ....	51
2.2. Número de adultos de <i>A. craccivora</i> presentes en cultivares de <i>M. sativa</i> . ....	52
2.3. Número de adultos de <i>T. trifolii</i> presentes en cultivares de <i>M. sativa</i> . ....	54
2.4. Correlación del número de áfidos por cultivar entre las 24 y 48 horas para cada especie. ....	55
2.5. Correlación del número de áfidos por cultivar entre especies a las 24 horas. ....	55
2.6. Correlación del número de áfidos por cultivar entre especies a las 48 horas. ....	55
2.7. Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de <i>A. pisum</i> en diferentes cultivares de alfalfa. ....	68
2.8. Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de <i>A. pisum</i> en diferentes cultivares de alfalfa. ....	69
2.9. Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de <i>A. craccivora</i> en diferentes cultivares de alfalfa. ....	70
2.10. Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de <i>A. craccivora</i> en diferentes cultivares de alfalfa. ....	71
2.11. Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de <i>T. trifolii</i> en diferentes cultivares de alfalfa. ....	73
3.1. Composición del aceite esencial de <i>E. globulus</i> . ....	122
3.2. Composición del aceite esencial de <i>M. x piperita</i> . ....	123
3.3. Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>A. pisum</i> . ....	126

3.4.	Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>A. craccivora</i> . .....	127
3.5.	Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>T. trifolii</i> . .....	128
3.6.	Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>A. pisum</i> . .....	131
3.7.	Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>A. craccivora</i> . .....	132
3.8.	Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>T. trifolii</i> . .....	132
3.9.	Actividad repelente de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>A. pisum</i> . .....	141
3.10.	Actividad repelente de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>A. craccivora</i> . .....	142
3.11.	Actividad repelente de los aceites esenciales de <i>E. globulus</i> y de <i>M. x piperita</i> sobre <i>T. trifolii</i> . .....	143



# Capítulo 1

**Jorge Alejandro Jose Bizet Turovsky**

Alternativas de manejo de áfidos limitantes de la producción de  
alfalfa en el Sudoeste bonaerense

# Introducción General

---

## 1.1. – Retos de la agricultura en el siglo XXI

La agricultura del siglo XXI se enfrenta a múltiples retos, tiene que producir más alimentos y fibras a fin de satisfacer a una población creciente que incrementará en más de un tercio para el año 2050 (FAO, 2009).

La nueva demanda de productos agrícolas ejercerá, por lo tanto, una presión creciente sobre los ya escasos recursos (FAO, 2016a). La agricultura se verá forzada a competir por las tierras y el agua, pero además tendrá otros importantes frentes: deberá adaptarse al cambio climático, contribuir a la mitigación del mismo, ayudar a preservar los hábitats naturales y a conservar la biodiversidad (FAO, 2009). En este contexto, es fundamental un cambio que garantice la permanencia de los recursos naturales y satisfaga las necesidades básicas de la población. Este cambio deberá inscribirse en transformaciones relativas a la sociedad y relacionarse con el manejo y utilización de los recursos naturales (FAO, 1995). El desarrollo sustentable obedece a la idea básica de satisfacer las necesidades de la sociedad actual sin comprometer la estabilidad futura (Brundtland, 1987).

Una de las maneras de mitigar los desequilibrios producidos en el medio ambiente agrícola es mantener la cobertura vegetal, lo que podría incluir la rotación de cultivos con presencia de leguminosas (García, 2003; Ramírez Rubio *et al.*, 2009). Para el año 2016 la Organización de las Naciones Unidas (ONU) propuso el Año Internacional de las Leguminosas, reconociendo el papel fundamental que juegan en la adaptación al cambio climático, la salud humana y el suelo (FAO, 2016b). El empleo de pasturas plurianuales con leguminosas en la rotación con

cultivos de granos ha tenido en las últimas décadas una adopción masiva (Díaz Roselló, 1991; Forján & Manso, 2016). Los sistemas de producción basados en el cultivo de pasturas contribuyen a mantener la biodiversidad, proteger a los polinizadores y a otros artrópodos del suelo, como así también, a las especies de aves y mamíferos que conviven en los ecosistemas agrícolas (Putnam *et al.*, 2001). La leguminosa, *Medicago sativa* conocida vulgarmente como “alfalfa” es una forrajera de fundamental importancia para recuperar las propiedades edáficas perdidas en la fase agrícola. Introducirla en la rotación de cultivos reduciría la infestación de malezas, la presencia de enfermedades y el ataque de plagas (Maxted & Bennett, 2001).

## **1.2. – *Medicago sativa* L.**

### **1.2.1. – Posición sistemática y clasificación taxonómica**

Reino Plantae

División Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Subclase Rosidae

Orden Fabales

Familia Fabaceae

Subfamilia Faboideae

Tribu Trifolieae

Género *Medicago* L.

Especie *Medicago sativa* L.

(Tutin *et al.*, 1996; Bora & Sharma, 2011; Shipunov, 2018).

Fabales es un Orden que posee cuatro familias: Polygalaceae, Quillajaceae, Surianaceae y Fabaceae (Bello *et al.*, 2009; Byng *et al.*, 2016). Esta última familia posee una gran riqueza específica con numerosos cultivos de relevancia agronómica

y económica (Wojciechowski *et al.*, 2004; Alege *et al.*, 2014). Abarca aproximadamente 730 a 751 géneros y unas 19.500 especies (Sayyah *et al.*, 2011; LPWG, 2013). Es de distribución cosmopolita e incluye árboles, arbustos y hierbas anuales o perennes fácilmente reconocibles por su fruto tipo legumbre y sus hojas compuestas y estipuladas (Mazur *et al.*, 1998; Koenen *et al.*, 2013; Rahman & Parvin, 2014).

Entre las especies más reconocidas de esta familia se encuentran plantas destinadas a la producción de forraje pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Melilotus* (L.) Mill., *Lotus* L., *Trifolium* L. y *Vicia* L. (Suttie, 2003).

En la actualidad hay determinadas 85 especies dentro del género *Medicago*, de las cuales un tercio son perennes como *Medicago sativa* Linnaeus (Lámina 1.1.) y dos tercios son anuales como *M. truncatula* Gaertner. El nivel de ploidía del género *Medicago* varía de diploide ( $2n=2x=14$  y  $2n=2x=16$ ) a poliploide ( $2n = 32$  y  $64$ ) (Lesins & Lesins, 1979; Maxted & Bennett, 2001; Tesfaye *et al.*, 2006). Existen dos subespecies principales en cada nivel de ploidía, la subsp. *falcata* con flores amarillas y vainas falcadas y la subsp. *sativa* con flores de color púrpura y vainas enrolladas (subsp. *caerulea* a nivel diploide) (Quiros & Bauchan, 1988). Entre estas subespecies no hay barreras que impidan el libre intercambio de genes, independientemente de su nivel de ploidía (Stanford *et al.*, 1972; Havananda *et al.*, 2010). La alfalfa cultivada es autotetraploide (Stanford, 1951) con  $2n=4x=32$  (Armstrong, 1954).

### **1.2.2. – Centro de origen**

El vocablo alfalfa proviene del árabe y significa “el mejor pasto” o “alimento para caballo”. Su nombre genérico *Medicago* proviene del término medica, nombre que antiguamente dieron los griegos en referencia al pueblo Medo. Su epíteto *sativa* significa sembrada o cultivada (Bolton *et al.*, 1972; Delgado, 2005; Small, 2011; Short & George, 2013).

Este cultivo tiene su área de origen en el Cercano Oriente y en Asia Central, concretamente en Turquía, Siria, Irak e Irán y noroeste de la India, Afganistán, Cachemira, Tayikistán y Kirguistán. En el siglo II a.C. fue introducida en Italia y de allí se difundió a toda Europa. En el año 1519 ingresa al nuevo mundo, más precisamente a México y finalmente, por la ruta del Pacífico llega a Perú y a Chile. Desde estos países por vía terrestre ingresa a la Argentina (Bolton *et al.*, 1972).

### Lámina 1.1. Descripción botánica de *Medicago sativa* L.

Planta perenne. Porte erecto en plantas sin reposo invernal, semierecto con reposo intermedio y semirrastrero con reposo marcado (Figura 1.1.).

Raíz: pivotante, ramificada, rizomatosa y rastrera dependiendo del grado de reposo invernal y del germoplasma.

Tallo y corona: tallo macizo. Tallos huecos en plantas envejecidas. La zona basal y leñosa de los tallos forma la corona.

Hojas: primera hoja unifoliada, simple de forma obcordada u orbicular. Hojas verdaderas trifolioladas, a veces multifolioladas, de disposición alterna. Folíolos oblongos u obovados, a veces redondeados a obovado-oblongos e incluso lineales, dependiendo del estado fenológico y de la genética. Borde de los folíolos dentado en el tercio superior, a veces hasta el tercio inferior. Estípulas laciniadas en plantas adultas o lisas en plantas jóvenes (Figura 1.2.).

Tricomas: simples y glandulares.

Flor: completa, corola papilionada. Color púrpura. Racimo simple (Figura 1.3.).

Fruto: legumbre monocarpelar. Número variable de semillas (Figura 1.4.).

Semilla: arriñonada a veces angular. De color amarillo a veces verde oliva a distintas tonalidades de marrón, de 1-2 mm de longitud por 1-2 mm de ancho y 1 mm de espesor.

Nota: Las características botánicas han sido recopiladas a partir de los trabajos de los siguientes autores: Barnes *et al.*, 1972; Grove & Carlson, 1972; Lesins & Gillies, 1972; Lesins & Lesins, 1979; Rodríguez & Spada, 2007; Odorizzi *et al.*, 2008.



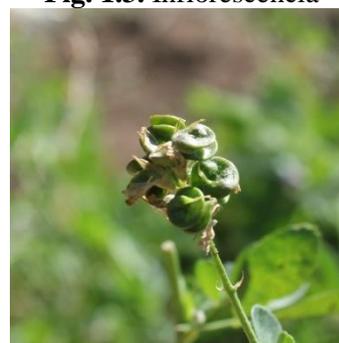
**Fig. 1.1.** *Medicago sativa*



**Fig. 1.2.** Hojas



**Fig. 1.3.** Inflorescencia



**Fig. 1.4.** Frutos

### 1.2.3. – Variedades

Los primeros materiales de alfalfa sembrados en el país fueron poblaciones introducidas desde Chile y Perú. La adaptación a las condiciones locales dio origen a los ecotipos regionales pampeano, cordobés e invernizo (Spada, 2007; Sardiña *et al.*, 2015). En esta etapa, problemas sanitarios causados por el nematode *Ditylenchus dipsaci* y por enfermedades radiculares disminuyeron la producción (Basigalup & Hijano, 1995). Por esta razón, alrededor del año 1940 se iniciaron los primeros programas de mejoramiento genético sobre la base de los ecotipos regionales. Como resultado, se obtuvieron cultivares con mayor resistencia al nematode *D. dipsaci* y a enfermedades fúngicas. Estos cultivares poseían una elevada producción de forraje y una mayor persistencia a nivel de planta (Rossanigo *et al.*, 1995; Spada, 2007).

La aparición y rápida difusión de áfidos plaga de esta leguminosa, a fines de la década de 1960, generó importantes pérdidas en la producción de forraje y de semillas (Tapia, 1969; Itria & Tapia, 1970; Quintana, 1972; Luna, 1977; Aragón & Imwinkelried, 2007). El INTA en forma conjunta con la FAO, intensificaron los trabajos de mejoramiento e introdujeron materiales procedentes de Estados Unidos con resistencia a áfidos y con buenas características agronómicas (Itria & Tapia, 1970). Esta estrategia resultó útil para el manejo de la plaga, sin embargo, el comportamiento variable de los cultivares importados y la escasa disponibilidad de semillas hizo necesaria la producción de nuevas variedades con diferentes grados de reposo invernal (Quintanilla, 1976).

#### **1.2.4. – Grado de reposo invernal**

El grado de reposo invernal (GRI) es una característica genética de la alfalfa por la cual las plantas reducen su crecimiento en respuesta a la disminución del fotoperíodo y a las bajas temperaturas (McKenzie *et al.*, 1988; Zhang *et al.*, 2015). Es un tipo de endodormancia en el cual se protegen las yemas vegetativas (Horvath *et al.*, 2003). El fitocromo B percibe los cambios en el fotoperíodo y activa la expresión de los genes que intervienen en la síntesis de auxinas, etileno y de las proteínas de transporte de sacáridos. Esto conlleva a un aumento en la concentración de sacarosa, estaquiosa, rafinosa, de proteínas de almacenamiento vegetativo, de ácido abscísico (ABA) y de auxinas en las yemas. Los compuestos sacáridos protegen a las yemas de las bajas temperaturas, el ABA inhibe el crecimiento y las auxinas mantienen la latencia hasta que las condiciones climáticas sean favorables (Castonguay *et al.*, 1995; Cunningham *et al.*, 1998, 2001; Haagenson *et al.*, 2003; Spada, 2007; Wang *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2015).

En Argentina, en base al grado de reposo invernal los cultivares de alfalfa se dividen en tres categorías: con reposo (GRI 3-5), con reposo intermedio (GRI 6-7) y sin reposo (GRI 8-10) (Spada, 2007).

#### **1.2.5. – Superficie sembrada**

En el mundo se cultivan 32 millones de ha de alfalfa en un amplio rango de condiciones. En el hemisferio norte, principalmente en Estados Unidos y Europa, se siembran 21 millones de ha mientras que en el hemisferio sur esa superficie llega a los 12 millones de ha (Maxted & Bennett, 2001; Yuegao & Cash, 2009).

En nuestro país la superficie ha ido variando a través del tiempo. En el período 1924-25 se registró un record histórico de 8,5 millones de ha que descendió significativamente a menos de 3 millones de ha en los años 1972-78. Durante los años 1997-98, la superficie implantada se recuperó llegando a los 7 millones de ha (Bolton *et al.*, 1972; Basigalup & Rossanigo, 2007). En la actualidad, si bien no existen estadísticas oficiales ni datos recientes, se estima que la superficie sembrada con alfalfa ronda los 3,7 millones de ha, de las cuales 2,5 millones están sembradas con alfalfa pura (com. per. Giletta M. A., Inta EEA Manfredi, 2017). El área de producción se localiza en el noreste de la provincia de La Pampa, noroeste de la provincia de Buenos Aires, centro-sur de la provincia de Santa Fe y el sudeste de la provincia de Córdoba (Collino *et al.*, 2007).

### **1.2.6. – Importancia del cultivo**

La importancia del cultivo de alfalfa se basa en su aporte como fuente natural de proteínas, fibras, vitaminas y minerales, así como en su contribución a la sustentabilidad del suelo (Bickoff *et al.*, 1972; Zumoffen *et al.*, 2010).

La alfalfa es utilizada en los sistemas de producción de carne y leche en distintas regiones ganaderas templadas del mundo por su adaptación a un amplio rango de condiciones agroclimáticas y por su capacidad de producir una elevada cantidad de forraje de alta calidad (Kloster & Zaniboni, 2007).

Dentro de un programa de rotación de cultivos, la alfalfa, facilita el control de malezas y enfermedades (Maxted & Bennett, 2001) y favorece la acumulación de materia orgánica mejorando las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Papendick *et al.*, 1987; Bouton, 1996; Lloverás, 1999; Racca & González, 2007;

Zumoffen *et al.*, 2010). Una de las características más importantes de este cultivo es la capacidad para formar asociaciones simbióticas con bacterias del suelo pertenecientes al Orden Rhizobiales. Estas asociaciones llevan a cabo el proceso de fijación de nitrógeno atmosférico (Burton, 1972; Smith *et al.*, 2013).

### **1.2.7. – Usos**

En Argentina, la mayor parte de las pasturas en base a alfalfa se destinan para pastoreo directo. En la Región Pampeana es una forrajera irremplazable en los planteos ganaderos intensivos y semiextensivos (Comerón & Romero, 2007; Kloster & Zaniboni, 2007).

El forraje producido puede ser transferido a regiones fuera de su área de cultivo o a otras épocas del año. Según el USDA (2016), Estados Unidos difiere anualmente un volumen de forraje que llega a las 21 millones de toneladas. En Argentina se difieren aproximadamente 850 a 900 mil ha de alfalfa pura que se emplean para la producción de heno y 150 a 200 mil ha destinadas a la conservación en forma de silaje (com. per. Giletta M. A., Inta EEA Manfredi, 2017).

### **1.2.8. – Usos alternativos**

Aunque tradicionalmente la alfalfa ha sido cultivada y utilizada para consumo animal, actualmente se ha incorporado como un componente en la nutrición humana adicionándose en forma fresca a diferentes platos. Otra opción es su uso en forma de extracto, como concentrado proteico o suplemento nutricional (Stochmal *et al.*, 2001a, b; Diario Oficial de la Unión Europea, 2009). Las plantas de alfalfa poseen saponinas que sirven como antiescorbúticas, laxantes, diuréticas, ecbólicas,

estrogénicas, estimulantes y para el tratamiento de problemas urinarios, intestinales y de úlceras pépticas (Duke, 1981). La materia verde de las plantas de alfalfa contiene entre 7 y 33 % de proteínas totales, es rica en aminoácidos no esenciales, ácidos grasos, vitaminas y minerales (Bickoff *et al.*, 1972; Duke, 1981; Stochmal *et al.*, 2001a, b; De León & Ustarroz, 2007).

En medicina alternativa, la semilla, se emplea como emenagoga y lactogénica por su alto contenido de los alcaloides estaquidrina y homoestaquidrina (Duke, 1981).

A nivel industrial se obtiene pulpa que se destina para la fabricación de papel, producción de gas y de etanol celulósico (Duke, 1981; Bouton, 1996; Petersen Rock *et al.*, 2009). Además, las plantas modificadas genéticamente sintetizan enzimas como la  $\alpha$ -amilasa y la manganoso peroxidasa. La  $\alpha$ -amilasa se utiliza en el procesamiento industrial del almidón y la manganoso peroxidasa en la degradación de la lignina y como agente blanqueador (Bouton, 1996). El aceite de las semillas se usa para la manufactura de pinturas y barnices (Duke, 1981).

### **1.2.9. – Requerimientos**

La extraordinaria variabilidad genética de la alfalfa enriquecida por la introgresión de las especies que conforman el complejo *M. sativa* le otorga una gran capacidad de adaptación a las más diversas condiciones de suelo, clima y manejo (Bolton *et al.*, 1972; Bula & Massengale, 1972; Quiros & Bauchan, 1988; Summers, 1998; Maxted & Bennett, 2001).

En el país, el cultivo de alfalfa se realiza mayoritariamente en condiciones de secano variando la producción de materia seca con la disponibilidad hídrica, la

radiación, la fertilidad y la temperatura entre otros factores (Hijano & Basigalup, 1995).

En la región pampeana, la disponibilidad de agua es el principal factor limitante. La alfalfa consume agua durante todo el año, aún durante la época de reposo invernal (Collino *et al.*, 2007). El máximo potencial de producción se logra con un aporte hídrico de 1200 mm anuales (Brouwer & Heibloem, 1986; Collino *et al.*, 2007). En ausencia de restricciones hídricas severas, los nutrientes nitrógeno, fósforo y con menor frecuencia el azufre, el calcio y el boro, son los que usualmente limitan la producción (Basigalup, 2007; Basigalup & Rossanigo, 2007; Díaz Zorita & Gambaudo, 2007; Yuegao & Cash, 2009).

La alfalfa tolera suelos ligeramente salinos, sódicos o alcalinos, pero no así suelos ácidos. A medida que decrece el pH disminuye la disponibilidad de fósforo, nitrógeno, calcio, magnesio y potasio, mientras que aumenta la concentración de aluminio y de manganeso que se tornan tóxicos para las bacterias simbiotas y las plantas (Soto *et al.*, 2000; Basigalup, 2007; Yuegao & Cash, 2009).

#### **1.2.10. – Plagas limitantes**

La alfalfa es un cultivo perenne, con una vida útil de cuatro a seis años. Esta condición genera un hábitat favorable para un gran número de artrópodos, entre los cuales se encuentran especies herbívoras, saprófagas, fungívoras, controladores biológicos y polinizadores, entre otros (Summers, 1998).

En Alberta, Canadá, Harper (1988) realizó un seguimiento de los insectos y ácaros presentes en campos productores de alfalfa. Este autor observó una gran diversidad entre las especies presentes, con un 48% de especies herbívoras, un 37%

de controladores biológicos, un 4% de polinizadores y un 11% de otras especies. En Arabia Saudí, en evaluaciones similares, se observó una composición similar en la entomofauna presente en Canadá, con un 48% de herbívoros, un 26% de controladores biológicos, un 22% de polinizadores y un 5% de otras especies (Alsuhaibani, 1996). En el estado de New York, Estados Unidos, aproximadamente 600 especies de artrópodos fueron determinadas en el cultivo de *M. sativa* (Pimentel & Wheeler, 1973) y 250 especies en el estado de Nueva Gales del Sur, Australia (Bishop & Holtkamp, 1982).

En Argentina, Villaverde *et al.* (2009) registraron en este cultivo 139 especies de insectos pertenecientes mayoritariamente al Orden Hemiptera, Suborden Sternorrhyncha y a los Ordenes Coleoptera, Lepidoptera y Orthoptera.

A pesar de la gran diversidad de artrópodos observados en el cultivo de alfalfa solamente una pequeña proporción causa daño severo (Summers *et al.*, 2008). Entre las especies más frecuentes se encuentran los áfidos o pulgones (Aragón & Imwinkelried, 2007).

### **1.3. – Áfidos**

En la Tabla 1.1. se citan las 35 especies de áfidos presentes en el cultivo de *M. sativa* a nivel mundial. De estas 35 especies solamente 17 colonizan de manera frecuente a la alfalfa (Blackman & Eastop, 2006) y solo 7 han sido halladas en Argentina sobre esta pastura.

**Tabla 1.1.** Especies de áfidos halladas en pasturas de *M. sativa* en distintos países del mundo.

<b>Especies</b>	<b>País</b>	<b>Autor</b>
<i>Acyrtosiphon euphorbiae</i> Börner, 1940	Perú	Vilca & Reyes, 1999
<i>A. gossypii</i> Mordvilko, 1914	Irak y Sudán	Holman, 2009
<i>A. kondoi</i> Shinji, 1938	Argentina y resto del mundo	Luna, 1977; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Rakhshani <i>et al.</i> , 2009
<i>A. loti</i> (Theobald, 1913)	Argentina y Europa	Ortego & Mier Durante, 2003
<i>A. pisum</i> (Harris, 1776)	Argentina y resto del mundo	Tapia, 1969; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Rakhshani <i>et al.</i> , 2009
<i>Aphis craccivora</i> Koch, 1854	Argentina y resto del mundo	Blanchard, 1944; Itria, 1966; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Rakhshani <i>et al.</i> , 2009
<i>A. fabae</i> Scopoli, 1763	Bulgaria, Chile, Croacia, España, Hungría, Irán, Islas Canarias, Perú, Portugal, Rusia, Suecia y Turquía	Ólmez Bayhan <i>et al.</i> , 2003; Bertolaccini <i>et al.</i> , 2004; Grados & Ortiz, 2004; Blackman & Eastop, 2006; Ripka, 2008; Holman, 2009; Gotlin Čuljak <i>et al.</i> , 2012; Nieto Nafría <i>et al.</i> , 2016
<i>A. gossypii</i> Glover, 1877	Argentina, Chile, España, Hungría, India, Irak, Perú y Sudán	Blanchard, 1944; Itria, 1966; Singh <i>et al.</i> , 1999; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Delfino, 2005; Ripka, 2008; Nieto Nafría <i>et al.</i> , 2016; Singh <i>et al.</i> , 2016
<i>A. incerta</i> Nevsky, 1929	Uzbekistán	Holman, 2009; Blackman, 2017
<i>A. medicaginis</i> Koch, 1854	Chile, China, Hawái, Hungría, Irán, Italia, Kazajistán, Montenegro y Serbia	Suehiro, 1960; Petrović, 1998; Abivardi, 2001; Blackman & Eastop, 2006; Wei <i>et al.</i> , 2007; Ripka, 2008; Holman, 2009; Kadyrbekov & Karimova, 2011; Blackman, 2017
<i>A. nasturtii</i> Kaltenbach, 1843	Portugal	Vieira, 2013
<i>A. yangbajaingana</i> Zhang, Likun, 1981	China	Blackman & Eastop, 2006; Blackman, 2017
<i>Aulacorthum solani</i> (Kaltenbach, 1843)	Chile, Croacia, Estados Unidos, España y Nueva Zelanda	Lowe, 1966; Wilson & Close, 1973; Starý <i>et al.</i> , 1994; Gotlin Čuljak <i>et al.</i> , 2012; Nieto Nafría <i>et al.</i> , 2016
<i>Brachycaudus helichrysi</i> (Kaltenbach, 1843)	Chile, España y Perú	Aguilera & Ortega, 1994; Vilca & Reyes, 1999; Blackman & Eastop, 2006; Nieto Nafría <i>et al.</i> , 2016
<i>B. schwartzi</i> (Börner, 1931)	Perú	Vilca Mallqui & Vergara Cobián, 2011
<i>Brevicoryne brassicae</i> (Linnaeus, 1758)	Arabia Saudí y Perú	Vilca Mallqui & Vergara Cobián, 2011; Al-Solami <i>et al.</i> , 2016
<i>Cavariella aegopodii</i> (Scopoli, 1763)	Perú	Grados & Ortiz, 2004
<i>Macrosiphoniella maculata</i> Nevsky, 1938	Canadá y Tayikistán	Richards, 1976; Blackman & Eastop 2006, Blackman, 2017
<i>Macrosiphum creelii</i> Davis, 1914	Estados Unidos	Halfhill, 1982; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Kinney & Peairs, 2011
<i>M. euphorbiae</i> (Thomas, 1878)	Croacia, Estados Unidos y Perú	Vilca & Reyes, 1999; Blackman & Eastop, 2006; Vilca Mallqui & Vergara Cobián, 2011; Kinney & Peairs, 2011; Gotlin Čuljak <i>et al.</i> , 2012
<i>Megoura viciae</i> Buckton, 1876	Croacia, España, Portugal y Rusia (Republica de Altái)	Bertolaccini <i>et al.</i> , 2004; Holman, 2009; Gotlin Čuljak <i>et al.</i> , 2012; Vieira, 2013; Stekolshchikov & Novgorodova, 2015
<i>Myzus ascalonicus</i> Doncaster, 1946	España	Holman, 2009; Blackman, 2017
<i>M. ornatus</i> Laing, 1932	Burundi, Chile, España, Perú y Tasmania	Martyn & Miller, 1963; Remaudière <i>et al.</i> , 1985; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Grados & Ortiz, 2004; Delfino, 2005; Nieto Nafría <i>et al.</i> , 2016

<i>M. persicae</i> (Sulzer, 1776)	Argentina, Burundi, Chile, Croacia, España, Estados Unidos, Hungría y Perú	Tapia, 1975; Remaudière <i>et al.</i> , 1985; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Grados & Ortiz, 2004; Ripka, 2008; Zumoffen <i>et al.</i> , 2010; Kinney & Peairs, 2011; Vilca Mallqui & Vergara Cobián, 2011; Gotlin Čuljak <i>et al.</i> , 2012; Nieto Nafría <i>et al.</i> , 2016
<i>Nearctaphis bakeri</i> (Cowen ex Gillete & Baker, 1895)	Chile, España, Estados Unidos, Japón y Pakistán	Miyazaki, 1971; Fuentes Contreras <i>et al.</i> , 1997; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Kinney & Peairs, 2011; Hassan <i>et al.</i> , 2010; Nieto Nafría <i>et al.</i> , 2016
<i>N. crataegifoliae</i> (Fitch, 1851)	Canadá	Richards, 1969
<i>Pemphigus betae</i> Doane, 1900	Canadá	Harper, 1963
<i>P. bursarius</i> (Linnaeus, 1758)	Alemania y Nueva Zelanda	Zwölfer, 1958; Dale <i>et al.</i> , 1976; Holman, 2009
<i>P. populi</i> Courchet, 1879	Hungría y Reino Unido	Furk & Pior, 1975; Ripka, 2008
<i>Smynthuodes betae</i> Westwood, 1849	Kazajistán y Uzbekistán	Holman, 2009; Blackman, 2017
<i>Therioaphis brachytricha</i> Hille Ris Lambers & van den Bosch, 1964	Irán	Holman, 2009; Blackman, 2017
<i>T. luteola</i> (Börner, 1949)	Ucrania	Holman, 2009; Blackman, 2017
<i>T. ononidis</i> (Kaltenbach, 1846)	India, Kirguistán y Uzbekistán	Holman, 2009; Singh <i>et al.</i> , 2016; Singh & Singh, 2017; Blackman, 2017
<i>T. subalba</i> Börner, 1949	Corea del Sur	Quednau, 2003; Blackman & Eastop, 2006; Blackman, 2017
<i>T. trifolii</i> (Monell, 1882)	Argentina y resto del mundo	Vincini <i>et al.</i> , 1984; Blackman & Eastop, 2000, 2006; Rakhshani <i>et al.</i> , 2009

En la Región del Sudoeste Bonaerense las especies de áfidos más frecuentes son *A. pisum* (Lámina 1.2.), *A. craccivora* (Lámina 1.3.) y *T. trifolii* (Lámina 1.4.) (Bizet Turovsky *et al.*, 2017). En la Lámina 1.5. se detalla el listado de los hospederos para estas tres especies de áfidos.

## Lámina 1.2. *Acyrtosiphon pisum* Harris

### Sinonimia

*A. onobrychis* Boyer de Fonscolombe, 1841; *A. onobrychis* Boyer de Fonscolombe, 1841 y *Macrosiphum pisi* Kaltenbach, 1843.

### Origen

Medio Oriente.

### Morfología

Hembra áptera. Tamaño variable de 2,5 a 3 mm (mínimo de 2,1 mm y máximo de 4,5 mm). Color verde brillante, varía entre verde muy pálido hasta más oscuro, pasando por el amarillo pajizo, el rosado hasta el granate (biotipo rosa). Cabeza verde amarillenta. Ojos grandes y rojos. Tubérculos antenales bien desarrollados y divergentes. Antenas largas, pardas amarillentas con el sector terminal de los antenito 3°, 4° y 5° de color negro y el 6° antenito oscuro. El 1° antenito más largo que ancho con 9-23 pelos. Presenta dos rinarias primarias, una en el 5° y la otra en el 6° segmento antenal. El 3° antenito presenta dos a cuatro sensorios pequeños en la base y pelos de longitud menor a la mitad del diámetro del 3° antenito. Patas pardas amarillentas, extremo distal de la tibia y del fémur oscuro. Tarsos negros. Abdomen globoso y a veces con seis manchas oscuras rojizas laterales. Cornículos cilíndricos-subcilíndricos, sin reticulaciones, de base amarillenta y con el extremo apical negro. Los cornículos son delgados, dirigidos hacia arriba y hacia atrás y de tamaño igual a 1,2 a 1,9 veces la longitud de la cauda o 0,22 a 0,37 veces la longitud del cuerpo. Cauda larga y ensiforme con 4-5 pares de cerdas laterales (Figura 1.5.).

Hembra alada. Tamaño, patas, cauda y color similares a la forma áptera. Las

antenas son similares a la hembra áptera, salvo que el 3° antenito presenta entre 12 a 20 sensorios, agrupados hacia un lado y más concentrados en la mitad basal. Cornículos llegan a la mitad de la cauda de color verde claro con el ápice oscurecido. Alas con nervadura medial bifurcada (Figura 1.6.).

Nota: La información general del áfido han sido recopiladas a partir de los trabajos de los siguientes autores: Tapia, 1969; Itria & Tapia, 1970; Tapia, 1975; Quintanilla, 1976; Delfino, 1991; Nieto Nafría *et al.*, 1994; Blackman & Eastop, 2007.



**Fig. 1.5.** Hembra áptera de *A. pisum*



**Fig. 1.6.** Hembra alada de *A. pisum*

### Lámina 1.3. *Aphis craccivora* Koch

#### Sinonimia

*A. laburni* Kaltenbach, 1843; *A. loti* Kaltenbach, 1862; *A. medicaginis* Koch, 1854.

#### Origen

Eurasia.

#### Morfología

Hembra áptera. Tamaño de 2 mm de largo. Cuerpo globoso o piriforme. Color del cuerpo negro brillante o cubierto con pruina pulverulenta blanco azulada. Ojos rojos oscuros. Antenitos imbricados, salvo el 1° y el 2° antenito. Antenitos claros, salvo el 1°, el 2°, el ápice del 6° y el proceso terminal que son de color negro. El 3° antenito carece de sensorios y posee pelos sub-iguales a la mitad de la máxima amplitud del antenito. Protórax y los segmentos abdominales del 1° al 7° con tubérculos laterales. Abdomen claro con un escudo dorsal fuertemente esclerosado, de forma y tamaño irregular, debido a la fusión de bandas transversas en los tergitos 2°- 6°. Este escudo dorsal es oscuro y presenta una estructura poligonal. Tergitos 7° y 8° con estrechas bandas transversales oscuras. Urito 8° con 2 setas dorsales. Cornículos de 0,42 mm, cilíndricos-subcilíndricos e imbricados y terminan en un labio. Cauda de 0,2 mm, digitiforme, aguzada en el ápice y a veces constreñida en la mitad, más ancha que los cornículos, espinosa en la superficie ventral y apical y con 3-4 pelos dorsales. Patas con el fémur casi incoloro a amarillento o pardo claro en el tercio basal y la parte apical oscura a negra. Tibia de igual coloración que el fémur. Fémur posterior intensamente negruzco en el tercio apical. Tarsos negros (Figura 1.7.).

Hembra alada. Tamaño, cabeza, cornículos, cauda, placa anal, patas y tarsos de características similares a la hembra áptera. Antenas más cortas que el cuerpo. Antenitos imbricados, salvo el 1°. El 3° antenito con cuatro a siete sensorios dispuestos en una hilera y con

pelos iguales a la mitad de su máximo diámetro. Protórax negro con faja verde a verde oscura hacia adelante y hacia atrás. Abdomen negro verdoso a negro y brillante, a veces con varias bandas transversales oscuras que nunca se fusionan en un escudo dorsal como en las hembras ápteras. Escleritos marginales oscuros, bien desarrollados, como así también los post-corniculares. Cornículos cilíndricos de 0,33 mm. Cauda de 0,17 mm, un poco más ancha que los cornículos con 3 pares de setas laterales y con una seta pre apical (Figura 1.8.).

Nota: La información general del áfido han sido recopiladas a partir de los trabajos de los siguientes autores: Blanchard, 1935; 1939; Quintanilla, 1976; Delfino, 1991; Nieto Nafría *et al.*, 1994; Nieto Nafría & Mier Durante, 2005; Blackman & Eastop, 2007.



**Fig. 1.7.** Hembra áptera de *A. craccivora*



**Fig. 1.8.** Hembra alada de *A. craccivora*

## Lámina 1.4. *Therioaphis trifolii* Monell

### Sinonimia

*Chaitophorus maculatus* Buckton, 1899;  
*Callipterus genevei* Sanborn, 1904;  
*Pterocallidium lydiae* Börner, 1949; *P.*  
*propinquum* Börner, 1949; *T. collina*  
Börner, 1942.

### Origen

Norte de África y Medio Oriente.

### Morfología

Hembra áptera. Tamaño de 2,06 mm de largo por 0,9 mm de ancho. Cuerpo piriforme. Color amarillo limón. Cabeza trapezoidal. Ojos grandes y rojos. Frente con dos hileras de pelos capitados de 0,06 mm. Tubérculos fronto medial y anteníferos poco desarrollados. Antenas claras, ahumadas hacia el ápice y tan largas como el cuerpo. Presenta seis a siete sensorios elípticos en la base del 3° antenito y uno en el 5° y 6° segmento antenal. Proceso terminal más largo que la base. Protórax con cuatro hileras de manchas castañas oscuras, cada una con un pelo capitado. Mesotórax con cuatro hileras de manchas, las laterales con un pelo y las centrales con varios pelos capitados por mancha oscura. Metatórax y abdomen con seis hileras de manchas. Las hileras laterales abdominales con un pelo capitado por mancha y las hileras centrales con dos pelos por mancha de 0,11 mm de largo. Tubérculos setíferos abdominales bien desarrollados sobre manchas de tamaño y forma variable, con coalescencias entre ellas. Cornículos cortos, de 0,06 mm de largo, con los márgenes de la base y del ápice ennegrecidos. Ápice del cornículo con forma de cono truncado. Cauda de base ancha con constricción central y ápice negro, espatulado, con dos pelos apicales de 0,07 mm de largo y varios laterales cortos de 0,04 mm. Placa anal bilobada con varios pelos. Placa anal y cauda con márgenes negros. Patas negras con pocos pelos (Figura 1.9.).

Hembra alada. Tamaño de 2,2 mm de largo por 0,9 mm de ancho. Cuerpo

ovaliforme. Forma de la cabeza, características generales de los ojos, tubérculo fronto medial, anteníferos, proceso terminal, abdomen, cornículos, placa anal y patas similares a la hembra áptera. Cabeza castaña oscura con menor cantidad de pelos. Antenas del mismo largo del cuerpo, el 3° antenito con seis a diez sensorios elípticos, el 5° y 6° antenito con un sensorio cada uno. Manchas dorso abdominales de menor tamaño, aunque aumenta su coalescencia. Tórax castaño oscuro con menos pelos. Cauda con forma y color coincidentes a la descripción de la forma áptera con dos pelos apicales de 0,08 mm de largo y los laterales de 0,04 mm. Alas con nervaduras esfumadas, la medial del primer par dividida dos veces; nervadura estigmática difusa, sin conexión con el estigma, el cual tiene márgenes difusos (Figura 1.10.).

Nota: La información general del áfido han sido recopiladas a partir de los trabajos de los siguientes autores: Hille Ris Lambers & van den Bosch, 1964; Vincini *et al.*, 1984; Nieto Nafría & Mier Durante, 1998.



Fig. 1.9. Hembra áptera de *T. trifolii*



Fig. 1.10. Hembra alada de *T. trifolii*

**Lámina 1.5.** Listado de especies hospederas de los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* en Argentina.

*A. pisum*

*Albizia julibrissin* Durazz., *Cicer arietinum* L., *Crotalaria capensis* Jacq., *Medicago polymorfa* L., *Melilotus alba* Medik., *M. indicus* (L.) All., *M. officinalis* (L.) Pall., *Pisum sativum* L., *Robinia pseudo-acacia* L., *Sutherlandia frutescens* (L.) R. Br., *Trifolium pratense* L., *T. repens* L., *Vicia faba* L., *V. sativa* L. y *V. dasycarpa* Ten. (Tapia, 1969; Itria & Tapia, 1970; Tapia, 1972, 1975; Ortego, 1991; Ortego, 1997; Avalos *et al.*, 2010; Mazzuferi *et al.*, 2009, 2011).

*A. craccivora*

*Adesmia* sp. DC., *A. obovata* Clos., *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle., *Asparagus densiflorus* (Kunth.) Jessop., *Astragalus* sp. L., *A. pehuenchis* Niederl., *Arachis hypogaea* L., *Atriplex lampa* (Moquin.) Dietrich, *Austrocyllindropuntia subulata* (Muhlpf.) Backeb., *Baccharis spartioides* (Hook. et Arn.) Remy, *Brachychiton* sp. Scott & Endl., *Buddleja davidii* Franch., *Bougainvillea spinosa* (Cav.) Heimerl., *Bulnesia retama* Gillies ex Hook. & Arn.) Griseb., *Buxus sempervirens* L., *Cassia aphylla* (Cav.), *Chamissoa altissima* (Jacq.) Kunth, *Chenopodium* sp. L., *C. album* L., *C. arietinum*, *Citrus sinensis* Osb., *Crataegus* sp. Tourn. ex L., *Condalia microphylla* Cav., *Cydonia japonica* (Thunb.) Pers., *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl., *Gazania elegans* Jacq., *Genista monosperma* L., *Geoffroea decorticans* (Gill. ex Hook. & Arn.) Burkart, *Gloxinia* sp. L'Hér., *Grevillea rosmarinifolia* A. Cunn., *Hibiscus* sp. L., *Hoffmannseggia* sp. Cav., *H. falcaria* Cav., *Kochia* sp. Roth., *K. scoparia* (L.) Schrad., *Lactuca sativa* L., *Larrea divaricata* Cav., *Lens culinaris* Medik., *Lycium cestroides* Schlecht., *Malus domestica* Borkh., *Malva sylvestris* L., *M. arborea* L., *M. lupulina* L., *M. albus*, *M. officinalis*, *Nopalea dejecta* (Salm-Dyck),

*Oenothera speciosa* Nutt., *Onobrychis sativa* Scop., *Opuntia ficus indica* (L.) Mill., *Pereskia sacharosa* Griseb., *Phaseolus lunatus* L., *P. vulgaris* L., *P. sativum*, *Pittosporum tobira* (Thunb.) Aiton, *Polygala myrtifolia* var. *grandiflora* L., *Prosopidastrum globosum* (Gill. ex Hook. & Arn.) Burkart., *Proustia cuneifolia* Don, *Pyrus communis* L., *R. hispida* L., *R. pseudo-acacia*, *R. pseudo-acacia* var. *aurea frisia*, *Rosa* sp. L., *Rumex crispus* L., *Salsola kali* L., *Sesbania exasperata* Kunth, *Sphaeralcea miniata* (Griseb.), *Solanum sisymbriifolium* Lam., *Spartium junceum* L., *Stetsonia coryne* (Salm-Dick.) Br. & Rose, *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott, *S. japonicum* var. *pendulum* (Lodd. ex Sweet) G. Kirchn., *Tamarix* sp. L., *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem., *Tricomaria usillo* Hook. & Arn., *Trifolium* sp., *T. repens*, *Urtica dioica* L., *V. faba*, *V. sativa* y *Wisteria sinensis* (Sims.) DC (Blanchard, 1935, 1939, 1944; Itria, 1966; Tapia, 1969, 1972; Ortego, 1991; Nieto Nafría *et al.*, 1994; Ortego, 1997; Delfino & Buffa 1996; Andorno *et al.*, 2007; Delfino *et al.*, 2007; Delfino & Buffa, 2008; Szpeiner, 2008; Mazzuferi *et al.*, 2011; Mier Durante *et al.*, 2012).

*T. trifolii*

*C. arietinum*, *Lotus* sp., *M. lupina*, *Trifolium* sp. (Vincini *et al.*, 1984; Ortego, 1997; Ortego *et al.*, 2002; Mazzuferi *et al.*, 2011).

### 1.3.1. – Posición sistemática y clasificación taxonómica de los áfidos

Reino Animalia

Filo Arthropoda

Clase Insecta

Orden Hemiptera

Suborden Sternorrhyncha

Superfamilia Aphidoidea

Familia Aphididae

Subfamilia Aphidinae

Tribu Macrosiphini

Género *Acyrtosiphon* Mordvilko, 1914

Especie *Acyrtosiphon pisum* H.

Tribu Aphidini

Subtribu Aphidina

Género *Aphis* Linnaeus, 1758

Especie *Aphis craccivora* K.

Subfamilia Calaphidinae

Tribu Panaphidini

Subtribu Panaphidina

Género *Therioaphis* Walker, 1870

Especie *Therioaphis trifolii* M.

(Nieto Nafría *et al.*, 1997; Remaudière & Remaudière, 1997).

La clasificación de los áfidos, así como la de otros grupos de insectos, ha sufrido a lo largo del tiempo variados cambios. Históricamente, los áfidos se agrupaban dentro del suborden Sternorrhyncha, que junto a los subórdenes Auchenorrhyncha y Coleorrhyncha, formaba parte del Orden Homoptera (Nieto Nafría, 1999).

El Orden Homoptera y el Orden Hemiptera fueron identificados originalmente por Linnaeus de acuerdo a las características morfológicas de las alas. Otro

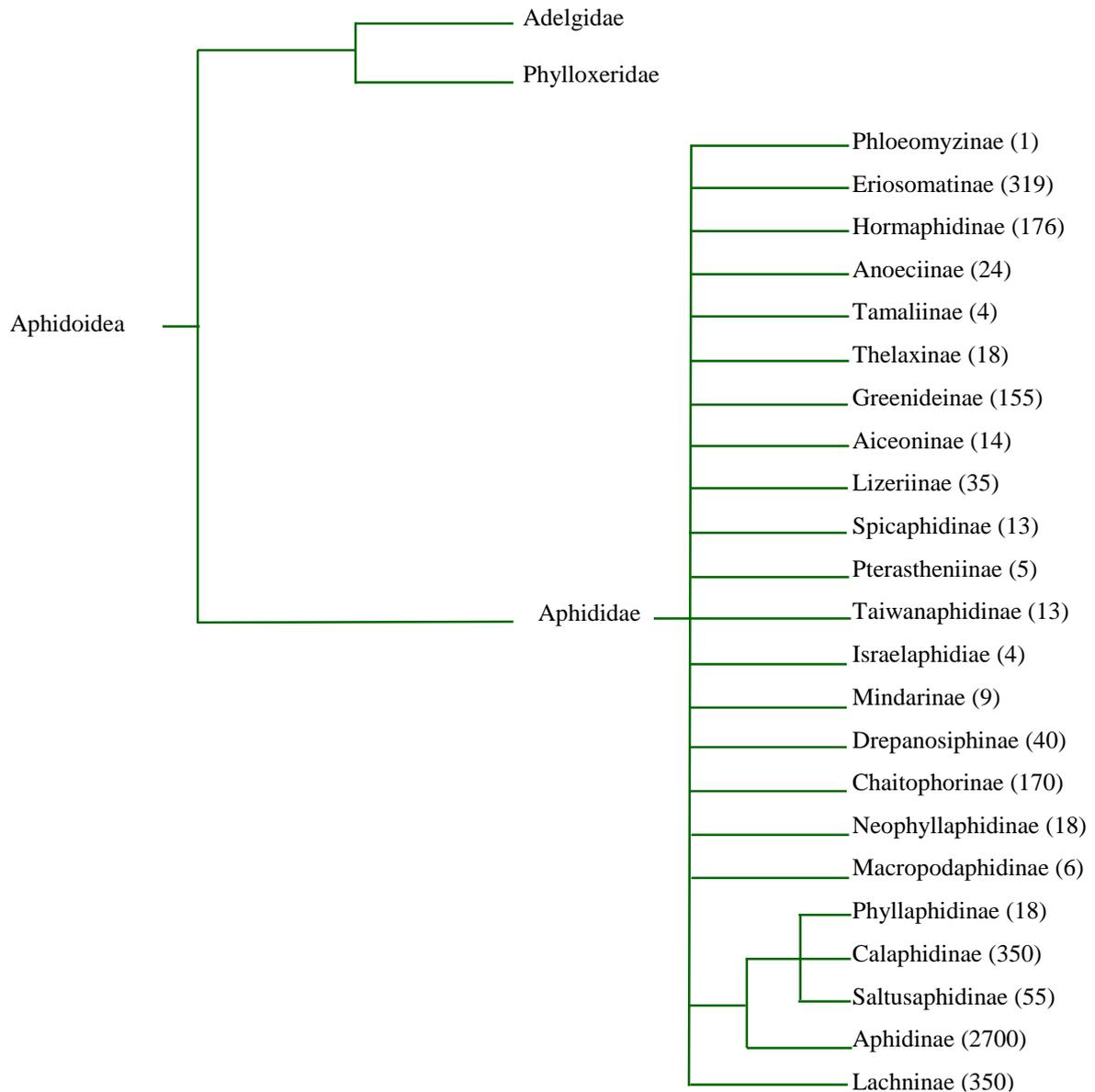
taxónomo, Latreille consideraba que Heteroptera y Homoptera eran dos secciones dentro del Orden Hemiptera (Nieto Nafría, 1999; Cui *et al.*, 2013).

En la actualidad, números estudios filogenéticos basados en evidencias morfológicas y moleculares han considerado al Orden Homoptera como parafilético y han ubicado los subórdenes Auchenorrhyncha, Coleorrhyncha y Sternorrhyncha dentro del Orden Hemiptera (Sorensen *et al.*, 1995; von Dohlen & Moran 1995; Ouvreard *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2012; Cui *et al.*, 2013). Actualmente se describen unas 90.000 especies dentro del Orden Hemiptera divididos en los clados Auchenorrhyncha (Cicadomorpha y Fulgoromorpha), Coleorrhyncha, Sternorrhyncha y Heteroptera (Henry, 2009).

Los áfidos se ubican taxonómicamente en la superfamilia Aphidoidea. Esta superfamilia a su vez se divide en tres familias con importancia agronómica Adelgidae, Aphididae y Phylloxeridae (Nováková *et al.*, 2013) (Figura 1.11.). La familia Adelgidae con dos géneros importantes *Adelges* y *Pineus* y 65 especies descritas (Havill & Foottit, 2007; Favret *et al.*, 2015). La familia Phylloxeridae con seis géneros y 73 especies descritas (Favret *et al.*, 2016). Y, finalmente, la familia Aphididae con 510 géneros y 4497 especies descritas. Esta última familia se diferencia de las dos primeras, por la presencia de bacterias endosimbióticas del género *Buchnera* y por poseer ciclos de vida vivíparos (Dixon, 1998; Havill & Foottit, 2007; Medina *et al.*, 2011; Toenshoff *et al.*, 2012; Nováková *et al.*, 2013).

Los individuos de la familia Aphididae pueden ser reconocidos por compartir una serie de características morfológicas que incluyen la presencia de sifones; antenas de cinco o seis segmentos compuestas por dos segmentos basales y un flagelo segmentado con un proceso terminal; tarsos de dos segmentos con el primer

segmento mucho más corto que el segundo y cauda. En algunas especies, estos caracteres han sido modificados, reducidos o secundariamente perdidos, pero son evidentes en la mayoría de los áfidos que afectan a las plantas cultivadas (Blackman & Eastop, 2007).



**Fig. 1.11.** Filogenia de la superfamilia Aphidoidea, adaptado de Podsiadlowski (2016). El número entre paréntesis indica la cantidad de especies presentes en cada subfamilia.

La familia Aphididae contiene 23 subfamilias (Figura 1.11.) entre las que se encuentran la subfamilia Aphidinae, con las especies *A. craccivora* y *A. pisum*, y la

subfamilia Calaphidinae, con la especie *T. trifolii* (Nieto Nafría *et al.*, 1997; Remaudière & Remaudière, 1997).

### **1.3.2. – Aparato bucal**

Los áfidos son insectos herbívoros que se alimentan de la savia floemática de un número restringido de plantas huéspedes. Mucho de ellos permanecen en el mismo hospedero a lo largo de todo el año, mientras que aproximadamente un 10 a 15 % alterna entre especies taxonómicamente diferentes (Blackman & Eastop, 2007; Tagu *et al.*, 2016; Zytynska & Weisser, 2016).

Poseen aparato bucal picador-suctor formado por un labium elongado de tres segmentos denominado rostro, que contiene un par de mandíbulas y un par de maxilas modificadas en estiletes (Wensler, 1977). Los estiletes mandibulares poseen la parte distal terminada en una punta filosa y aguda. Los estiletes maxilares, están interconectados por una serie de surcos y crestas formando el canal salival y el canal alimenticio. El borde externo de los estiletes maxilares y el interno de los estiletes mandibulares están en íntimo contacto generando una compacta vaina del estilete (Forbes, 1969).

Los áfidos utilizan el extremo de su rostro para realizar el primer reconocimiento en las futuras plantas hospederas y antes de comenzar con la inserción de los estiletes secretan pequeñas cantidades de saliva gelificante (Tjallingii, 2006). En 1973, Pollard observó que en la ruta hacia el floema los estiletes penetran inter e intracelularmente. Sin embargo, otros autores han observado que los estiletes penetran solo intercelularmente (Diehl & Chatters, 1956; Tjallingii & Hogen Esch, 1993; Tjallingii, 2006), mientras que solamente

unas pocas especies de áfidos pertenecientes a la subfamilia Lachnidae, penetran intracelularmente o atraviesan los estomas para alcanzar el floema (Klingauf, 1987).

En su camino intercelular, los estiletes penetran la epidermis comenzando por los bordes entre dos células contiguas y continúan su avance entre las fibras de la pared celular secundaria de una de esas células. Pueden atravesar espacios aéreos del mesófilo y eventualmente llegar al haz vascular. Durante todo este proceso, el áfido secreta saliva gelificante que envuelve los estiletes formando una vaina que permanece en el tejido de la planta, aunque el áfido haya retirado los mismos. Al llegar al haz vascular, los estiletes penetran las células floemáticas (Tjallingii & Hogen Esch, 1993; Prado & Tjallingii, 1994; Elliott & Hodgson, 1996; Tjallingii, 2006). En este camino el áfido sigue un gradiente químico de pH, sacarosa y compuestos aleloquímicos, entre otros (Elliott & Hodgson, 1996; Schoonhoven *et al.*, 1998; Pettersson *et al.*, 2007; Hewer *et al.*, 2011).

Además de la saliva gelificante, los áfidos producen otro tipo de saliva llamada saliva acuosa, que es secretada cuando el áfido alcanza los vasos floemáticos. Esta saliva está formada principalmente por aminoácidos, compuestos con propiedades surfactantes y reductoras y por enzimas tales como las pectinasas, celulasas, oxidasas y amilasas (Tjallingii & Hogen Esch, 1993; Prado, 1997; Dixon, 1998; Miles, 1999; Tjallingii, 2006). La función de la saliva acuosa es, entre otras, lubricar las piezas bucales, asistir en la penetración de los sustratos alimenticios, diluir los alimentos concentrados, desintoxicar sustancias del metabolismo secundario y prevenir la gelificación de la proteína P tanto en el interior del floema como en el

canal de alimentación (Tjallingii & Hogen Esch, 1993; Prado, 1997; Dixon, 1998; Miles, 1999; Tjallingii, 2006).

### **1.3.3. – Daños**

En la literatura entomológica de habla anglosajona se consideran los términos “injury” y “damage” como sinónimos de daños ocasionados por plagas. En el año 2001, Peterson & Higley enfatizaron la importancia de delimitar el alcance de ambos vocablos. En esta tesis consideramos como sinónimos de dichos términos a las palabras “lesión” y “daño”. Se puede definir como “lesión” a los cambios en el proceso fisiológico de las plantas que se manifiestan de manera asintomática. Mientras que el término “daño”, de carácter sintomático, es una medida de reducción en el crecimiento de la planta o en su reproducción como resultado de una “lesión”. Podemos considerar que cualquier nivel de infestación de una plaga causa “lesión” pero no todos los niveles de “lesión” causan “daño”. En ocasiones, las plantas toleran pequeñas “lesiones” sin un “daño” aparente (Quisenberry & Ni, 2007).

Algunos autores consideran que *A. pisum* produce daños asintomáticos en *M. sativa*. Sin embargo, infestaciones severas causarían daños sintomáticos similares a los ocasionados por el estrés hídrico (Quisenberry & Ni, 2007). Como resultado final se produce clorosis, marchitamiento y defoliación con retraso en el crecimiento, disminuyendo la producción de flores y semillas (Soroka & Otani, 2011).

*A. craccivora* produce daños de carácter sintomático. En ataques intensos puede causar detención del crecimiento, distorsión de hojas y retraso en la floración,

afectando el rinde y la producción de semillas. Además, puede ocasionar muerte de plantas (Quintanilla, 1976; Quisenberry & Ni, 2007).

El áfido *T. trifolii* produce una “lesión” asintomática al interrumpir el balance de óxido reducción de la planta provocando un “daño” que se manifiesta como decoloración de las venas foliares de *M. sativa* (Itria, 1966; Jiang & Miles, 1993; Miles & Oertli, 1993; Soroka & Otani, 2011). Infestaciones intensas pueden causar defoliación, disminuyendo la producción de semillas y ocasionando eventualmente la muerte del cultivo (Delfino, 1991).

#### **1.3.4. – Virosis**

Los áfidos juegan un rol preponderante en la transmisión de las virosis. En la naturaleza aproximadamente el 50% de los virus son transmitidos por estos insectos vectores (Ng & Perry, 2004). La selección de la planta hospedera y el comportamiento alimenticio determinan su elevado potencial como insecto vector (Katis *et al.*, 2007).

La adquisición y la inoculación de los virus se producen como consecuencia directa de la acción de los estiletes sobre el tejido de las plantas. Dependiendo del modo de transmisión, los virus pueden adherirse a la cutícula de los estiletes y del intestino anterior o ser ingeridos y pasar a través del sistema digestivo al sistema circulatorio y a las glándulas salivales para luego ser inoculado en el proceso de salivación (Katis *et al.*, 2007).

Los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* son vectores de virosis que afectan a las plantas de *M. sativa*. En la Tabla 1.2. se detallan las principales virosis transmitidas por estos áfidos plaga.

**Tabla 1.2.** Listado de virosis observadas en *M. sativa* y sus respectivos vectores.

<b>Virus</b>	<b>Género</b>	<b>Familia</b>	<b>Vector</b>	<b>Autor</b>
Alfalfa latent virus (ALV)	<i>Carlavirus</i>	Betaflexiviridae	<i>A. pisum</i>	Veerisetty & Brakke, 1977
Alfalfa leaf curl virus (ALCV)	<i>Geminivirus</i>	Geminiviridae	<i>A. craccivora</i>	Roumagnac <i>et al.</i> , 2015
Alfalfa mosaic virus (AMV)	<i>Alfamovirus</i>	Bromoviridae	<i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>T. trifolii</i>	Garran & Gibbs, 1982; Edwardson & Christie, 2018
Bean common mosaic virus (BCMV)	<i>Potyvirus</i>	Potyviridae	<i>A. pisum</i>	Gálvez & Morales, 1989
Bean leaf roll virus (BLRV)	<i>Luteovirus</i>	Luteoviridae	<i>A. pisum</i>	Cockbain & Gibbs, 1973
Bean yellow mosaic virus (BYMV)	<i>Potyvirus</i>	Potyviridae	<i>A. pisum</i> y <i>A. craccivora</i>	Gálvez & Morales, 1989; Edwardson & Christie, 2018
Cucumber mosaic virus (CMV)	<i>Cucumovirus</i>	Bromoviridae	<i>A. pisum</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>T. trifolii</i>	Nault <i>et al.</i> , 2004
Lucerne enation virus (LEV)	<i>Nucleorhabdovirus</i>	Rhabdoviridae	<i>A. craccivora</i>	Leclant <i>et al.</i> , 1973; Edwardson & Christie, 2018
Pea enation mosaic virus (PEMV)	<i>Enamovirus</i>	Luteoviridae	<i>A. pisum</i>	Cockbain & Costa, 1973; Cockbain & Gibbs, 1973
Pea seed-borne mosaic virus (PSbMV)	<i>Potyvirus</i>	Potyviridae	<i>A. pisum</i>	Aapola <i>et al.</i> , 1974
Peanut stunt virus (PSV)	<i>Cucumovirus</i>	Bromoviridae	<i>A. craccivora</i>	Ahmed & El-Sadig, 1985; Bananej <i>et al.</i> , 1998
Red clover vein mosaic virus (RCVMV)	<i>Carlavirus</i>	Betaflexiviridae	<i>A. pisum</i> y <i>T. trifolii</i>	Al-Shahwan <i>et al.</i> , 2016; Edwardson & Christie, 2018

### 1.3.5. – Reproducción

La mayoría de los áfidos se reproducen tanto sexual como asexualmente con varias generaciones partenogénicas entre cada reproducción sexual (Dixon, 1998). El término partenogénesis fue definido por Richard Owen en 1849 considerado como una sucesiva procreación de individuos a partir de un solo óvulo. Según Bonnet (1745) la aparición de formas sexuadas está directamente relacionada a la disminución de las temperaturas y al acortamiento del fotoperíodo. La periodicidad anual de las formas sexuadas está determinada por el ambiente.

Huxley (1858) demostró que con una fuente apropiada de alimento y clima templado la reproducción de los áfidos sería solo por partenogénesis.

La capacidad individual de los áfidos de establecer una colonia y la alta tasa de incremento a partir de la reproducción partenogenética, les confiere a estos insectos una importante ventaja con respecto a las especies de reproducción sexual en especial cuando colonizan nuevas áreas (Cuellar, 1977).

Dentro de ambos tipos de reproducción los áfidos son polimórficos presentando formas ápteras y aladas. El tipo de alimento, la disponibilidad del mismo y el estado fenológico de las hospederas son determinantes en la alternancia de ambas formas. La producción de individuos alados es dependiente de la densidad y de la calidad del alimento y es utilizado para la dispersión y colonización de nuevas hospederas (Dixon, 1998).

#### **1.4. – Manejo Integrado de Plagas**

En la antigüedad el hombre comenzó a suplir las necesidades alimentarias con la producción agrícola, en esta instancia las plagas no constituían un problema. Con el incremento de la población y, por ende, de la demanda de alimentos un nuevo paradigma plantea la necesidad de proteger a los cultivos de los daños ocasionados por las plagas utilizando tácticas de manejo mecánicas, físicas y biológicas (Pedigo, 1989).

A mediados del siglo XX se desarrollaron insecticidas orgánicos sintéticos que tuvieron un amplio espectro de control. Su uso desmedido ocasionó la desaparición de muchos controladores biológicos, la aparición de resistencia de las plagas a los insecticidas, la contaminación ambiental, la resurgencia de plagas y diversas problemáticas que afectaron la salud humana (Pedigo, 1989; Dewar, 2007).

La publicación de los libros “Silent Spring” de Rachel Carson en 1962 y “The Pesticide Conspiracy” de Robert van den Bosch en 1978 marcan el inicio del sistema postmoderno de agricultura y la implementación del manejo integrado de plagas.

En la actualidad existe una tendencia en el mundo que orienta la producción hacia una agricultura sustentable reconociendo los problemas asociados a los cambios implementados en el pasado. En este sistema de agricultura los problemas relacionados al manejo de plagas se hicieron más obvios y como respuesta a esta problemática nació el manejo “integrado” de plagas (MIP). En este sentido el MIP está a la vanguardia de la evolución postmoderna de la agricultura y constituye una primera etapa del desarrollo de una agricultura sustentable (Hilje & Saunders, 2008). Se debe entender al MIP como una filosofía y una metodología que enfatiza la necesidad de utilizar estrategias de manejo de la plaga que eviten el resurgimiento de la misma y que protejan al hombre y al medio ambiente que lo rodea (Dent, 2000). Los programas de MIP deben ser desarrollados para cada cultivo y para cada región moderando la población de la plaga por debajo del umbral daño económico (Romero, 2004).

#### **1.4.1. – Manejo Integrado de Plagas en *M. sativa***

Este sistema de manejo surge en Estados Unidos en 1976, en un esfuerzo por proteger los polinizadores presentes en el cultivo de alfalfa. Hoy en día este primer modelo del MIP es el referente a seguir para el manejo de la problemática asociada a las plagas en la producción de especies forrajeras (Ehler, 2006; Soroka & Otani, 2011).

#### **1.4.1.1. – Control biológico**

El control biológico podría ser descripto como una limitación en la abundancia de los organismos plaga por otros organismos considerados enemigos naturales y que en el contexto productivo mantendrían o reducirían las especies plaga por debajo del umbral de daño económico (Summers, 1998). En un sentido amplio, incluye predadores, parasitoides, bacterias, hongos y virus (Summers, 1998; Völkl *et al.*, 2007). A nivel mundial, existen diversos organismos que actúan como controladores biológicos de áfidos en el cultivo de *M. sativa*. En la Tabla 1.3. se pueden observar los controladores biológicos de los áfidos de *M. sativa* (Frezzi, 1971; Quintanilla, 1976; Aragón & Imwinkelried, 1995; van den Heuvel, *et al.*, 1997; Cheli *et al.*, 2006; Aragón & Imwinkelried, 2007; Armendano & González, 2010; Zumoffen *et al.*, 2010; Armendano & González, 2011; Manfrino *et al.*, 2011, Liu *et al.*, 2014; Manfrino *et al.*, 2014; Valles *et al.*, 2014; Zumoffen *et al.*, 2015; Frayssinet *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2016a).

**Tabla 1.3.** Controladores biológicos de áfidos plaga de *M. sativa*.

Orden	Especies
Araneae	<i>Araneus</i> sp. Clerck, 1757; <i>Lycosa poliostrata</i> (C. L. Koch, 1847); <i>Misumenops pallidus</i> (Keyserling, 1880) y <i>Oxyopes salticus</i> Hentz, 1845
Coleoptera	<i>Coccinella ancoralis</i> Germar, 1824; <i>Coleomegilla maculata</i> (De Geer, 1775); <i>Cycloneda sanguinea</i> (Linnaeus, 1763); <i>Eriopis connexa</i> (Germar, 1824); <i>Galerita collaris</i> Dejean, 1826; <i>Harmonia axyridis</i> (Pallas, 1773); <i>Hippodamia convergens</i> Guérin-Méneville, 1842; <i>Hyperaspis festiva</i> Mulsant, 1850 y <i>Scymnus (Pullus) argentinicus</i> (Weise, 1906)
Diptera	<i>Allograpta exotica</i> (Wiedeman, 1830); <i>A. obliqua</i> (Say, 1823) y <i>Baccha clavata</i> (Fabricius, 1794)
Hemiptera	<i>Geocoris</i> sp. Fallén, 1814; <i>Nabis</i> sp. Latreille, 1802 y <i>Orius insidiosus</i> (Say, 1832)
Hymenoptera	<i>Aphelinus mali</i> (Haldeman, 1851); <i>Aphidius colemani</i> (Dalman, 1820); <i>A. ervi</i> Haliday, 1834; <i>A. matricariae</i> Haliday, 1834; <i>A. smithi</i> Sharma & Subba Rao, 1959; <i>Diaeretiella rapae</i> (M'Intosh, 1855); <i>Lysiphlebus testaceipes</i> (Cresson, 1880); <i>Pachyneuron aphidis</i> (Sin. <i>P. siphonophorae</i> ) (Bouché, 1834); <i>Praon gallicum</i> Starý 1971 y <i>P. volucre</i> (Haliday, 1833)
Neuroptera	<i>Chrysopa externa</i> Hagen, 1861 y <i>C. lanata</i> Banks, 1910
Entomophthorales	<i>Conidiobolus obscurus</i> (I.M. Hall & P.H. Dunn) Remaud. & S. Keller, 1980; <i>Entomophthora planchoniana</i> Cornu, 1873; <i>Neozygites fresenii</i> (Nowakowski) Remaud. & S., Keller 1980; <i>Pandora neoaphidis</i> (Remaudière & Hennebert) Humber, 1989 y <i>Zoophthora radicans</i> (Brefeld) Batko, 1964
Picornavirales	<i>Acyrtosiphon pisum</i> virus (APV) y Aphid lethal paralysis virus - <i>Acyrtosiphon pisum</i> (ALPV-AP)

#### 1.4.1.2. – Control cultural

El control cultural está basado en cualquier modificación o manejo del medio que torne al cultivo desfavorable al desarrollo de las plagas. Incluye rotación de cultivos, fertilización, implantación de intercultivos o de cultivos consociados, como así también diversas prácticas de cosecha, conservación y almacenaje de la producción obtenida (Summers, 1998; Dent, 2000; Wratten *et al.*, 2007). El control cultural también puede ser utilizado para favorecer el desarrollo o proteger a los artrópodos que actúan como controladores biológicos (Summers, 1998; Wratten *et al.*, 2007). En la alfalfa, este control incluye modificaciones en las prácticas de

cosecha, tales como cosecha anticipada o atrasada, corte en bandas, corte de las borduras, remoción del forraje para el armado de fardos, rollos, ensilaje o henolaje (Zúñiga & Aguilera, 1989; Summers, 1998).

#### **1.4.1.3. – Control genético**

Uno de los métodos más promisorios para reducir la dependencia de los insecticidas es el uso de variedades resistentes (Pedigo, 1989). La resistencia se define como una característica hereditaria de las plantas que influye en el nivel de daño causado por el insecto o que reduce la probabilidad de una utilización exitosa de la planta por parte del insecto (Farrell, 1977).

Como parte de la variabilidad genética, los cultivares se componen de una población heterogénea de plantas mejoradas por una o más características específicas. Cada cultivar posee plantas resistentes y susceptibles a una determinada plaga y/o enfermedad (Summers, 1998; Spada, 2007).

El daño de los insectos fitófagos está limitado por una amplia variedad de defensas constitutivas e inducidas que afectan la preferencia y/o el desarrollo de los insectos plagas y, eventualmente, pueden afectar la habilidad de los predadores y parasitoides (Thompson & Goggin, 2006; Mazzuferi *et al.*, 2011). Las defensas inducidas requieren de estímulos ambientales para su activación, mientras que las defensas constitutivas no requieren de estímulos para su activación y están presentes antes, durante y después de que el insecto plaga haya arribado a la planta. El nivel y el efecto de las respuestas inducidas pueden mostrar una gran variación temporal y espacial (respuesta sistémica o localizada) (Agrell *et al.*, 2003).

Las plantas resistentes son aquellas que resultan menos dañadas o infestadas por los artrópodos. En este aspecto debemos considerar tres componentes básicos involucrados: la no preferencia, la antibiosis y la tolerancia. En primer lugar, las plantas pueden ser *no preferidas* para la ovoposición, para el refugio o para alimentarse, debido específicamente a la carencia de cualidades químicas de los vegetales en cuestión. En segundo lugar, las plantas resistentes podrían afectar adversamente la biología del insecto, componente de resistencia que recibe el nombre de *antibiosis*. Por último, las plantas *tolerantes* son las que sobreviven a niveles de infestación que podrían dañar severamente o matar a las plantas susceptibles (Painter, 1951; 1958).

#### **1.4.1.4. – Control químico**

Los insecticidas sintéticos han sido considerados un componente esencial para el control de las plagas desde comienzos de los años 50, cuando los insecticidas organoclorados fueron introducidos ampliamente en el mundo. En la Tabla 1.4. se detallan los principales insecticidas sintéticos utilizados para el control químico de áfidos plaga de *M. sativa* (Wilson & Davis, 1952; Hall & Dunn, 1959; DePew, 1961; Quintanilla, 1976; Zúñiga & Aguilera, 1989; Dewar *et al.*, 1992; Denholm *et al.*, 1998; Fuog *et al.*, 1998; Ishaaya & Horowitz, 1998; Kaufmann *et al.*, 2004; Aragón & Imwinkelried, 2007; Gort & Perdiguier Brun, 2007; Sadeghi *et al.*, 2009; Dutta *et al.*, 2016; Casafe, 2017). El uso continuo de estas sustancias se debió a su eficacia para reducir el número de insectos plaga, la rapidez en la acción tóxica (horas a días) y el bajo costo inicial comparado con otras técnicas de manejo (Summers, 1998; Dent, 2000).

**Tabla 1.4.** Insecticidas sintéticos utilizados para el control de áfidos plaga de *M. sativa* en distintos países del mundo.

<b>Clase química</b>	<b>Insecticida</b>
Organoclorados	DDT, Endosulfán, Metoxicloro y Lindano
Organofosforados	Azinfós-metil, Carbofenotión, Clorpirifós, Demetón, Diazinón, Dimetoato, Disolfoton, Fenitrotión, Fosfamidón, Gutiión, Malatión, Metil-paratión, Mevinfós, Mercaptotión, Metamidofós, Ometoato, Paratión, Pirimifos-metil y Tiometón
Carbamatos	Carbaril, Ethiofencarb, Pirimicarb y Triazamato
Neonicotinoide	Acetamiprid, Clotianidina e Imidacloprid
Origen vegetal	Nicotina y Rotenona
Piretroides	Alfa-cipermetrina, Cipermetrina, Deltametrina, Esfenvalerato, Lambda-cihalotrina, Tau-fluvalinato y Zeta-cipermetrina
Piridina	Piriproxifen
Piridina azometina	Pymetrozine
Piridina carboxamida	Flonicamid
Tiadiazinona	Buprofezin
Tiourea	Diafenthiuron

La mayoría de los insecticidas sintéticos utilizados en el control de áfidos en el cultivo de alfalfa son de acción sistémica. Estos productos son transportados desde el punto de aplicación a las diferentes partes de la planta a través de los vasos xilemáticos y floemáticos (Summers, 1998; Dewar, 2007).

A pesar de los beneficios que otorga el hecho de utilizar este tipo de insecticidas para el control de áfidos a corto plazo, a largo plazo, las desventajas de su uso son mayores. Cuatro problemas mayoritarios han surgido como resultado del uso masivo de insecticidas durante los últimos 70 años. En primer lugar, ha provocado contaminación ambiental debido a que son sustancias de difícil degradación, algunas bioacumulables. El segundo problema surge de su falta de selectividad, ocasionando la eliminación de la entomofauna benéfica y la aparición de plagas secundarias. El tercer problema es la toxicidad ocasionada a mamíferos generando un peligro potencial para la salud humana. El cuarto problema causado por el uso indiscriminado de insecticidas es el desarrollo en los insectos de fenómenos de resistencia (Pedigo, 1989; Ishaaya & Horowitz, 1998; Dent, 2000; Dewar, 2007;

Batish *et al.*, 2008; Dehghani-Samani, *et al.*, 2015). La resistencia de insectos a insecticidas es una de las principales barreras que reducen la eficiencia de los agroquímicos (Foster *et al.*, 2007). Este fenómeno ha proliferado exponencialmente, para constituir hoy día una consideración indispensable en todos los programas de control de plagas. Las desventajas citadas anteriormente nos llevan a evaluar otros métodos alternativos de control como son los insecticidas de origen vegetal. Estos productos presentan alta selectividad, baja persistencia ambiental, baja toxicidad en mamíferos y una rápida acción (Isman, 2000; Isman & Machial, 2006; Turek & Stintzing, 2013). Además, tienen especial interés debido a que podrían retrasar la aparición de resistencia, ya que están constituidos por una mezcla de varios compuestos con distintos modos de acción (Völlinger, 1995; Tripathi *et al.*, 2009).

Con el fin de elaborar estrategias de control que permitan la implementación de diversas prácticas agrícolas integradas, se plantean las siguientes hipótesis generales.

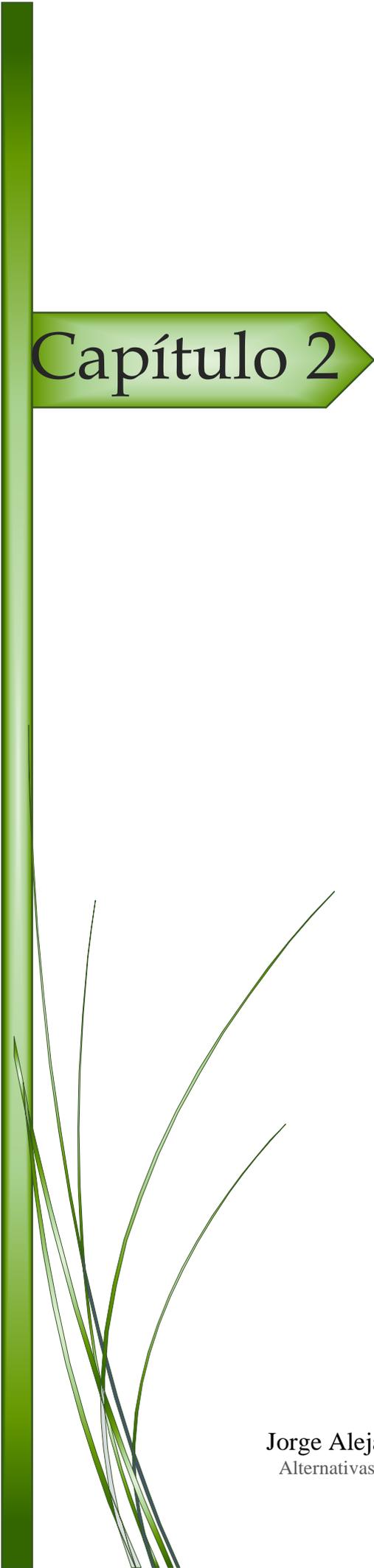
### **1.5. – Hipótesis general**

- ✱ Los cultivares de *Medicago sativa* presentan resistencia por antixenosis, resistencia por antibiosis y tolerancia a los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.
- ✱ Los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* tienen actividad insecticida, repelente y afectan la supervivencia y fecundidad de los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

En base a estas hipótesis se plantean los siguientes objetivos generales.

### **1.6. – Objetivos generales**

- ✱ Evaluar la resistencia por antixenosis, resistencia por antibiosis y tolerancia de cultivares de alfalfa a los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.
  
- ✱ Evaluar la actividad insecticida, repelente y las alteraciones en la supervivencia y fecundidad producida por los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* en adultos de *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.



## Capítulo 2

**Jorge Alejandro Jose Bizet Turovsky**

Alternativas de manejo de áfidos limitantes de la producción de  
alfalfa en el Sudoeste bonaerense

# Resistencia vegetal a insectos plaga

---

## 2.1. – Historia de la resistencia

Durante el siglo XVIII comenzó en Estados Unidos el desarrollo y multiplicación de cultivares resistentes a insectos plaga. En 1792, Havens identificó resistencia al díptero *Mayetiola destructor* en el cultivar de trigo Underhill y, en 1831, Lindley recomendó el uso de los cultivares de manzana “Winter Majetin” y “Siberian Bitter Sweet” por su resistencia al áfido *Eriosoma lanigerum*. El mayor logro fue la obtención de cepas resistentes a *Daktulosphaira vitifoliae* (Hemiptera: Aphididae) en vides europeas en el año 1880 utilizando pies americanos resistentes al áfido (Painter, 1951; Smith, 2005).

Alrededor de 1990, con el redescubrimiento de las leyes de Mendel el desarrollo de plantas resistentes a artrópodos se volvió más formal. Fue a partir de la publicación del libro “*Insect resistance in crop plants*” de Painter en 1951 que se iniciaron las primeras investigaciones serias sobre los mecanismos de resistencia de las plantas hacia las plagas. En el periodo comprendido entre los años 1990-2000 en Estados Unidos se reportaron más de 100 plantas resistentes a artrópodos plaga. Desde entonces, el desarrollo y uso de cultivos resistentes ha mejorado sustancialmente la producción y la calidad de los alimentos en las principales zonas productoras en los últimos años (Smith, 2005).

## **2.2. – Definición de resistencia**

El concepto de resistencia posee relevancia en distintos ámbitos y es utilizado en variadas temáticas. En el contexto agronómico la resistencia de las plantas a los artrópodos ha sido abordado por diferentes autores (Smith, 2005; van Emden, 2007).

Tempranamente en 1941, Snelling definió a la resistencia como aquellas características que permiten a un vegetal evitar, tolerar o recuperarse de los ataques de insectos bajo determinadas condiciones.

En 1951, Painter introdujo pequeñas modificaciones y definió a la resistencia de las plantas a los insectos como la cantidad relativa de cualidades heredables poseídas por las plantas que influyen en el grado máximo de daño causado por el insecto. Este autor propuso tres bases o mecanismos de resistencia: antibiosis, no preferencia y tolerancia.

En 1965, Beck define a la resistencia como el conjunto de características heredables mediante las que una especie vegetal, clon o individuo reduce la probabilidad de ser utilizada como huésped por una especie, raza o biotipo de insecto. Este autor no considera a la tolerancia como un tipo de resistencia, ya que, si bien es una importante característica agronómica que implica una relación biológica entre los insectos y las plantas, es muy diferente de la resistencia en sentido estricto.

Para Kogan (1975) la resistencia es la propiedad heredable que permite a una planta restringir el crecimiento de una población de insectos o recuperarse de las lesiones causadas por esa población. Las teorías coevolutivas involucran dos

categorías de resistencia, antibiosis y antixenosis, que representan mecanismos diferentes de la tolerancia (Kogan & Ortman, 1978).

Es por estos motivos que en esta tesis se usará “*resistencia por antibiosis*” y “*resistencia por antixenosis*” para referirse, respectivamente, a plantas que exhiben antibiosis y antixenosis, mientras que para las plantas tolerantes se usará únicamente el término “*tolerancia*”, considerando a la tolerancia como una parte integral de la resistencia de las plantas a los insectos plaga.

## **2.3. Resistencia por antixenosis**

---

### **2.3.1 – Introducción**

Originalmente, en 1951 Painter definió el término no preferencia como el grupo de caracteres de la planta que la tornan no elegida por los artrópodos para la alimentación, la oviposición y/o el refugio. El término resistencia por antixenosis fue desarrollado por Kogan & Ortman en 1978 para describir más apropiadamente la reacción de no preferencia de los artrópodos frente a una planta resistente y para complementar la resistencia por antibiosis frente a los artrópodos.

Tanto la antixenosis como la no preferencia denotan la presencia de factores morfológicos o químicos que alteran de forma adversa el comportamiento de los artrópodos, lo que genera como resultado la selección de una planta huésped alternativa (Smith, 2005).

El color del follaje, los compuestos volátiles y las barreras físicas como los depósitos de cera sobre hojas, tallos o frutos o la densidad de tricomas, son factores que afectarían la libre elección del hospedero por parte de los artrópodos plaga (Smith, 2005; Aznar Fernández & Rubiales, 2018).

Por otra parte, las plantas resistentes carecerían de los niveles de fitoquímicos necesarios para estimular la alimentación u oviposición de los artrópodos plaga, escapando de esta manera al consumo por parte de los fitófagos. Finalmente, estas plantas podrían contener metabolitos químicos de naturaleza tóxica que actuarían durante el proceso de digestión de las plagas (Smith, 2005).

La interpretación del fenómeno de antixenosis en la resistencia de la planta frente a la herbivoría está en íntima relación con la percepción sensorial por parte de los artrópodos (Smith, 2005).

### **2.3.2. – Selección de las hospederas**

Las plantas con resistencia por antixenosis afectan el proceso de selección de hospederas por parte de los áfidos. La primera fase en el proceso de selección se inicia con la percepción de señales visuales y/u olfativas y finaliza cuando el áfido se posa sobre la planta. En la segunda fase, el áfido examina la superficie vegetal y comienza la ingestión y la evaluación de la savia floemática. En cualquiera de estas instancias el áfido puede rechazar la planta y buscar otra hospedera (Prado, 1997; Schoonhoven *et al.*, 1998). Por lo general, los áfidos abandonan las plantas “no huéspedes” después de la penetración de los estiletes y antes de alcanzar el floema (Powell & Hardie, 2000).

A continuación, se detallan algunos factores básicos que rigen la percepción sensorial y el conjunto de estímulos externos detectados por los receptores olfativos, visuales, táctiles y gustativos de los áfidos (Smith, 2005).

#### **2.3.2.1. – Color**

El color que presenta un determinado órgano vegetal depende generalmente del predominio de algún pigmento o de la combinación de ellos. En ocasiones los pigmentos que condicionan el color están estrechamente ligados a las actividades fisiológicas del propio vegetal (Buchanan *et al.*, 2015). En algunas hojas de color rojo o amarillo, la clorofila está enmascarada por otros pigmentos asociados como

son las xantófilas y los carotenos alfa, beta y gamma (Bartley & Scolnik, 1995; Azcón Bieto & Talón, 2013). La variación en la intensidad de los colores y los contrastes desempeñan un rol importante en la selección de la planta huésped (Klingauf, 1987).

Hace más de 50 años, Moëricke precisó el rol que juega el color de las plantas en la elección de las hospederas por parte de los áfidos (Moëricke, 1955). La mayoría de los insectos del suborden Sternorrhyncha son atraídos por los colores en el rango de 500 a 600 nm (amarillo-verde) (Klingauf, 1987; Sadasivam & Thayumanavan, 2003).

#### **2.3.2.2. – Compuestos volátiles**

En los áfidos, el sistema olfativo está presente tanto en las ninfas como en los adultos, es de origen cuticular y está localizado en las rinarias antenales (Shambaugh *et al.*, 1978; Hardie *et al.*, 1994; Pettersson *et al.*, 1994; van Giessen *et al.*, 1994; Dixon, 1998; Schoonhoven *et al.*, 1998). Mustaparta (1975a, b) destaca que las sensillas del sistema olfativo de los artrópodos en general responden a componentes odoríferos específicos de cada planta. Estudios posteriores determinaron que los artrópodos utilizan el sistema olfativo para diferenciar entre plantas resistentes y susceptibles dentro de las especies huésped (Smith, 2005). Los compuestos volátiles emitidos por las plantas podrían estimular los receptores olfativos dirigiendo el movimiento de los áfidos hacia la fuente odorífera (Pettersson *et al.*, 1994; Webster *et al.*, 2008). En sentido opuesto, las plantas que exhiben resistencia por antixenosis liberarían compuestos volátiles que percibidos por las rinarias de los áfidos ocasionarían un alejamiento o rechazo de las plantas

emisoras (Gibson & Pickett, 1983; Lapointe & Tingey, 1984, 1986; Goffreda *et al.*, 1989; Mostafavi *et al.*, 1996).

### **2.3.2.3. – Tricomas**

Los tricomas son estructuras celulares epidérmicas, cuya forma, función y distribución varían ampliamente en la planta (Kreitner & Sorensen, 1979a). Cuando están presentes, constituyen la primera estructura de la planta que entra en contacto con los artrópodos (Smith, 2005). Pueden ser unicelulares o multicelulares, glandulares o no, rectos, en espiral, con forma de gancho, simples, peltados o estrellados (Levin, 1973). Los tricomas simples y con forma de gancho actúan como barrera física que limita el contacto del insecto plaga con la planta, mientras que los glandulares producen exudados químicos gomosos, pegajosos o polimerizantes que limitan el movimiento del insecto (Kreitner & Sorensen, 1979a, b; Goffreda *et al.*, 1989; Peter *et al.*, 1995; Sadasivam & Thayumanavan, 2003; Smith, 2005). Ambos tipos de tricomas son considerados barreras que causan resistencia por antixenosis en insectos pequeños como los áfidos (van Emden, 2007). En ocasiones, la elevada densidad de tricomas simples limita la capacidad de los áfidos de adherirse a la superficie vegetal y de iniciar y/o de mantener la alimentación (Roberts & Foster, 1983; Stoner, 1992; Webster *et al.*, 1994; Zuparko & Dahlsten, 1994; Sadasivam & Thayumanavan, 2003; Simmons *et al.*, 2005). La presencia de tricomas no es un determinante estricto en la elección de los hospedantes, hay especies vegetales que no logran disuadir a los áfidos a pesar de presentar una gran cantidad de tricomas y variedades glabras en las cuales el número de áfidos es menor en comparación a aquellas que son pubescentes (Weathersbee III & Hardee, 1994; Webster *et al.*,

1994; Weathersbee III *et al.*, 1995; Åhman *et al.*, 2000; Rodrigues *et al.*, 2010, 2012).

#### **2.3.2.4. – Ceras**

La cera epicuticular protege a las plantas de la desecación, de la depredación de los insectos plaga y de las enfermedades (Sadasivam & Thayumanavan, 2003; Tafolla Arellano *et al.*, 2018). Son mezclas complejas que incluyen principalmente n-alcános (de siete a 62 átomos de carbono) ramificados o no, saturados o insaturados, como así también alcoholes y ácidos y, por lo general, están estrechamente relacionadas con la antixenosis (Sadasivam & Thayumanavan, 2003).

Una vez que el áfido elige una planta como hospedera, los órganos sensoriales de los tarsos, estiletes y antenas perciben los estímulos químicos y táctiles de la superficie de la hoja (Smith, 2005), en esta etapa las ceras juegan un rol preponderante en el reconocimiento específico de la planta (Klingauf, 1987; Powell *et al.*, 1999).

Si bien hay numerosas citas acerca del rol de estas ceras epicuticulares en la resistencia por antixenosis (Tsumuki *et al.*, 1989; Robertson *et al.*, 1991; Moharramipour *et al.*, 1997; Shepherd *et al.*, 1999; Wójcicka, 2016; Ahmed *et al.*, 2018), algunos investigadores afirman que hay especies vegetales con muy escasas ceras epicuticulares que son resistentes a la herbívora (Thompson, 1963; Starks & Weibel, 1981; Lowe *et al.*, 1985; Stoner, 1992; White & Eingenbrode, 2000; Tafolla Arellano *et al.*, 2018).

### 2.3.2.5. – Aleloquímicos

Los aleloquímicos son compuestos orgánicos que surgen del metabolismo secundario de la planta. No cumplen una función directa en el crecimiento y desarrollo vegetal y, la gran mayoría, actúan como compuestos de defensa (Taiz & Zeiger, 2002; Camarena Gutiérrez, 2009). Pueden desencadenar reacciones de aceptación o de rechazo de la planta huésped antes de que los áfidos lleguen a alimentarse del floema. Estos metabolitos pueden ser deterrentes favoreciendo la antixenosis, aunque en un futuro inmediato podrían afectar la supervivencia, reproducción y longevidad del áfido plaga (Schoonhoven & Derksen-Koppers, 1976; Klingauf, 1987; Pickett *et al.*, 1992; Cole, 1997a, b; Awmack & Leather, 2002; Gabryś & Tjallingii, 2002; Lu *et al.*, 2016).

La mayoría de estos compuestos se almacenan en las vacuolas epidérmicas bajo la forma de amidas o glucósidos, que al entrar en contacto con las enzimas vegetales se convierten en sustancias tóxicas para los insectos (Matile, 1984; Argandoña *et al.*, 1987; Pettersson *et al.*, 2007). Los áfidos, por medio de sus estiletes, durante la alimentación, llegan a las vacuolas epidérmicas y evalúan los aleloquímicos presentes dentro de las células, evitando así la formación de compuestos tóxicos. La evaluación la realiza el órgano gustativo "faríngeo", que desempeña un papel crucial en la selección quimiosensorial de la planta huésped (Wensler & Filshie, 1969; Pickett *et al.*, 1992; Tjallingii, 1994; Pettersson *et al.*, 2007).

A través de los aleloquímicos, los áfidos pueden reconocer las plantas pertenecientes a una determinada familia botánica (Wensler, 1962; Gabryś & Tjallingii, 2002). Los compuestos pueden actuar como fagoestimulantes (Wink *et al.*, 1982; Cole, 1997a, b) y como indicadores de los sitios de alimentación en la

planta (Gabryś *et al.*, 1997; Hopkins *et al.*, 1998). Mientras que, en otros casos, estos aleloquímicos podrían actuar evitando la colonización y/o la alimentación de los áfidos (Long *et al.*, 1977; Dreyer & Jones, 1981; Dreyer *et al.*, 1981; Wink *et al.*, 1982; Dreyer *et al.*, 1985; Leszczyński *et al.*, 1985; Dreyer *et al.*, 1987; Givovich & Niemeyer, 1991, 1995; Cole, 1997a; Gabryś & Tjallingii, 2002; Edwards *et al.*, 2003).

#### **2.3.2.6. – Impedimentos físicos**

Las estructuras foliares que impiden al áfido alcanzar los haces floemáticos se consideran como un mecanismo de resistencia por antixenosis. Un claro ejemplo de ello es la mayor metilación de la pectina de la laminilla media (Dreyer & Campbell, 1984). En otras ocasiones, los impedimentos físicos pueden ser inducidos por el áfido. En estas especies se puede depositar callosa en las proximidades de la vaina del estilete del insecto impidiendo al áfido alcanzar los haces del floema (Shinoda, 1993).

#### **2.3.2.7. – Necrosis local**

La necrosis local es una repuesta de hipersensibilidad de las plantas, en la cual se produce la muerte programada de las células vegetales (Thompson & Goggin, 2006; Klingler *et al.*, 2009). En el sitio de inserción de los estiletes se observa una reacción celular rápida que implica un aumento en la producción de polifenoles seguido del colapso celular (Alston & Briggs, 1970; Belefant Miller *et al.*, 1994). La necrosis local inducida por áfidos depende de la relación entre la especie de áfido y la especie vegetal (Klingler *et al.*, 2009; Kanvil *et al.*, 2014).

En base a estos antecedentes se plantean las siguientes hipótesis.

### **2.3.3. – Hipótesis**

- ✳ Los cultivares de *Medicago sativa* poseen resistencia por antixenosis a los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

### **2.3.4. – Objetivo**

- ✳ Evaluar la resistencia por antixenosis de cultivares de *Medicago sativa* a *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

### **2.3.5. – Materiales y Métodos**

#### **2.3.5.1. Insectos**

Se utilizaron adultos ápteros de *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* provenientes de colonias susceptibles criadas en el laboratorio de Zoología Agrícola, Dpto. de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. Esta población fue establecida a partir de hembras ápteras virginóparas colectadas de una parcela experimental de *M. sativa* ubicada en el predio del Campus de la Universidad Nacional del Sur (lat 38° 41' 48,70" S, long 62° 14' 58,38" O).

Los insectos fueron criados sobre plantas de *M. sativa* en condiciones controladas de temperatura y humedad relativa (24±1°C y 65±10 % HR) con un fotoperíodo 12:12 (L: O).

### **2.3.5.2. Material vegetal**

Los cultivares utilizados fueron ACA 605, CW 620, Garufa, Pampa Flor, SPS 6550, Venus y Victoria con un GRI 6; Armona, Carmina, CW 830, Esperanza, Gateado, Monarca, Río Grande con un GRI 8; ACA 903, Brava, Cuf 101, CW 194, EBC 90, Medina, P 5939 y Sirosal con un GRI 9 y CW 1010 con un GRI 10 elegidos de acuerdo a la información brindada por la red de evaluación de cultivares de *M. sativa* del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

Las semillas de los diferentes cultivares fueron provistas por el INTA – Red de Evaluación de Alfalfa y sembradas individualmente en macetas de arcillas de 10 cm de diámetro con un suelo Haplustol éntico, fertilizado a tasas comerciales (Soil Survey Staff, 1999). Las plantas fueron mantenidas bajo condiciones controladas de temperatura y humedad ( $24\pm 1^{\circ}\text{C}$  y  $65\pm 10\%$  HR) y fotoperíodo 12:12 (L: O).

### **2.3.5.3. Ensayo de resistencia por antixenosis**

Se evaluó mediante la prueba de libre selección de hospedero. Para ello, en el estado de 2 a 3 hojas verdaderas, se ubicó una planta de cada uno de los cultivares formando un círculo. En el centro de ese círculo, se colocó una cantidad de insectos equivalente a 10 adultos por planta, mediante la ayuda de un pincel fino, para no dañar a los áfidos (Castro *et al.*, 2001). Cada arena experimental se aisló colocando un cilindro transparente con malla antiáfido en su extremo superior. Se registró el número de áfidos presente en cada cultivar a las 24 y 48 horas posteriores a la liberación. Se realizaron tres réplicas y cada experimento se repitió tres veces en forma independiente. Los datos fueron analizados mediante la prueba de varianza ANOVA previa verificación de los supuestos de normalidad con el test de Shapiro-

Wilks y de homocedasticidad con la prueba de Levene (InfoStat, 2018). Al no cumplirse el supuesto de normalidad los datos fueron previamente transformados por la  $\sqrt{(x + 1)}$ . Las medias fueron separadas mediante el test de diferencias mínimas significativas (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Se realizó una correlación de Pearson tanto para evaluar el comportamiento de cada especie en los diferentes periodos de evaluación (Kemal *et al.*, 2005) como para observar similitudes en el comportamiento de selección entre especies de áfidos.

### **2.3.6. – Resultados**

En la Tabla 2.1. se detalla el promedio de adultos de *A. pisum* presentes en los cultivares a las 24 y 48 horas.

A las 24 horas el cultivar ACA 903 fue el más elegido por *A. pisum* (8,64 áfidos), diferenciándose significativamente del resto de los cultivares evaluados, exceptuando Carmina (6,63 áfidos), Venus (6,61 áfidos) y Río Grande (6,32 áfidos) (DMS,  $p < 0,05$ ). El cultivar menos preferido por *A. pisum* fue CW 194 (1,21 áfidos), no hallándose diferencias significativas con Sirosal, P 5939 y CW 620 (DMS,  $p < 0,05$ ).

A las 48 horas, los cultivares con mayor número de áfidos fueron ACA 903 y Venus con 9,54 y 8,62 áfidos, respectivamente (DMS,  $p < 0,05$ ). Mientras que el menor número de áfidos se registró en CW 194 (1,64 áfidos), no hallándose diferencias significativas con EBC 90, Armona, Cuf 101, CW 620, Pampa Flor y CW 1010 (DMS,  $p < 0,05$ ).

**Tabla 2.1.** Número de adultos de *A. pisum* presentes en cultivares de *M. sativa*.

<b>Cultivar</b>	<b>24 horas</b>	<b>48 horas</b>
ACA 605	3,32 bcd	5,27 cde
ACA 903	8,64 h	9,54 f
Armona	3,96 cdef	3,24 abc
Brava	5,63 fg	5,27 cde
Carmina	6,63 gh	5,60 de
Cuf 101	3,27 bcd	3,24 abc
CW 194	1,21 a	1,64 a
CW 620	2,54 abc	3,24 abc
CW 830	4,97 defg	6,61 ef
CW 1010	3,62 bcde	3,32 abcd
EBC 90	2,65 bc	2,21 ab
Esperanza	3,96 cdef	6,61 ef
Garufa	5,97 g	4,97 cde
Gateado	3,96 cdef	4,62 cde
Medina	4,62 defg	5,27 cde
Monarca	5,32 efg	5,29 cde
P 5939	2,25 ab	3,96 bcd
Pampa Flor	4,62 defg	3,24 abc
Río Grande	6,32 gh	4,62 cde
Sirosal	2,21 ab	3,90 bcd
SPS 6550	3,32 bcd	5,29 cde
Venus	6,61 gh	8,62 f
Victoria	3,32 bcd	4,26 cde

**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En la Tabla 2.2. se muestra el promedio de adultos de *A. craccivora* observado en los cultivares a las 24 y 48 horas.

Transcurrida las primeras 24 horas, los cultivares CW 830 (7,66 áfidos) y CW 194 (7,64 áfidos) fueron los más elegidos, sin encontrarse diferencias significativas con Río Grande, Victoria, Venus, CW 1010, P 5939, Brava y EBC 90. El cultivar menos preferido fue ACA 605 (0,91 áfidos), no hallándose diferencias significativas con CW 620 y Pampa Flor (DMS,  $p < 0,05$ ).

Después de 48 horas, el cultivar más elegido fue CW 194 (7,98 áfidos) sin diferenciarse significativamente de SPS 6550, Carmina y CW 830 (DMS,  $p \geq 0,05$ ). Mientras que ACA 605 fue el menos preferido (2,54 áfidos), no encontrándose diferencias significativas con Medina, Cuf 101, P 5939, Monarca, Gateado, ACA 903, Pampa Flor y Victoria (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

**Tabla 2.2.** Número de adultos de *A. craccivora* presentes en cultivares de *M. sativa*.

Cultivar	24 horas	48 horas
ACA 605	0,91 a	2,54 a
ACA 903	4,28 efg	3,96 abcde
Armona	3,65 cde	4,32 cde
Brava	5,63 fghij	4,26 bcde
Carmina	4,59 efgh	6,63 fgh
Cuf 101	3,65 cde	2,65 ab
CW 194	7,64 j	7,98 h
CW 620	1,94 ab	4,65 cdef
CW 830	7,66 j	6,61 fgh
CW 1010	5,97 ghij	4,32 cde
EBC 90	5,63 fghij	5,63 efg
Esperanza	4,32 efg	4,26 bcde
Garufa	3,96 def	5,29 defg
Gateado	4,92 efghi	3,57 abcd
Medina	2,61 bcd	2,61 ab
Monarca	4,97 efghi	3,32 abc
P 5939	5,97 ghij	2,65 ab
Pampa Flor	1,94 ab	3,96 abcde
Río Grande	6,97 ij	5,65 efg
Sirosal	2,31 bc	4,97 cdefg
SPS 6550	4,92 efghi	6,94 gh
Venus	6,30 hij	5,29 defg
Victoria	6,63 ij	3,96 abcde

**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En la Tabla 2.3. se observa el promedio de adulto de *T. trifolii* presentes en los cultivares a las 24 y 48 horas posteriores a la infestación.

Durante las primeras 24 horas de ensayo el cultivar Medina fue el más elegido por *T. trifolii* (10,26 áfidos), hallándose diferencias significativas con Sirosal, Garufa, CW 1010, CW 620, Carmina, Monarca, Armona, Victoria, Esperanza, CW 830, Pampa Flor, ACA 605 y Brava (DMS,  $p < 0,05$ ). Los cultivares menos preferidos fueron ACA 605 (0,77 áfidos) y Brava (0,54 áfidos), hallándose diferencias significativas con el resto de los cultivares evaluados (DMS,  $p < 0,05$ ), exceptuando al cultivar Pampa Flor.

A las 48 horas los cultivares con mayor número de áfidos por tallos fueron Medina y P 5939 con 10,57 y 9,56 áfidos, respectivamente. El cultivar menos preferido por este áfido fue Brava (0,54 áfidos), no diferenciándose significativamente con los cultivares EBC 90, Carmina, CW 830, Cuf 101, Esperanza, Pampa Flor y ACA 605 (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

**Tabla 2.3.** Número de adultos de *T. trifolii* presentes en cultivares de *M. sativa*.

Cultivar	24 horas	48 horas
ACA 605	0,77 a	0,62 ab
ACA 903	7,87 defgh	6,57 defg
Armona	4,54 cd	4,45 cdef
Brava	0,54 a	0,54 a
Carmina	4,90 cde	3,13 abcd
Cuf 101	6,86 cdefgh	2,88 abcd
CW 194	7,87 defgh	7,14 efg
CW 620	5,16 cdef	3,86 cde
CW 830	3,70 bc	3,08 abcd
CW 1010	5,27 cdef	6,51 defg
EBC 90	6,86 cdefgh	3,24 abcde
Esperanza	4,17 bcd	2,82 abcd
Garufa	5,56 cdefg	8,22 fg
Gateado	9,62 gh	3,33 bcde
Medina	10,26 h	10,57 g
Monarca	4,88 cde	3,90 cde
P 5939	8,94 fgh	9,56 g
Pampa Flor	1,48 ab	2,29 abc
Río Grande	8,62 efg	5,84 cdefg
Sirosal	5,56 cdefg	6,22 defg
SPS 6550	7,20 cdefgh	3,97 cdef
Venus	6,91 cdefgh	7,24 efg
Victoria	4,45 cd	6,11 defg

**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Por otra parte, fue de interés evaluar si cada especie de áfido difería en la elección de los cultivares a las 24 horas y a las 48 horas. En las tres especies existe una correlación positiva entre el número de áfidos por cultivar a las 24 y 48 horas (Tabla 2.4.). En *A. pisum* y *T. trifolii* la correlación fue fuerte con un coeficiente de Pearson de 0,7687 y 0,7462, respectivamente. Sin embargo, al evaluar el comportamiento de *A. craccivora* se observó una correlación intermedia (0,4860).

**Tabla 2.4.** Correlación del número de áfidos por cultivar entre las 24 y 48 horas para cada especie.

Áfido	Coefficiente de Pearson	p-valor
<i>A. pisum</i>	0,7687	≤0,0001
<i>A. craccivora</i>	0,4860	0,0187
<i>T. trifolii</i>	0,7462	≤0,0001

Tanto a las 24 horas como a las 48 horas no se observó un comportamiento similar entre las distintas especies de áfidos frente a los 23 cultivares evaluados (Tabla 2.5. y 2.6.).

**Tabla 2.5.** Correlación del número de áfidos por cultivar entre especies a las 24 horas.

Relación entre especies de áfidos	Coefficiente de Pearson	p-valor
<i>A. pisum/A. craccivora</i>	0,0863	0,6953
<i>A. pisum/T. trifolii</i>	-0,0777	0,7243
<i>A. craccivora/T. trifolii</i>	0,3362	0,1167

**Tabla 2.6.** Correlación del número de áfidos por cultivar entre especies a las 48 horas.

Relación entre especies de áfidos	Coefficiente de Pearson	p-valor
<i>A. pisum/A. craccivora</i>	-0,0872	0,6923
<i>A. pisum/T. trifolii</i>	0,0121	0,9562
<i>A. craccivora/T. trifolii</i>	0,0409	0,8528

### 2.3.7. – Discusión

Las plantas utilizan variadas estrategias para defenderse de la herbivoría por parte de los insectos fitófagos (Sulistyo & Inayati, 2016). En el tiempo, los rasgos defensivos de las plantas, incluyendo las barreras físicas y los compuestos químicos, han coevolucionado junto a los bioagresores (Le Roux, 2010). Los insectos se orientan hacia el cultivo en busca de sitios de alimentación, oviposición

y/o refugio probablemente en base a características bioquímicas, morfológicas o a una combinación de ambas (Dent, 2000).

En la planta “per se” la antixenosis es el mecanismo de resistencia empleado para disuadir la colonización por parte de un insecto. En aquellas plantas que exhiben resistencia por antixenosis se esperaría una reducida infestación inicial y/o una alta emigración de los herbívoros plaga hacia plantas susceptibles (Dent, 2000).

A pesar de que a campo son las formas aladas de los áfidos las que realizan la selección del hospedero y colonizan el cultivo, en nuestros ensayos y en concordancia con las evaluaciones realizadas por otros investigadores, utilizamos formas ápteras de áfidos en razón de que su manejo es mucho más sencillo (Hesler & Dashiell, 2011; Doryanizadeh *et al.*, 2017), su proporción es menor con respecto a las formas ápteras y está relacionada con múltiples factores (Özgökçe *et al.*, 2018). Además, según otros autores, su presencia es estacional desarrollando en grandes cantidades al inicio de la primavera a fin de favorecer la dispersión (Mehrparvar *et al.*, 2013).

En nuestros ensayos a ambos tiempos de evaluación los cultivares menos preferidos fueron CW 194 para el áfido *A. pisum*, ACA 605 para el áfido *A. craccivora* y Brava para el áfido *T. trifolii*. Por otra parte, los cultivares más elegidos fueron ACA 903 y Venus para el áfido *A. pisum*, CW 194 para el áfido *A. craccivora* y Medina y P 5939 para *T. trifolii*.

Como se mencionó anteriormente algunas características morfológicas o químicas de los diferentes cultivares de alfalfa podrían haber determinado esta selección. El color del follaje, la presencia de tricomas glandulares, de ceras epicuticulares, de saponinas o las características de la superficie foliar que dificulta

la locomoción del insecto son algunos de los factores que contribuyen a la antixenosis de un cultivar como mecanismo de resistencia.

En nuestro estudio las diferencias en la preferencia de selección halladas entre las distintas especies de áfidos podrían deberse a una diferencia en la atracción generada por los diferentes colores. Si bien los áfidos son atraídos por colores que reflejan la luz en un espectro de 200 a 700 nm (Moericke, 1955, 1969) esta atracción es variable con las especies (Milošević *et al.*, 2014). Varios autores han observado que el áfido *A. pisum* es atraído por el color amarillo (Pedersen *et al.*, 1975; Milošević *et al.*, 2014), que el áfido *A. craccivora* es atraído con mayor frecuencia hacia los colores rojizos (Sathe *et al.*, 2015) mientras que, *T. trifolii* es fuertemente atraído por el color verde intenso (Chaudhary, 2012).

En general, la resistencia por antixenosis está positivamente correlacionada con la densidad de tricomas (González *et al.*, 2008; Doryanizadeh *et al.*, 2017). Varias especies de *Medicago* poseen tricomas simples y glandulares. En general, los tricomas glandulares le confieren resistencia al ataque de los insectos (Shade *et al.*, 1979; Peter *et al.*, 1995). Se ha observado que los tricomas glandulares erectos protegen a los cultivares de alfalfa frente de *Hypera variabilis* (Johnson *et al.*, 1980a, b), de *Agromyza frontella* (Mac Lean & Byers, 1983) y de *Empoasca fabae* (Shade *et al.*, 1979; Elden & McCaslin, 1997; Ranger *et al.*, 2004). Otros autores han observado que los tricomas glandulares protegen a *Medicago* de la presencia de los áfidos *A. pisum* (Shade & Kitch, 1983) y *T. maculata* (Ferguson *et al.*, 1982).

Al evaluar la antixenosis de los cultivares frente al áfido *T. trifolii* se observó que el cultivar Brava fue el más antixenótico tanto a las 24 horas como a las 48 horas. Según Bergman *et al.*, (1991) los ésteres de ceras presentes en las ceras

epicuticulares de las hojas de *M. sativa* podrían actuar como deterrentes de la alimentación a este áfido ocasionando la no selección del cultivar.

En base a los resultados obtenidos y a las hipótesis planteadas en el punto 2.3.3. podemos inferir que:

La hipótesis se acepta parcialmente dado que:

- ✱ A las 24 horas, los cultivares ACA 605, ACA 903, Armona, Brava, Carmina, Cuf 101, CW 830, CW 1010, EBC 90, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, Pampa Flor, Río Grande, SPS 6550, Venus y Victoria no poseen resistencia por antixenosis al áfido *A. pisum*.
- ✱ A las 48 horas, los cultivares ACA 605, ACA 903, Brava, Carmina, CW 830, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, P 5939, Río Grande, Sirosal, SPS 6550, Venus y Victoria no poseen resistencia por antixenosis al áfido *A. pisum*.
- ✱ A las 24 horas, los cultivares ACA 903, Armona, Brava, Carmina, Cuf 101, CW 194, CW 830, CW 1010, EBC 90, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, P 5939, Río Grande, Sirosal, SPS 6550, Venus y Victoria no poseen resistencia por antixenosis al áfido *A. craccivora*.
- ✱ A las 48 horas, los cultivares Armona, Brava, Carmina, CW 194, CW 620, CW 830, CW 1010, EBC 90, Esperanza, Garufa, Río Grande, Sirosal, SPS 6550 y Venus no poseen resistencia por antixenosis al áfido a *A. craccivora*.

✱ A las 24 horas, los cultivares ACA 903, Armona, Carmina, Cuf 101, CW 194, CW 620, CW 830, CW 1010, EBC 90, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, P 5939, Río Grande, Sirosal, SPS 6550, Venus y Victoria resultaron ser susceptible a *T. trifolii*.

✱ A las 48 horas, los cultivares ACA 903, Armona, CW 194, CW 620, CW 1010, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, P 5939, Río Grande, Sirosal, SPS 6550, Venus y Victoria no poseen resistencia por antixenosis al áfido *T. trifolii*.

## 2.4. Resistencia por antibiosis

---

### 2.4.1. – Introducción

Según Painter (1951), la antibiosis engloba “los efectos adversos en el ciclo de vida de los insectos que se generan cuando el insecto usa una variedad o especie de planta huésped resistente para alimentarse”.

Las defensas químicas y morfológicas de las plantas median la antibiosis, con efectos leves a letales sobre la biología de los insectos plaga (Painter, 1951; Smith, 2005).

Entre los factores que podrían afectar la resistencia por antibiosis podemos mencionar la ineficiente ingestión, asimilación y/o conversión de nutrientes y/o la síntesis y acumulación de sustancias aleloquímicas (Painter, 1951; Farrell, 1977; Klingler *et al.*, 2005).

### 2.4.2. – Mecanismos de la resistencia por antibiosis

En los insectos la mortalidad durante los primeros estadios de desarrollo, el tamaño, el peso, la duración de los estadios inmaduros y reproductivos, la longevidad, la tasa de fertilidad y de reproducción y el comportamiento anormal son indicadores útiles que nos permiten evaluar los efectos de la antibiosis (Painter, 1951; Sadasivam & Thayumanavan, 2003; Smith, 2005).

En aquellos áfidos que colonizan plantas con resistencia por antibiosis se observa una reducción de la supervivencia, del crecimiento y de la fecundidad y una mayor duración del desarrollo ninfal (van Emden, 2007). La antibiosis es

probablemente el mecanismo más espectacular de la resistencia y algunas de las posibles explicaciones fisiológicas de este fenómeno podrían basarse en la presencia de tricomas, de metabolitos o aleloquímicos, del nivel nutricional de la planta, de la presencia de aminoácidos no proteicos y de las respuestas inducidas.

#### **2.4.2.1. – Tricomas**

Los tricomas de algunas especies vegetales pueden actuar disuadiendo la oviposición, la alimentación y afectar la supervivencia de los áfidos (Levin, 1973; Khan *et al.*, 2000; Simmons *et al.*, 2005).

Algunos tricomas no glandulares con forma de gancho desempeñan un rol más específico en la defensa de las plantas (Johnson, 1953; Mizukoshi & Kakizaki, 1995). Según de Fluiter & Ankersmit (1948), algunos áfidos pueden quedar atrapados en estos tricomas ocasionando su muerte.

Los tricomas glandulares pueden secretar diversas sustancias como taninos, polifenoles, alcaloides y resinas (Levin, 1973). Según algunos autores, estos exudados pueden también acumularse en patas, tarsos y antenas inmovilizando al áfido y provocando la muerte por inanición (Gentile & Stoner, 1968; Gibson, 1971; 1976; Shade & Kitch, 1983; Holt & Birch, 1984; Lapointe & Tingey, 1986; Neal *et al.*, 1990; Simmons *et al.*, 2003).

#### **2.4.2.2. – Aleloquímicos**

Como se mencionó en el capítulo de antixenosis, los aleloquímicos no solo pueden influir en la elección de la planta, sino que también pueden tener efectos sobre la fecundidad, supervivencia y longevidad de los áfidos (Schoonhoven &

Derksen-Koppers, 1976; Klingauf, 1987, Pickett *et al.*, 1992; Cole, 1997a, b; Awmack & Leather, 2002; Gabryś & Tjallingii, 2002; Lu *et al.*, 2016). Se ha demostrado que factores ambientales, así como la edad fisiológica de la planta y la presencia de áfidos pueden afectar el contenido de aleloquímicos (Niemeyer *et al.*, 1989; Cabrera *et al.*, 1995; Tava *et al.*, 1999; Pecetti *et al.*, 2006; Stochmal & Oleszek, 2007; Mazahery Laghab *et al.*, 2011).

Los áfidos pueden vencer las defensas químicas de las plantas al reducir la tasa de reabsorción intestinal, generando así nuevos biotipos adaptados (Cardoza *et al.*, 2006; Goławska, 2007; Goławska *et al.*, 2012b). Según Ramírez *et al.* (1999) estos insectos son capaces de evolucionar a partir de experiencias previas, modificando su capacidad intrínseca para explorar los tejidos de la planta y evitar los compuestos tóxicos.

El efecto que tengan los aleloquímicos sobre los áfidos plaga también podría incidir en el desarrollo y en la eficiencia de los controladores biológicos (Fuentes Contreras & Niemeyer, 1998; Giles *et al.*, 2002; Du *et al.*, 2004).

Por lo general, las Fabáceas, familia a la cual pertenece *M. sativa*, poseen alcaloides, aminoácidos proteicos y no proteicos, cumarinas, enzimas, flavonoides, esteroides, fitoesteroides, compuestos fenólicos, saponinas y compuestos volátiles como terpenos y limoneno (Bora & Sharma, 2011). Varios autores han observado que algunos de estos compuestos pueden afectar la alimentación, la oviposición, la tasa de crecimiento, la fertilidad y pueden inhibir o inactivar las enzimas digestivas de los áfidos (Loper, 1968; Pedersen *et al.*, 1975, 1976; Kain & Biggs, 1980; Cole, 1984; Niraz *et al.*, 1985; Ciepiela, 1989; Leszczyński *et al.*, 1989; Grayer *et al.*, 1992; Rahbé & Febvay, 1993; Cole, 1994a, b; Cabrera *et al.*, 1995; Rahbé *et al.*,

1995; Berlandier, 1996; Simmonds, 2001; Sadasivam & Thayumanavan, 2003; Du *et al.*, 2004; Goławska *et al.*, 2006, 2008; Goławska & Łukasik, 2009; Goławska *et al.*, 2010, 2012a; Divya *et al.*, 2017).

#### **2.4.2.3. – Nivel nutricional de las plantas**

La calidad nutricional de las plantas juega un rol preponderante en la interacción entre las plantas huésped y el herbívoro (Douglas, 2003).

El nitrógeno es el macronutriente que posee la mayor influencia en el desarrollo y en la fecundidad de los insectos herbívoros (Douglas, 2006). La carencia de nitrógeno afecta especialmente a aquellos insectos que se alimentan de la savia floemática como ocurre con los áfidos (Hosseini *et al.*, 2015).

Según Ryalls *et al.* (2014) una reducida concentración de nutrientes en el floema podría afectar negativamente el crecimiento poblacional de los áfidos plaga tornando a las plantas más resistentes. Es probable que la concentración de nutrientes se modifique bajo diferentes condiciones ambientales, variaciones en el perfil del suelo, en el nivel de fertilizantes y con el estado fenológico del cultivo (McMurtry, 1962; Douglas, 1993; Cisneros & Godfrey, 2001; Karley *et al.*, 2002; van Emden, 2007; Ryalls *et al.*, 2014; Hosseini *et al.*, 2015). Según Hosseini *et al.* (2015) para un mismo cultivar, una mayor disponibilidad de nitrógeno en el suelo implica un aumento en la concentración de aminoácidos en el floema tornando las plantas más atractivas para los áfidos.

#### **2.4.2.4. – Aminoácidos no proteicos**

Las plantas sintetizan aminoácidos que no intervienen en la síntesis de las proteínas, y que son conocidos como aminoácidos no proteicos. Estructuralmente son semejantes a los aminoácidos proteicos y podrían ser utilizados por los insectos plaga en la síntesis de proteínas que producen trastornos metabólicos (Bennett & Wallsgrove, 1994; Taiz & Zeiger, 2002). Según varios autores, la concentración de estos aminoácidos se correlaciona con el nivel de resistencia de las especies vegetales a los áfidos plaga (Holt & Birch, 1984; Febvay *et al.*, 1988; Srivastava *et al.*, 1988; Kazemi & van Emden, 1992; Ciepiela *et al.*, 1994; Girousse & Bournoville, 1994; Weibull, 1994; Ciepiela & Sempruch, 1999; Liu *et al.*, 2016b).

#### **2.4.3. – Parámetros demográficos y poblacionales**

Para evaluar la resistencia por antibiosis se utilizan parámetros demográficos y poblacionales que son importantes indicadores para el manejo y la toma de decisiones de una población. La tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) es uno de los mejores indicadores del crecimiento poblacional de un grupo de insectos. Esta tasa surge de la combinación de tres parámetros que son la supervivencia, el tiempo de desarrollo y la fecundidad. El  $r_m$  se define como la tasa de aumento poblacional bajo condiciones específicas, en un entorno donde los efectos de la densidad creciente no necesitan ser considerados, por lo que el crecimiento poblacional es exponencial (Birch, 1948). Este es un indicador fiable para evaluar la resistencia de las plantas por antibiosis en diversas especies de insectos (Kamphuis *et al.*, 2013) y para determinar estrategias de control (van Rijn *et al.*, 1995).

En base a estos antecedentes se plantea la siguiente hipótesis.

#### 2.4.4. – Hipótesis

- ✱ Los cultivares de *Medicago sativa* poseen resistencia por antibiosis a los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

#### 2.4.5. – Objetivo

- ✱ Evaluar la resistencia por antibiosis de cultivares de *Medicago sativa* a *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

#### 2.4.6. – Materiales y Métodos

El material vegetal y los insectos se criaron según lo descrito en los puntos 2.3.5.1. y 2.3.5.2.

En plantas de cinco hojas se colocó una hembra reproductiva confinada utilizando una jaulita cilíndrica, tipo clip-on (1cm de alto x 1cm de diámetro) cubierta en la parte superior con malla antiáfido para evitar el parasitismo o el escape. Cuando el adulto comenzó su reproducción, fue retirado y se dejó solo una ninfa por planta. De esta manera se obtuvieron cohortes de la misma edad. Diariamente se registraron los cambios de estado, el número de individuos muertos y el número de ninfas nacidas (Descamps & Sánchez Chopa, 2011).

Para cada cultivar se evaluaron 4 cohortes de 30 individuos. Aquellas ninfas que murieron durante las primeras 24 horas fueron descartadas en el cálculo de los parámetros vitales.

Se estimaron los parámetros demográficos: supervivencia por edades ( $l_x$ ); fecundidad por edades ( $m_x$ ) y los parámetros poblacionales: tasa neta de reproducción ( $R_0$ ) (número de hembras recién nacidas por hembra); tasa intrínseca

de crecimiento natural ( $r_m$ ) (número de hembras por hembra por unidad de tiempo); tiempo generacional medio ( $T$ ) (tiempo promedio que transcurre entre dos generaciones sucesivas) y tasa finita de incremento ( $\lambda$ ) (número de veces que la población se multiplica sobre sí misma por unidad de tiempo) (Birch, 1948; Southwood & Henderson, 2000; Britton, 2003) y cuyas ecuaciones son las siguientes:

$$\sum_{x=1}^{\infty} (l_x \cdot m_x \cdot e^{-x \cdot r_m}) = 1$$

$$R_0 = \sum_{x=1}^{\infty} (l_x \cdot m_x)$$

$$T = \frac{\sum_{x=1}^{\infty} (x \cdot l_x \cdot m_x)}{\sum_{x=1}^{\infty} (l_x \cdot m_x)}$$

$$\lambda = e^{r_m}$$

donde:  $x$  = edad media (días),  $e = 2,718$ ,  $\ln$  = logaritmo natural.

Para estimar el valor del parámetro  $r_m$  que satisface la ecuación de Euler-Lotka (Ecuación 1) se usó el método de ajuste de curvas no lineal de mínimos cuadrados utilizando el algoritmo de optimización Gradiente Reducido Generalizado (GRG) (Excel Solver, 2016).

Se aplicó el método Jackknife para obtener estimadores de los parámetros demográficos y los correspondientes errores estándar, con los cuales es posible efectuar comparaciones entre las cohortes (Meyer *et al.*, 1986; Hulting *et al.*, 1990; Maia *et al.*, 2000; Mirmohammadi *et al.*, 2009).

Los datos fueron analizados mediante la prueba de varianza ANOVA previa verificación de los supuestos de normalidad con el test de Shapiro-Wilks y de

homocedasticidad con la prueba de Levene (InfoStat, 2018). Las medias fueron separadas mediante el test de diferencias mínimas significativas (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Con los resultados obtenidos se modelizaron curvas teóricas de crecimiento poblacional mediante la ecuación:

$$N_t = N_0 \cdot e^{r_m t}$$

donde:  $N_t$  = número total de áfidos en el tiempo  $t$ ;  $N_0$  = número inicial de áfidos;  $r_m$  = tasa intrínseca de crecimiento natural;  $t$  = tiempo en días.

#### **2.4.7. – Resultados**

Al evaluar los parámetros demográficos de *A. pisum* y de *A. craccivora* se observaron valores negativos de la tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ). Estos cultivares fueron considerados como altamente resistentes.

En la Tabla 2.7. se observan los estadísticos vitales para el áfido *A. pisum*. La tasa intrínseca de crecimiento natural ( $r_m$ ) de este áfido en los cultivares CW 1010, Pampa Flor, Sirosal y Venus presentó valores negativos debido a que por cada hembra en el presente habrá menos de una hembra ( $R_0$ ) en la próxima generación, lo que implica una disminución de individuos en la población a lo largo del tiempo ( $\lambda$ ). En estos cultivares el porcentaje de mortalidad ninfal osciló entre 74% al 87%.

**Tabla 2.7.** Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de *A. pisum* en diferentes cultivares de alfalfa.

Cultivar	Mort (%)	$r_m$ (♀/♀/día)	$R_0$ (♀/♀/generación)	$T$ (días)	$\lambda$ (♀/♀/día)
CW 1010	74,66	-0,0352 $\pm$ 0,0042	0,5447 $\pm$ 0,0099	12,1570 $\pm$ 0,6915	0,9638 $\pm$ 0,0039
Pampa Flor	82,06	-0,0157 $\pm$ 0,0026	0,6323 $\pm$ 0,0421	11,3649 $\pm$ 0,4122	0,9817 $\pm$ 0,0027
Sirosal	77,56	-0,0210 $\pm$ 0,0058	0,6743 $\pm$ 0,0488	13,4828 $\pm$ 0,4775	0,9786 $\pm$ 0,0057
Venus	87,22	-0,0322 $\pm$ 0,0050	0,4986 $\pm$ 0,0680	13,1771 $\pm$ 0,3517	0,9663 $\pm$ 0,0051

**Referencia:** Mort: mortalidad;  $r_m$ : tasa intrínseca de crecimiento natural;  $R_0$ : tasa neta de reproducción;  $T$ : tiempo generacional medio;  $\lambda$ : tasa finita de incremento.

En la Tabla 2.8. se presentan los parámetros demográficos obtenidos para *A. pisum* en los restantes 19 cultivares. Para todos los parámetros se observaron diferencias significativas entre los cultivares evaluados (DMS,  $p < 0,05$ ).

La tasa intrínseca de crecimiento natural ( $r_m$ ), la tasa neta de reproducción ( $R_0$ ) y la tasa infinita de incremento ( $\lambda$ ) fueron significativamente menores en el cultivar CW 194, diferenciándose del resto de los cultivares (DMS,  $p < 0,05$ ). Sobre el cultivar CW 194 la población creció 1,58 veces en 14,93 días ( $T$ ) y por cada hembra en el presente habrá 1,58 ( $R_0$ ) hembras en la próxima generación. Además, por cada hembra contemporánea, habrá casi 1,03 ( $\lambda$ ) hembras al día siguiente.

En los cultivares P 5939 y Río Grande se observó la mayor tasa intrínseca de crecimiento diferenciándose estadísticamente del resto de los cultivares (DMS,  $p < 0,05$ ). Sobre el cultivar P 5939 la población de *A. pisum* creció 18,60 veces en 12,27 días ( $T$ ) y en el cultivar Río Grande el crecimiento fue de 14,57 veces en 11,12 ( $T$ ). Además, por cada hembra contemporánea habrá casi 1,26 ( $\lambda$ ) hembras al día siguiente en el cultivar P 5939 y 1,27 ( $\lambda$ ) hembras al día siguiente en el cultivar Río Grande.

**Tabla 2.8.** Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de *A. pisum* en diferentes cultivares de alfalfa.

Cultivar	Mort (%)	$r_m$ (♀/♀/día)	$R_0$ (♀/♀/generación)	$T$ (días)	$\lambda$ (♀/♀/día)
ACA 605	6,47	0,2092 $\pm$ 0,0017 jk	20,3461 $\pm$ 0,5901 i	14,7227 $\pm$ 0,2523 gh	1,2326 $\pm$ 0,0021 jk
ACA903	30	0,2168 $\pm$ 0,0041 k	12,6675 $\pm$ 0,3547 f	11,8195 $\pm$ 0,1340 b	1,2419 $\pm$ 0,0051 k
Armona	56,52	0,1350 $\pm$ 0,0071 d	6,1279 $\pm$ 0,4982 c	13,7834 $\pm$ 0,2157 f	1,1442 $\pm$ 0,0083 d
Brava	56,64	0,1306 $\pm$ 0,0060 d	8,6590 $\pm$ 0,6756 d	17,5757 $\pm$ 0,2818 j	1,1389 $\pm$ 0,0068 d
Carmina	24,76	0,1818 $\pm$ 0,0011 fgh	15,1327 $\pm$ 0,5316 g	15,0777 $\pm$ 0,1038 hi	1,1992 $\pm$ 0,0013 fg
Cuf 101	71,89	0,0605 $\pm$ 0,0071 b	1,9016 $\pm$ 0,2470 ab	12,7152 $\pm$ 0,3302 cd	1,0612 $\pm$ 0,0081 b
CW 194	72,54	0,0359 $\pm$ 0,0062 a	1,5882 $\pm$ 0,1686 a	14,9311 $\pm$ 0,3236 hi	1,0360 $\pm$ 0,0065 a
CW 620	7,62	0,1938 $\pm$ 0,0033 hi	15,4565 $\pm$ 0,5003 g	14,1645 $\pm$ 0,0887 fg	1,2138 $\pm$ 0,0040 hi
CW 830	56,81	0,0800 $\pm$ 0,0052 c	3,0480 $\pm$ 0,2458 b	14,7601 $\pm$ 0,2972 h	1,0828 $\pm$ 0,0056 c
EBC 90	39,92	0,0841 $\pm$ 0,0065 c	2,4789 $\pm$ 0,1583 ab	11,2019 $\pm$ 0,1955 a	1,0876 $\pm$ 0,0072 c
Esperanza	11,65	0,1676 $\pm$ 0,0015 e	12,9336 $\pm$ 0,5543 f	15,3835 $\pm$ 0,1714 i	1,1823 $\pm$ 0,0019 e
Garufa	10	0,2129 $\pm$ 0,0030 jk	19,0650 $\pm$ 0,5117 h	13,9083 $\pm$ 0,1143 f	1,2353 $\pm$ 0,0006 jk
Gateado	8,75	0,2122 $\pm$ 0,0048 jk	9,4540 $\pm$ 0,1410 d	10,6826 $\pm$ 0,2019 a	1,2360 $\pm$ 0,0060 jk
Medina	20,58	0,2035 $\pm$ 0,0022 ij	21,0807 $\pm$ 0,4348 i	15,0246 $\pm$ 0,1288 hi	1,2258 $\pm$ 0,0028 ij
Monarca	13,23	0,1795 $\pm$ 0,0021 efg	11,9092 $\pm$ 0,2868 ef	13,7021 $\pm$ 0,1589 ef	1,1967 $\pm$ 0,0026 fg
P 5939	11,87	0,2365 $\pm$ 0,0023 l	18,6000 $\pm$ 0,5159 h	12,2751 $\pm$ 0,1576 bc	1,2668 $\pm$ 0,0030 l
Río Grande	5,95	0,2400 $\pm$ 0,0023 l	14,5750 $\pm$ 0,4426 g	11,1240 $\pm$ 0,0415 a	1,2711 $\pm$ 0,0030 l
SPS 6550	36,25	0,1736 $\pm$ 0,0034 ef	11,2250 $\pm$ 0,4768 e	13,9021 $\pm$ 0,1042 f	1,1895 $\pm$ 0,0039 ef
Victoria	5,88	0,1898 $\pm$ 0,0043 gh	12,0509 $\pm$ 0,4006 ef	13,1543 $\pm$ 0,2332 de	1,2090 $\pm$ 0,0053 gh

**Referencia:** Mort: mortalidad;  $r_m$ : tasa intrínseca de crecimiento natural;  $R_0$ : tasa neta de reproducción;  $T$ : tiempo generacional medio;  $\lambda$ : tasa finita de incremento. Valores seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

La tasa intrínseca de crecimiento de *A. craccivora* en los cultivares CW 1010, CW 194 y EBC 90 presentó valores negativos, debido a que por cada hembra en el presente habrá menos de una hembra en la próxima generación ( $R_0$ ), lo que implica una disminución en el número de individuos en la población a lo largo del tiempo

( $\lambda$ ). En estos cultivares el porcentaje de mortalidad ninfal osciló entre el 64% a 88% (Tabla 2.9.).

**Tabla 2.9.** Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de *A. craccivora* en diferentes cultivares de alfalfa.

Cultivar	Mort (%)	$r_m$ ( $\varphi/\varphi/\text{día}$ )	$R_0$ ( $\varphi/\varphi/\text{generación}$ )	$T$ (días)	$\lambda$ ( $\varphi/\varphi/\text{día}$ )
CW 194	88,75	-0,0133 $\pm$ 0,0135	0,6791 $\pm$ 0,1019	12,1273 $\pm$ 0,7370	0,9934 $\pm$ 0,0118
CW 1010	86,90	-0,0163 $\pm$ 0,0049	0,6785 $\pm$ 0,0153	13,1273 $\pm$ 0,9914	0,9823 $\pm$ 0,0048
EBC 90	64,43	-0,0070 $\pm$ 0,0092	0,8452 $\pm$ 0,0683	10,4257 $\pm$ 0,0442	0,9973 $\pm$ 0,0044

**Referencia:** Mort: mortalidad;  $r_m$ : tasa intrínseca de crecimiento natural;  $R_0$ : tasa neta de reproducción;  $T$ : tiempo generacional medio;  $\lambda$ : tasa finita de incremento.

En la Tabla 2.10. se presentan los parámetros demográficos obtenidos de *A. craccivora* en los restantes 20 cultivares. Para todos los parámetros demográficos se observaron diferencias significativas entre los cultivares evaluados (DMS,  $p < 0,05$ ).

La tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ), la tasa neta de reproducción ( $R_0$ ) y la tasa infinita de incremento ( $\lambda$ ) fueron significativamente menores en el cultivar Medina diferenciándose del resto de los cultivares (DMS,  $p < 0,05$ ). Los parámetros demográficos de *A. craccivora* sobre el cultivar Medina demostraron que la población creció 2,23 veces en 16,92 días ( $T$ ) y que por cada hembra en el presente habrá 1,06 ( $\lambda$ ) hembras al día siguiente. Además, por cada hembra contemporánea habrá 2,23 ( $R_0$ ) hembras en la siguiente generación.

En el cultivar P 5939 se observó la mayor tasa intrínseca de crecimiento diferenciándose estadísticamente del resto de los cultivares. La población de este áfido creció 18,55 veces en 10,16 días ( $T$ ). Por cada hembra contemporánea habrá 18,55 ( $R_0$ ) hembras en la próxima generación y 1,34 ( $\lambda$ ) hembras al día siguiente.

**Tabla 2.10.** Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de *A. craccivora* en diferentes cultivares de alfalfa.

Cultivar	Mort (%)	$r_m$ (♀/♀/día)	$R_0$ (♀/♀/generación)	$T$ (días)	$\lambda$ (♀/♀/día)
ACA 605	30	0,1081 $\pm$ 0,0025 bc	6,3975 $\pm$ 0,4090 bc	17,7470 $\pm$ 0,7408 h	1,1138 $\pm$ 0,0029 bc
ACA 903	44,04	0,1825 $\pm$ 0,0084 i	7,8571 $\pm$ 0,6700 cd	12,5095 $\pm$ 0,7332 c	1,2007 $\pm$ 0,0110 h
Armona	73,61	0,1169 $\pm$ 0,0056 cd	9,5361 $\pm$ 0,4474 de	21,8624 $\pm$ 0,8322 i	1,1231 $\pm$ 0,0062 cd
Brava	7,27	0,1852 $\pm$ 0,0032 i	16,2513 $\pm$ 0,4700 g	15,4777 $\pm$ 0,3913 def	1,2032 $\pm$ 0,0039 h
Carmina	60	0,0984 $\pm$ 0,0057 b	5,1750 $\pm$ 0,5121 b	18,3392 $\pm$ 0,8219 h	1,1027 $\pm$ 0,0061 b
Cuf 101	57,50	0,1595 $\pm$ 0,0031 h	21,8750 $\pm$ 0,9419 i	22,2410 $\pm$ 0,8978 i	1,1717 $\pm$ 0,0036 g
CW 620	47,22	0,1802 $\pm$ 0,0036 i	13,6194 $\pm$ 0,5400 f	15,1295 $\pm$ 0,3789 de	1,1969 $\pm$ 0,0043 h
CW 830	56,54	0,1473 $\pm$ 0,0083 fgh	5,5119 $\pm$ 0,8519 b	12,5815 $\pm$ 0,6246 c	1,1568 $\pm$ 0,0098 efg
Esperanza	56,25	0,1180 $\pm$ 0,0039 cde	6,3750 $\pm$ 0,4238 bc	16,9512 $\pm$ 0,3998 fgh	1,1241 $\pm$ 0,0042 cd
Garufa	56,25	0,1094 $\pm$ 0,0023 bcd	6,4062 $\pm$ 0,1385 bc	18,0265 $\pm$ 0,5741 h	1,1150 $\pm$ 0,0027 bc
Gateado	33,33	0,2786 $\pm$ 0,0041 l	13,4583 $\pm$ 0,1250 f	9,5445 $\pm$ 0,1075 a	1,3201 $\pm$ 0,0055 k
Medina	69,04	0,0606 $\pm$ 0,0059 a	2,2321 $\pm$ 0,3227 a	16,9242 $\pm$ 0,6216 fgh	1,0611 $\pm$ 0,0064 a
Monarca	16,07	0,14087 $\pm$ 0,0064 fg	10,2083 $\pm$ 0,8118 e	16,7550 $\pm$ 0,3340 efgh	1,1511 $\pm$ 0,0074 ef
P 5939	30	0,2942 $\pm$ 0,0033 m	18,5550 $\pm$ 0,2313 h	10,1695 $\pm$ 0,1814 ab	1,3412 $\pm$ 0,0046 l
Pampa Flor	30,55	0,2126 $\pm$ 0,0075 j	20,2638 $\pm$ 0,8616 i	14,5299 $\pm$ 0,4327 d	1,2359 $\pm$ 0,0094 i
Río Grande	24,16	0,2415 $\pm$ 0,0043 k	16,5472 $\pm$ 0,4221 g	11,7071 $\pm$ 0,1371 bc	1,2730 $\pm$ 0,0055 j
Sirosal	45,08	0,1536 $\pm$ 0,0063 gh	12,8303 $\pm$ 0,8341 f	17,3372 $\pm$ 1,0389 gh	1,1654 $\pm$ 0,0073 fg
SPS 6550	30	0,1235 $\pm$ 0,0082 de	7,400 $\pm$ 0,7393 c	17,1380 $\pm$ 0,4785 fgh	1,1271 $\pm$ 0,0083 cd
Venus	48,61	0,1497 $\pm$ 0,0048 gh	12,0268 $\pm$ 0,8010 f	17,8690 $\pm$ 0,7331 h	1,1608 $\pm$ 0,0053 fg
Victoria	29,76	0,1323 $\pm$ 0,0026 ef	7,9166 $\pm$ 0,2779 cd	16,0373 $\pm$ 0,3310 defg	1,1410 $\pm$ 0,0030 de

**Referencia:** Mort: mortalidad;  $r_m$ : tasa intrínseca de crecimiento natural;  $R_0$ : tasa neta de reproducción;  $T$ : tiempo generacional medio;  $\lambda$ : tasa finita de incremento. Valores seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En la Tabla 2.11. se detallan los estadísticos vitales obtenidos para *T. trifolii* en los 23 cultivares de *M. sativa*. Para todos los parámetros evaluados se observaron diferencias significativas entre los cultivares (DMS,  $p < 0,05$ ).

La tasa intrínseca de crecimiento poblacional fue menor en el cultivar Sirosal, diferenciándose significativamente del resto de los cultivares, exceptuando al cultivar Brava. En el cultivar Sirosal la población solo creció 10,08 veces en 19,07 días ( $T$ ). En este cultivar, por cada hembra actual habrá 10,08 ( $R_0$ ) hembras en la próxima generación y 1,13 ( $\lambda$ ) hembras al siguiente día. Mientras que en Brava la población creció 11,20 veces al cabo de 19,66 ( $T$ ) días y por cada hembra actual habrá 11,20 ( $R_0$ ) hembras en la siguiente generación y por una de ellas habrá 1,14 ( $\lambda$ ) hembras al día siguiente.

Por otro lado, la tasa intrínseca de crecimiento poblacional ( $r_m$ ) de la cohorte criada sobre el cultivar ACA 605 fue la mayor, diferenciándose estadísticamente del resto de los cultivares a excepción de P 5939 y Medina. El  $r_m$  fue de 0,3081 para el cultivar ACA 605, de 0,2971 para el cultivar P 5939 y de 0,2923 para el cultivar Medina, con una tasa finita de multiplicación de 1,3607 para ACA 605, de 1,3455 para P 5939 y de 1,3395 para Medina. De estos tres cultivares, el áfido presentó la mayor tasa neta de reproducción en Medina (62,59) y el menor tiempo generacional medio en P 5939 (12,62).

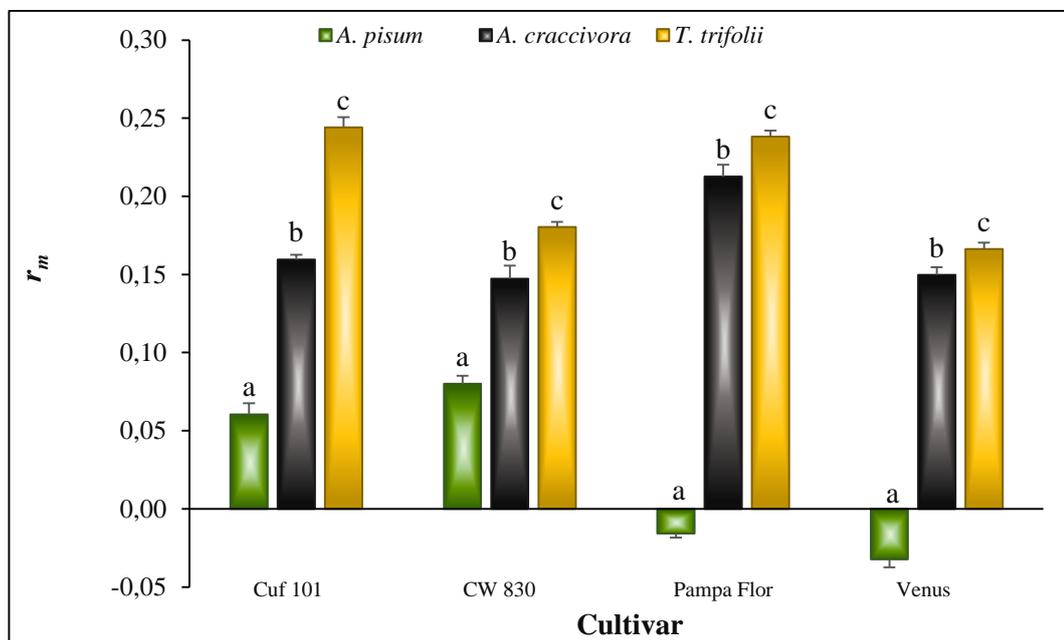
**Tabla 2.11.** Parámetros demográficos ( $\pm$ E.S.) de *T. trifolii* en diferentes cultivares de alfalfa.

Cultivar	Mort (%)	$r_m$ (♀/♀/día)	$R_0$ (♀/♀/generación)	$T$ (días)	$\lambda$ (♀/♀/día)
ACA 605	2,27	0,3081 $\pm$ 0,0041 n	54,5103 $\pm$ 2,4435 j	12,9412 $\pm$ 0,2493 cde	1,3607 $\pm$ 0,0058 m
ACA 903	16,66	0,2860 $\pm$ 0,0080 lm	32,4429 $\pm$ 2,3197 efg	12,2042 $\pm$ 0,4481 abc	1,3310 $\pm$ 0,0107 kl
Armona	62,95	0,1484 $\pm$ 0,0058 bc	15,5170 $\pm$ 2,2180 bcd	19,7097 $\pm$ 0,3643 m	1,1561 $\pm$ 0,0081 ab
Brava	70,78	0,1333 $\pm$ 0,0064 ab	11,2037 $\pm$ 1,5581 abc	19,6654 $\pm$ 0,5033 lm	1,1414 $\pm$ 0,0073 a
Carmina	26,66	0,2295 $\pm$ 0,0084 fg	39,2300 $\pm$ 2,6912 ghi	16,1600 $\pm$ 0,3462 k	1,2580 $\pm$ 0,0106 fg
Cuf 101	28,69	0,2441 $\pm$ 0,0065 ghij	28,7665 $\pm$ 3,0987 e	13,8936 $\pm$ 0,1292 efg	1,2760 $\pm$ 0,0083 ghi
CW 194	59,61	0,1531 $\pm$ 0,0085 c	7,3593 $\pm$ 1,0613 a	13,4552 $\pm$ 0,3961 def	1,1642 $\pm$ 0,0093 bc
CW 620	38,78	0,2770 $\pm$ 0,0029 kl	32,2019 $\pm$ 1,6763 ef	12,8531 $\pm$ 0,3427 bcde	1,3184 $\pm$ 0,0040 jk
CW 830	62,87	0,1803 $\pm$ 0,0032 d	13,3473 $\pm$ 2,7098 abcd	14,2159 $\pm$ 0,5132 fgh	1,1966 $\pm$ 0,0035 d
CW 1010	62,96	0,1654 $\pm$ 0,0083 cd	8,8703 $\pm$ 1,8271 ab	13,5105 $\pm$ 0,4203 def	1,1778 $\pm$ 0,0096 bcd
EBC 90	56,66	0,1525 $\pm$ 0,0030 c	8,3633 $\pm$ 0,3921 a	14,8775 $\pm$ 0,3263 ghi	1,1641 $\pm$ 0,0034 bc
Esperanza	36,11	0,2221 $\pm$ 0,0106 ef	36,6691 $\pm$ 4,9291 fgh	16,5475 $\pm$ 0,3652 k	1,2486 $\pm$ 0,0132 ef
Garufa	9,37	0,2497 $\pm$ 0,0064 hij	33,3258 $\pm$ 2,4376 efg	14,0433 $\pm$ 0,0716 fgh	1,2836 $\pm$ 0,0082 hi
Gateado	36,90	0,2110 $\pm$ 0,0101 e	11,3373 $\pm$ 1,9856 abc	11,8360 $\pm$ 0,5381 ab	1,2344 $\pm$ 0,0123 e
Medina	1,19	0,2923 $\pm$ 0,0016 lmn	62,5964 $\pm$ 2,4692 k	14,1715 $\pm$ 0,1745 fgh	1,3395 $\pm$ 0,0022 klm
Monarca	63,46	0,1594 $\pm$ 0,0067 c	17,4695 $\pm$ 2,4518 cd	18,6226 $\pm$ 0,5348 l	1,1723 $\pm$ 0,0080 bc
P 5939	33,33	0,2971 $\pm$ 0,0062 mn	43,1558 $\pm$ 4,2363 hi	12,6231 $\pm$ 0,2217 abcd	1,3455 $\pm$ 0,0085 lm
Pampa Flor	19,04	0,2381 $\pm$ 0,0039 fghi	43,3903 $\pm$ 1,5662 hi	16,0227 $\pm$ 0,1511 jk	1,2689 $\pm$ 0,0050 fgh
Río Grande	22,91	0,2599 $\pm$ 0,0084 jk	19,8125 $\pm$ 1,6480 d	11,7009 $\pm$ 0,3033 a	1,2966 $\pm$ 0,0109 ij
Sirosal	78,72	0,1300 $\pm$ 0,0052 a	10,0849 $\pm$ 0,6346 ab	19,0773 $\pm$ 0,5253 lm	1,1381 $\pm$ 0,0061 a
SPS 6550	32,14	0,2337 $\pm$ 0,0035 fgh	36,7083 $\pm$ 2,8934 fgh	15,7312 $\pm$ 0,5127 ijk	1,2628 $\pm$ 0,0044 fgh
Venus	56,38	0,1662 $\pm$ 0,0041 cd	27,4658 $\pm$ 1,3175 e	21,0190 $\pm$ 0,4139 n	1,1803 $\pm$ 0,0047 cd
Victoria	10,22	0,2558 $\pm$ 0,0021 ij	46,0531 $\pm$ 2,1971 i	15,0017 $\pm$ 0,1212 hij	1,2914 $\pm$ 0,0028 i

**Referencia:** Mort: mortalidad;  $r_m$ : tasa intrínseca de crecimiento natural;  $R_0$ : tasa neta de reproducción;  $T$ : tiempo generacional medio;  $\lambda$ : tasa finita de incremento. Valores seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Por otra parte, fue de interés evaluar si cada cultivar presentó resistencia por antibiosis similar para las tres especies de áfidos. En el Figura 2.1. se puede observar que los cultivares ACA 605, ACA 903, Carmina, CW 194, CW 620, EBC 90, Esperanza, Garufa, Medina, SPS 6550 y Victoria fueron más susceptibles a la presencia de *T. trifolii* con valores de  $r_m$  más altos y más resistentes frente a la presencia de *A. craccivora* con valores de  $r_m$  más bajos (DMS,  $p < 0,05$ ).

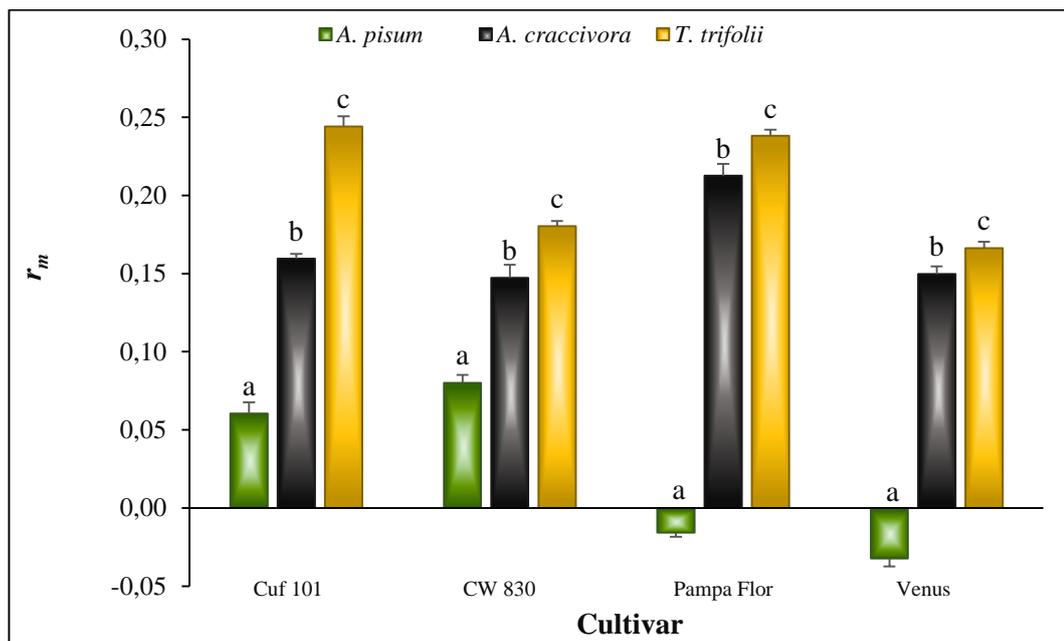
**Fig. 2.1.** Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) de *A. pisum*, *A. craccivora* y de *T. trifolii* en diferentes cultivares de *M. sativa*.



**Referencia:** Para cada cultivar valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En el Figura 2.2. se observa que la tasa intrínseca de crecimiento natural fue significativamente menor para el áfido *A. pisum* (DMS,  $p < 0,05$ ). Mientras que para el áfido *T. trifolii* fue mayor, hallándose diferencias significativas con las otras especies de áfidos evaluadas (DMS,  $p < 0,05$ ).

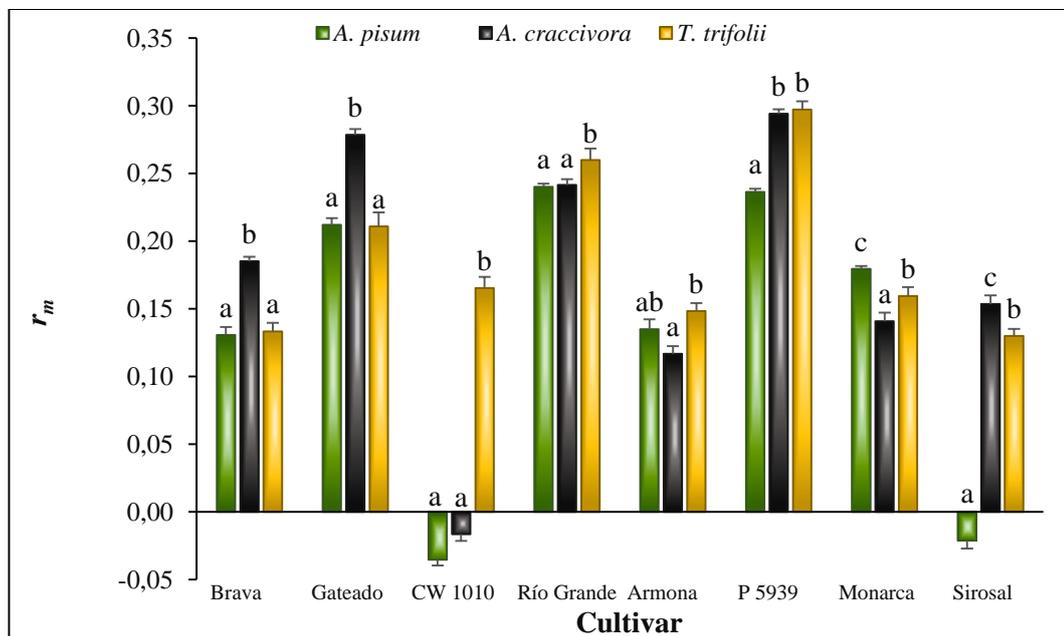
**Fig. 2.2.** Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) de *A. pisum*, *A. craccivora* y de *T. trifolii* en diferentes cultivares de *M. sativa*.



**Referencia:** Para cada cultivar valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En la Figura 2.3. se observa que el valor de  $r_m$  en los cultivares Brava y Gateado fue significativamente mayor para *A. craccivora* que para las otras especies de áfidos (DMS,  $p < 0,05$ ). En los cultivares CW 1010 y Río Grande la tasa intrínseca de crecimiento natural de *T. trifolii* fue significativamente superior que la de las otras especies de áfidos (DMS,  $p < 0,05$ ). En Armona, el valor de  $r_m$  de *A. craccivora* fue estadísticamente el más bajo y el de *T. trifolii* el más alto, no hallándose diferencias entre estos áfidos y el áfido *A. pisum* (DMS,  $p \geq 0,05$ ). El cultivar P 5939 resultó ser más resistente frente a la presencia de *A. pisum* (DMS,  $p < 0,05$ ). El cultivar Monarca fue más resistente para *A. craccivora* y más susceptible para *A. pisum*, mientras que el cultivar Sirostal fue más resistente para *A. pisum* y más susceptible para *A. craccivora* (DMS,  $p < 0,05$ ).

**Fig. 2.3.** Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) de *A. pisum*, *A. craccivora* y de *T. trifolii* en diferentes cultivares de *M. sativa*.



**Referencia:** Para cada cultivar valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En base a los valores de  $r_m$  obtenidos, en ausencia de factores extrínsecos de mortalidad y partiendo de 20 hembras adultas se obtuvieron las curvas teóricas de crecimiento poblacional para las tres especies de áfidos.

En la Figura 2.4.A se observan las curvas teóricas de crecimiento del áfido *A. pisum* sobre los cultivares considerados altamente resistentes. Es posible inferir que la población de *A. pisum* sobre estos cultivares disminuirá en el tiempo. Hipotéticamente, al cabo de 25 días, habrá 13 áfidos para el cultivar Pampa Flor y 12 áfidos para el cultivar Sirosal. En los cultivares CW 1010 y Venus la población oscilará entre 8 y 9 individuos.

En la Figura 2.4.B se presentan las curvas teóricas de crecimiento sobre los cultivares donde el valor de  $r_m$  varió de 0,06 hasta 0,14. Al cabo de 25 días, sería posible encontrar 49 áfidos en el cultivar CW 194, 91 áfidos en el cultivar Cuf 101, 148 áfidos en el cultivar CW 830, 164 áfidos en el cultivar EBC 90, 524 áfidos en el cultivar Brava y 585 áfidos en el cultivar Armona.

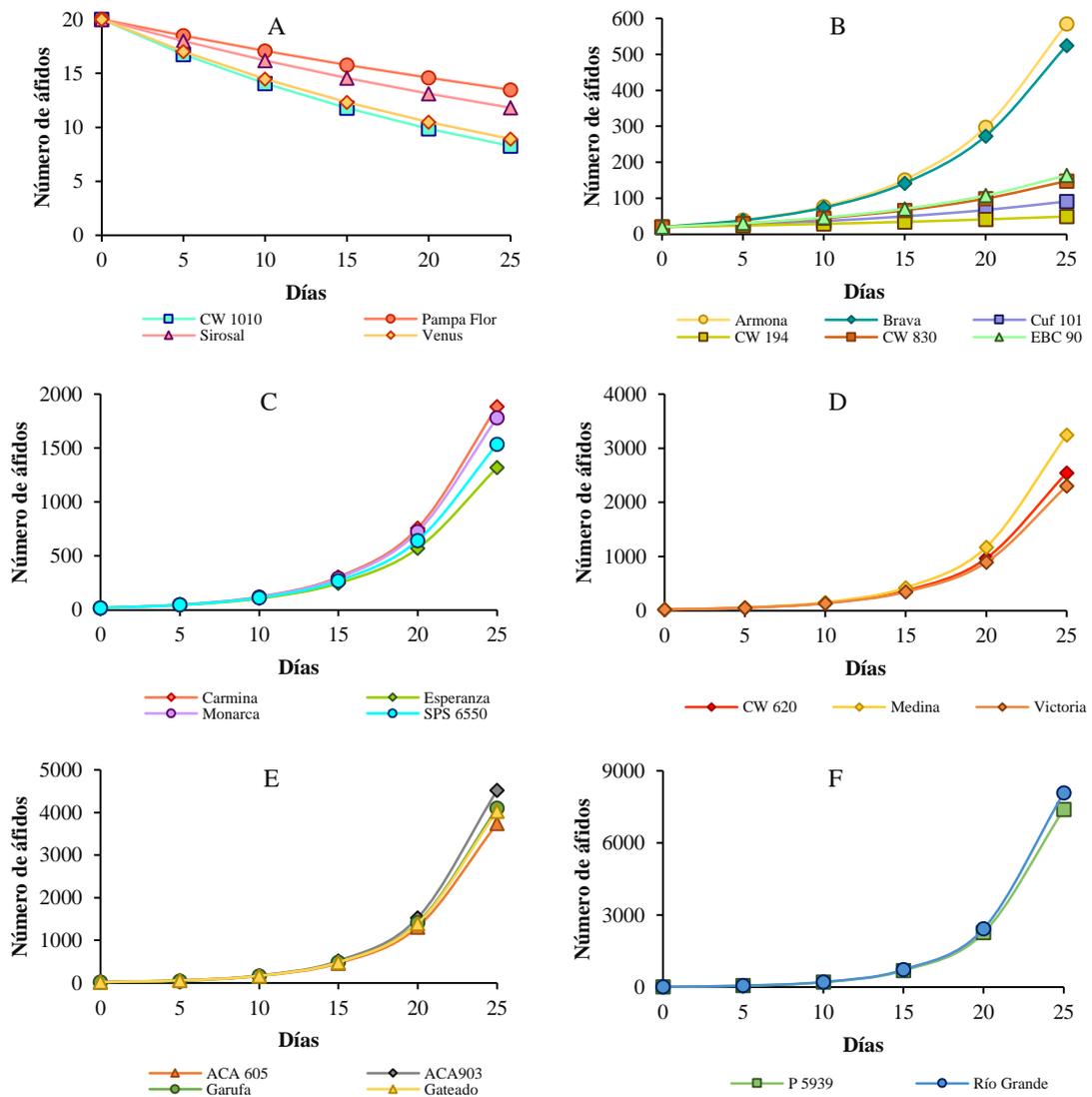
En la Figura 2.4.C se muestran las curvas teóricas de crecimiento del áfido sobre los cultivares en los cuales se observaron valores de  $r_m$  de 0,165 a 0,185. Bajo condiciones similares a las anteriormente mencionadas, es probable que 20 hembras adultas den origen a 1321 áfidos en el cultivar Esperanza, 1535 áfidos en el cultivar SPS 6550, 1781 áfidos en el cultivar Monarca y 1885 áfidos en el cultivar Carmina.

En la Figura 2.4.D se observan las curvas teóricas de crecimiento de *A. pisum* en los cultivares donde el  $r_m$  varió entre 0,185 y 0,205. Al cabo de 25 días habría 2304 áfidos en el cultivar Victoria, 2545 áfidos en el cultivar CW 620 y 3245 áfidos en el cultivar Medina.

En la Figura 2.4.E se presentan las curvas teóricas de crecimiento del áfido *A. pisum* sobre los cultivares donde el valor de  $r_m$  varió entre 0,209 y 0,220. Es probable encontrar 3742 áfidos en el cultivar ACA 605, 4027 áfidos en el cultivar Gateado, 4100 áfidos en el cultivar Garufa y 4524 áfidos en el cultivar ACA 903.

Por último, en la Figura 2.4.F se observan las curvas teóricas de crecimiento del áfido sobre los cultivares en los cuales el valor de  $r_m$  fue de alrededor de 0,240. Partiendo de 20 hembras adultas la población sería de 7397 áfidos en el cultivar P 5939 y de 8087 áfidos en el cultivar Río Grande.

**Fig. 2.4.** Curvas teóricas de crecimiento poblacional de *A. pisum* sobre los cultivares de *M. sativa*.



En la Figura 2.5.A se observan las curvas teóricas de crecimiento del áfido *A. craccivora* sobre los cultivares considerados altamente resistentes. Al cabo de 25 días, hipotéticamente habrá 13 áfidos en el cultivar CW 1010, 14 áfidos en el cultivar CW 194 y 17 áfidos en el cultivar EBC 90.

En la Figura 2.5.B se presentan las curvas teóricas de crecimiento sobre los cultivares donde el valor de  $r_m$  varió de 0,06 hasta 0,11. Partiendo de 20 hembras adultas es factible encontrar 91 áfidos en el cultivar Medina, 234 áfidos en el cultivar Carmina, 299 áfidos en el cultivar ACA 605 y 308 áfidos en el cultivar Garufa.

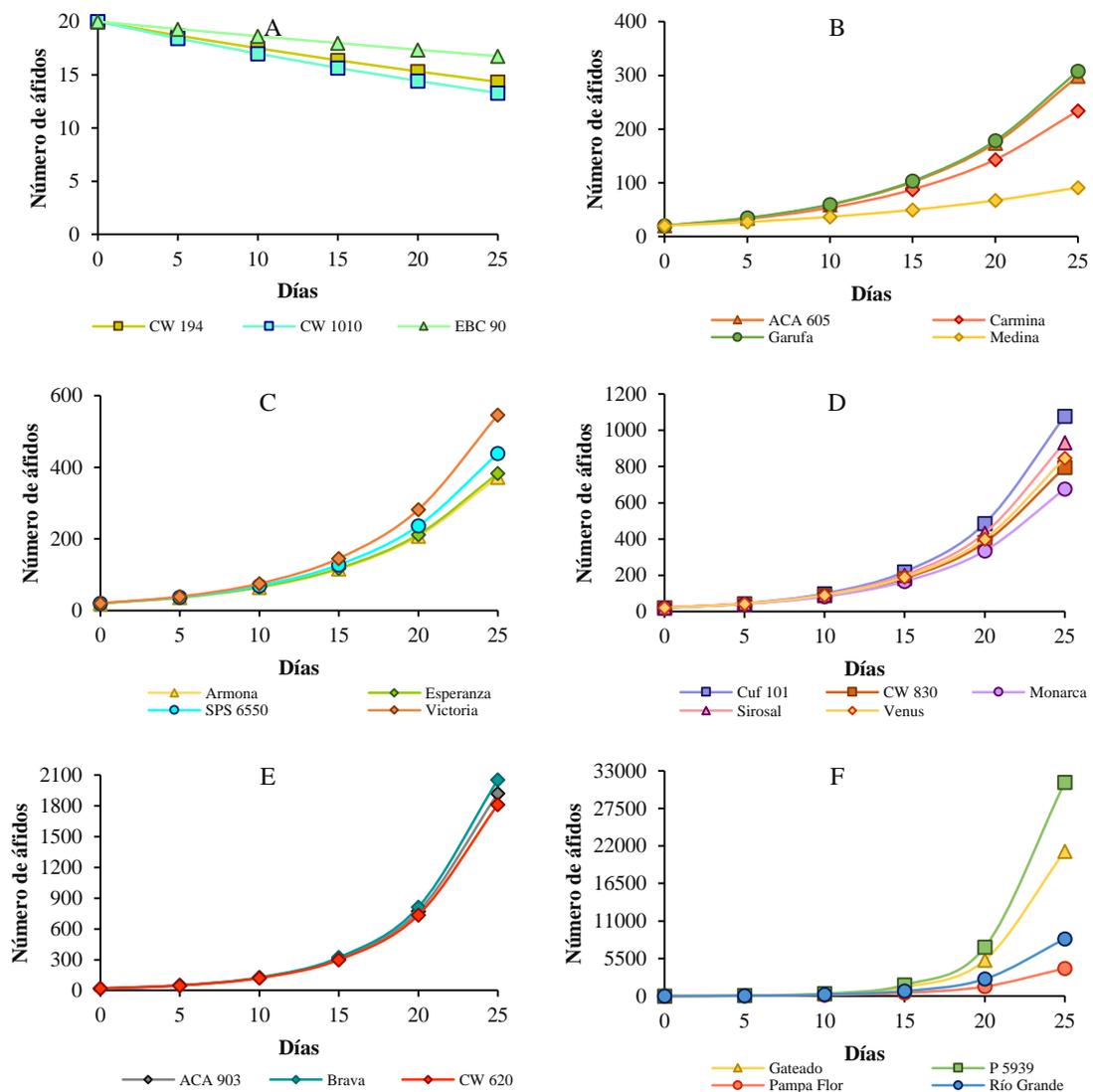
En la Figura 2.5.C se muestran las curvas teóricas de crecimiento del áfido sobre los cultivares en los cuales los valores de  $r_m$  fueron de 0,115 a 0,135. Bajo condiciones similares a las anteriormente mencionadas, es probable encontrar 372 áfidos en el cultivar Armona, 383 áfidos en el cultivar Esperanza, 439 áfidos en el cultivar SPS 6550 y 546 áfidos en el cultivar Victoria.

En la Figura 2.5.D se observan las curvas teóricas de crecimiento de *A. craccivora* en los cultivares donde el  $r_m$  varió entre 0,14 y 0,16. Luego de 25 días habría 677 áfidos en el cultivar Monarca, 796 áfidos en el cultivar CW 830, 846 áfidos en el cultivar Venus, 932 áfidos en el cultivar Sirosal y 1.078 áfidos en el cultivar Cuf 101.

En la Figura 2.5.E se presentan las curvas teóricas de crecimiento de *A. craccivora*, sobre los cultivares en los cuales el valor de  $r_m$  fue entre 0,180 y 0,186. La población sería de 1813 áfidos en el cultivar CW 620, de 1921 áfidos en el cultivar ACA 903 y de 2055 áfidos en el cultivar Brava.

Por último, en la Figura 2.5.F se observan las curvas teóricas de crecimiento del áfido sobre los cultivares en los cuales el valor de  $r_m$  fue entre 0,210 y 0,295. Partiendo de 20 hembras adultas la población sería de 4075 áfidos en el cultivar Pampa Flor, de 8387 áfidos en el cultivar Río Grande, de 21214 áfidos en el cultivar Gateado y de 31299 áfidos en el cultivar P 5939.

**Fig. 2.5.** Curvas teóricas de crecimiento poblacional de *A. craccivora* sobre los cultivares de *M. sativa*.



En la Figura 2.6.A se observan las curvas teóricas de crecimiento poblacional del áfido *T. trifolii* sobre los cultivares donde el valor de  $r_m$  varió entre 0,13 y 0,15. Al cabo de 25 días, hipotéticamente habría 516 áfidos en el cultivar Sirosal, 561 áfidos en el cultivar Brava, 817 áfidos en el cultivar Armona, 907 áfidos en el cultivar EBC 90 y 920 áfidos en el cultivar CW 194.

En la Figura 2.6.B se presentan las curvas teóricas de crecimiento sobre los cultivares donde el valor de  $r_m$  varió de 0,155 a 0,181. Partiendo de una población inicial de 20 hembras adultas sería posible encontrar 1078 áfidos en el cultivar Monarca, de 1250 áfidos en el cultivar CW 1010, de 1278 áfidos en el cultivar Venus y 1814 áfidos en el cultivar CW 830.

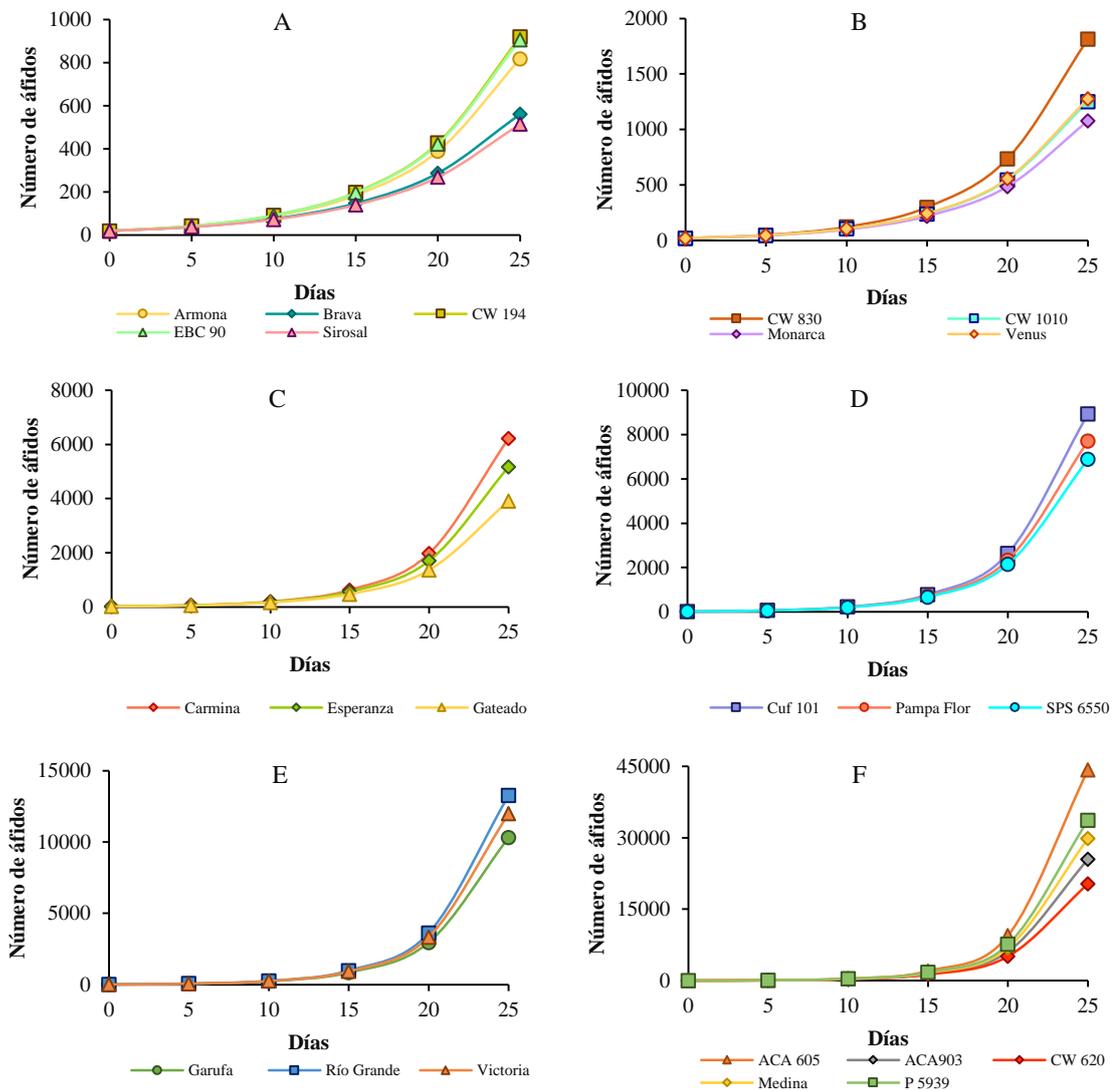
En la Figura 2.6.C se muestran las curvas teóricas de crecimiento del áfido sobre los cultivares en los cuales se observaron valores de  $r_m$  de 0,21 a 0,23. Bajo condiciones similares a las anteriormente mencionadas, es probable que 20 hembras adultas den origen a 3914 áfidos en el cultivar Gateado, 5170 áfidos en el cultivar Esperanza y 6216 áfidos en el cultivar Carmina.

En la Figura 2.6.D se observan las curvas teóricas de crecimiento de *T. trifolii*, en los cultivares donde el  $r_m$  varió entre 0,233 y 0,245. En el lapso estipulado habría 6894 áfidos en el cultivar SPS 6550, 7705 áfidos en el cultivar Pampa Flor y 8941 áfidos en el cultivar Cuf 101.

En la Figura 2.6.E se presentan las curvas teóricas de crecimiento del áfido *T. trifolii* sobre los cultivares en los cuales el valor de  $r_m$  fue entre 0,245 y 0,260. Transcurridos 25 días, es probable encontrar 10301 áfidos en los cultivares Garufa, 11979 áfidos en el cultivar Victoria y 13273 áfidos en el cultivar Río Grande.

El Figura 2.6.F se observan las curvas teóricas de crecimiento del áfido sobre los cultivares en los cuales el valor de  $r_m$  fue entre 0,277 y 0,308. La población sería de 20354 áfidos en el cultivar CW 620, de 25502 áfidos en el cultivar ACA 903, de 29878 áfidos en el cultivar Medina, de 33702 en el cultivar P 5939 y de 44280 en el cultivar ACA 605.

**Fig. 2.6.** Curvas teóricas de crecimiento poblacional de *T. trifolii* sobre los cultivares de *M. sativa*.



#### 2.4.8. – Discusión

El término antibiosis hace referencia a los efectos adversos en el ciclo biológico de los insectos que surgen como consecuencia de la alimentación de los mismos en hospederos resistentes (Sulistyo & Inayati, 2016).

La expresión de los mecanismos de antibiosis está relacionada con el incremento en la mortalidad, las fallas en la emergencia o emergencia incompleta de los adultos, la baja fertilidad y/o el acortamiento del ciclo de vida (Painter, 1951; Sulistyo & Inayati, 2016). De manera directa, los efectos antibióticos de una planta huésped pueden manifestarse en una disminución en el tamaño o en el peso de los insectos y en la escasa acumulación de reservas alimenticias (Givovich *et al.*, 1988; Girousse & Bournoville, 1994; Guo *et al.*, 2012; Kamphuis *et al.*, 2012; 2013). De manera indirecta, el efecto antibiótico se puede manifestar mediante un incremento en la exposición de los insectos a los enemigos naturales (Dent, 2000; Giles *et al.*, 2002; Du *et al.*, 2004).

Los parámetros tamaño inicial de una colonia de insectos, duración del periodo de desarrollo, fecundidad y mortalidad determinan, en una población, la tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ) (Birch, 1948).

El  $r_m$  es uno de los parámetros poblacionales más importantes para comparar el desarrollo de una población en diferentes hospederas (Kamphuis *et al.*, 2013; Özgökçe *et al.*, 2018). Thomas & Waage (1996) asumen que un huésped resistente reduce el  $r_m$  por debajo del cero, punto en el cual la población declina en el tiempo. En nuestros ensayos se obtuvieron valores negativos de  $r_m$  para los áfidos *A. pisum* y *A. craccivora* alimentándose de los cultivares CW 1010, Pampa Flor, Sirosal, Venus, CW 194 y EBC 90. Al evaluar el comportamiento de estos áfidos sobre los

cultivares con un  $r_m$  negativo se registró un alto porcentaje de mortalidad ninfal. Al evaluar el comportamiento del áfido *T. trifolii* sobre los cultivares de *M. sativa* no se obtuvieron valores negativos de  $r_m$ . Los valores más bajos de este parámetro se registraron en los cultivares Brava y Sirosal, en los cuales también se produjo una alta mortalidad ninfal.

Varios autores han observado que cultivares con abundantes tricomas glandulares erectos podrían afectar la movilidad ninfal y/o provocar una sofocación al taponar los espiráculos ocasionando la muerte (Shade *et al.*, 1975; Kreitner & Sorensen, 1979b; Shade *et al.*, 1979; Peter *et al.*, 1995; Ranger & Hower, 2001).

Las variaciones observadas en la resistencia no deberían adjudicarse a un único mecanismo, existen múltiples causas en los cultivares, de carácter morfológico o bioquímico que se relacionan entre sí.

En los resultados observados los diferentes cultivares de *M. sativa* afectaron significativamente la performance de las tres especies de áfidos. Como se mencionó anteriormente la calidad nutricional de la savia así como los aleloquímicos presentes en los cultivares de *M. sativa* pueden influir de manera negativa en el crecimiento y reproducción de los áfidos.

Varios autores demostraron una correlación negativa entre los valores que surgen de la relación azúcar/aminoácidos presentes en los cultivares y la tasa reproductiva de los áfidos (Febvay *et al.*, 1988; Girusse & Bournoville, 1994; Simpson *et al.*, 1995).

Las saponinas como el ácido medicagénico en alfalfa disminuyen la tasa intrínseca de crecimiento y acortan el tiempo de alimentación de esta plaga. Los áfidos gastan recursos sustanciales en detoxificar las saponinas afectando así el

crecimiento y el desarrollo poblacional (Goławska *et al.*, 2006; Goławska, 2007; Goławska *et al.*, 2012b). Mazahery Laghab *et al.* (2011) reportaron que existe una correlación negativa entre la reproducción y el contenido de saponinas en los cultivares. Un cultivar con una elevada concentración de saponinas afectará la población de áfidos produciendo una baja tasa intrínseca de crecimiento. En el estudio realizado las menores tasas de crecimiento poblacional halladas en diferentes cultivares podrían ser atribuida a esta característica.

En base a los resultados obtenidos y a la hipótesis planteada en el punto 2.4.4. podemos inferir que:

La hipótesis se acepta parcialmente dado que:

- ✱ Los cultivares ACA 605, ACA 903, Armona, Brava, Carmina, Cuf 101, CW 194, CW 620, CW 830, EBC 90, Esperanza, Pampa Flor, Gateado, Medina, Monarca, P 5939, Río Grande, SPS 6550 y Victoria no poseen resistencia por antibiosis al áfido *A. pisum*.
- ✱ Los cultivares ACA 605, ACA 903, Armona, Brava, Carmina, Cuf 101, CW 620, CW 830, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, P 5939, Pampa Flor, Río Grande, Sirosal, SPS 6550, Venus y Victoria no poseen resistencia por antibiosis al áfido *A. craccivora*.
- ✱ Los cultivares ACA 605, ACA 903, Armona, Carmina, Cuf 101, CW 194, CW 620, CW 830, CW 1010, EBC 90, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, P 5939, Pampa Flor, Río Grande, SPS 6550, Venus y Victoria no poseen resistencia por antibiosis al áfido *T. trifolii*.

## 2.5. Tolerancia

---

### 2.5.1. – Introducción

La tolerancia a la herbivoría de los artrópodos está dada por la capacidad genética, inherente a la planta, que le permite superar el ataque del artrópodo sin afectar significativamente su producción y/o calidad (Painter, 1951; Smith, 2005). Las plantas tolerantes pueden sobrevivir a niveles de infestación que afectarían o dañarían a las plantas susceptibles (Painter, 1958).

En la tolerancia la planta desempeña un rol determinante, a diferencia de la antibiosis y/o antixenosis que se basa en las respuestas a la interacción insecto-planta (Painter, 1951; Smith, 2005). Desde una perspectiva amplia, en el fenómeno de resistencia los cultivares tolerantes requieren un nivel de antixenosis o de antibiosis menor que aquellos cultivares que no son tolerantes (Smith, 2005). La población de artrópodos que desarrolla en plantas tolerantes no se ve afectada del mismo modo al que se produce cuando esa población crece sobre plantas con resistencia por antibiosis y/o por antixenosis. Una de las ventajas del uso de cultivares tolerantes es que los artrópodos plaga experimentan una menor presión de selección, la cual evita o demora el desarrollo de nuevos biotipos. Otra ventaja, es que las plantas tolerantes no afectarían el comportamiento de los controladores biológicos como ocurre en aquellas plantas que poseen resistencia por antibiosis y/o antixenosis (Reese *et al.*, 1994; Smith, 2005; Koch *et al.*, 2016; Mitchell *et al.*, 2016).

Es escasa la información bibliográfica acerca de los mecanismos de tolerancia de las plantas huéspedes de áfidos (van Emden, 2007). Desde una perspectiva agronómica, los cultivares tolerantes producen una mayor cantidad de biomasa que los susceptibles (Smith, 2005).

Varios estudios han demostrado la participación directa de la fotosíntesis, de las hormonas vegetales y de las estructuras físicas de las plantas en la expresión de la tolerancia (Tiffin, 2000; Smith, 2005; van Emden, 2007; Koch *et al.*, 2016; Mitchell *et al.*, 2016).

Haile *et al.* (1999) han observado en plantas susceptibles una reducción de la tasa fotosintética, la cual podría deberse a la liberación de toxinas que desintegran los cloroplastos.

Otros autores relacionan la tolerancia de un cultivar con el contenido de auxinas (Maxwell & Painter, 1962a). Los áfidos presentes en cultivares susceptibles producen una disminución en el contenido de auxinas contribuyendo a un retraso en el crecimiento (Painter, 1958; Maxwell & Painter, 1962b; c). Según Marimuthu & Smith (2012) los cultivares tolerantes presentan constitutivamente altos niveles de auxinas que promueven el crecimiento radicular. En general, plantas con una alta relación entre el sistema radicular y la parte aérea son más tolerantes debido a su mayor capacidad para adquirir nutrientes para el rebrote (Tiffin, 2000).

En otras ocasiones la tolerancia puede ser inducida estimulando la producción de compuestos durante la alimentación del áfido que dificultan el acceso de los estiletes a los haces floemáticos y xilemáticos (Wang *et al.*, 2017).

En base a estos antecedentes se plantea las siguientes hipótesis.

### 2.5.2. – Hipótesis

- ✧ Los cultivares de *Medicago sativa* poseen tolerancia a los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.
- ✧ La tolerancia y/o la susceptibilidad de los distintos cultivares de *Medicago sativa* varía según la especie de áfido presente.

### 2.5.3. – Objetivo

- ✧ Evaluar la tolerancia de cultivares de *Medicago sativa* a *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

### 2.5.4. – Materiales y Métodos

El material vegetal y los insectos se criaron según lo descrito en los puntos 2.3.5.1. y 2.3.5.2.

La tolerancia se evaluó mediante la comparación del peso seco de plantas infestadas con áfidos y de plantas no infestadas. Se sembraron por maceta cinco semillas de cada cultivar. En total se utilizaron por cultivar, 40 plantas de las cuales 20 fueron infestadas y 20 se usaron como control negativo (no infestadas). Al estado de cinco hojas verdaderas se colocó una hembra adulta áptera en cada una de las plantas tratadas. Estas, fueron confinadas en tubos de vidrios cubiertos con malla antiáfidos en su extremo para evitar la fuga de los pulgones y las infestaciones externas.

Los cultivares fueron chequeados cada dos días y se mantuvo constante el nivel de infestación a lo largo de todo el ensayo. Luego de dos meses, se cortaron las

plantas a nivel de cuello, se dispusieron de manera individual dentro de sobres de papel y fueron llevados a estufa a 75°C hasta peso constante.

Se calculó el porcentaje de disminución de peso seco (DPS) según Dixon *et al.*, (1990) modificado:

$$\text{DPS} = [(P_1 - P_2) / P_1] \times 100;$$

donde P<sub>1</sub> es el peso seco de las plantas no infestadas y P<sub>2</sub> es el peso seco de las plantas infestadas.

Los datos obtenidos se analizaron mediante la prueba de varianza ANOVA, previa verificación de los supuestos de normalidad con el test de Shapiro-Wilks y de homocedasticidad con la prueba de Levene (InfoStat, 2018). Las medias fueron separadas mediante el test de diferencias mínimas (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En base a los porcentajes de DPS obtenidos los cultivares se clasificaron según las siguientes categorías: AT (Altamente Tolerante): 0%-20%; T (Tolerante): 20%-30%; MS (Moderadamente Susceptible): 30%-50%; S (Susceptible): 50%-75% y AS (Altamente Susceptible): 75%-100%.

### **2.5.5. – Resultados**

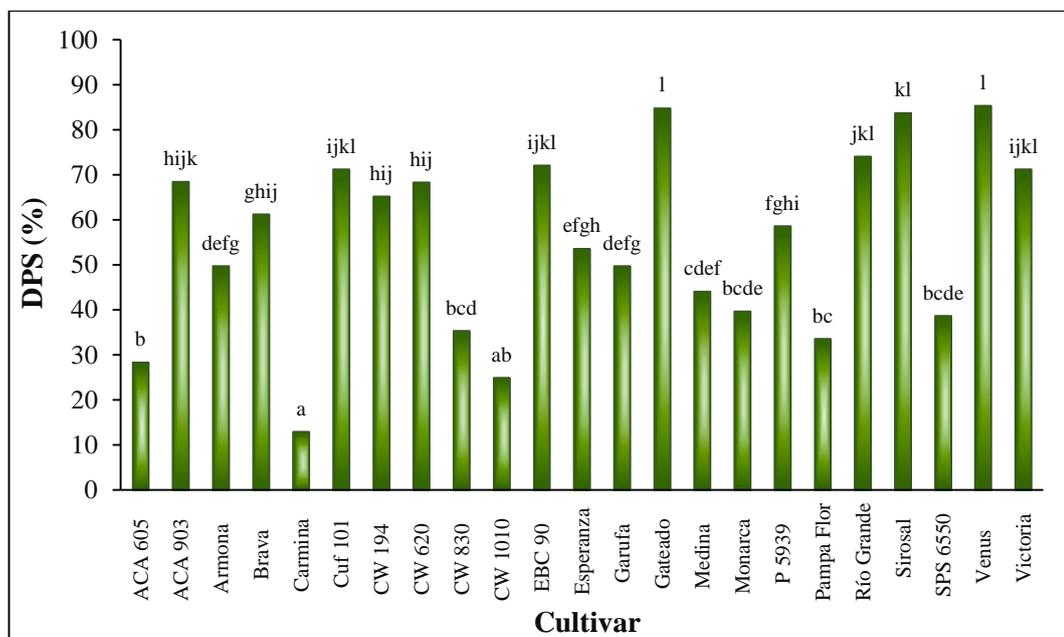
El cultivar Carmina resultó altamente tolerante al ataque de *A. pisum* con una reducción del peso seco del 13%. Este cultivar se diferenció estadísticamente del resto de los cultivares evaluados (DMS,  $p < 0,05$ ) a excepción del cultivar CW 1010 (DMS,  $p \geq 0,05$ ) (Figura 2.7.).

Los cultivares CW 1010 y ACA 605 resultaron tolerantes con una reducción entre el 25% y el 28%. Los cultivares Pampa Flor, CW 830, SPS 6550, Monarca, Medina, Garufa y Armona resultaron moderadamente susceptibles con una

reducción del peso seco que varió entre el 33% al 49%. Los cultivares Esperanza, P 5939, Brava, CW 194, CW 620, ACA 903, Cuf 101, Victoria, EBC 90 y Río Grande resultaron susceptibles al ataque de *A. pisum* con una reducción en el peso seco que osciló entre el 53% y el 74% (Figura 2.7.).

Por último, los cultivares altamente susceptibles fueron Sirosal, Gateado y Venus con una pérdida entre el 83% al 85% de materia seca. Estos cultivares no difirieron de los cultivares Cuf 101, Victoria, EBC 90, Río Grande y ACA 903 (DMS,  $p > 0,05$ ) (Figura 2.7.).

**Fig. 2.7.** Porcentaje de disminución de peso seco (DPS) de los cultivares de *M. sativa* frente al áfido *A. pisum*.



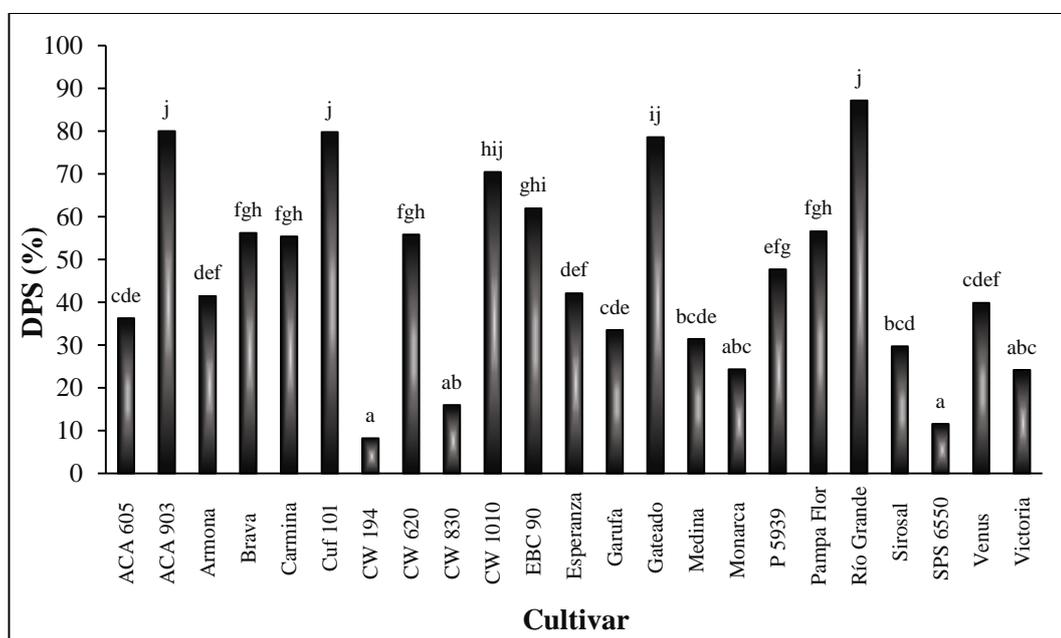
**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Los cultivares CW 194, SPS 6550 y CW 830 resultaron altamente tolerantes al ataque de *A. craccivora* con una reducción del peso seco entre un 8% y un 16%. Estos cultivares se diferenciaron estadísticamente del resto de los cultivares evaluados (DMS,  $p < 0,05$ ) a excepción de los cultivares Victoria y Monarca (DMS,  $p > 0,05$ ) (Figura 2.8.).

Los cultivares Monarca, Victoria y Sirosal resultaron tolerantes con una reducción entre el 24% y el 29%. Los cultivares Medina, Garufa, ACA 605, Venus, Armona, Esperanza P 5939 resultaron moderadamente susceptibles con una reducción del peso seco que varió entre el 31% al 48%. Los cultivares Carmina, CW 620, Brava, Pampa Flor, EBC 90 y CW 1010 resultaron susceptibles al ataque de *A. craccivora* con una reducción en el peso seco que osciló entre el 55% y el 70% (Figura 2.8.).

Por último, los cultivares altamente susceptibles fueron Gateado, Cuf 101, ACA 903 y Río Grande con una pérdida entre el 79% al 87% de materia seca. Estos cultivares difirieron del resto de los cultivares (DMS,  $p < 0,05$ ) a excepción del cultivar CW 1010 (DMS,  $p \geq 0,05$ ) (Figura 2.8.).

**Fig. 2.8.** Porcentaje de disminución de peso seco (DPS) de los cultivares de *M. sativa* frente al áfido *A. craccivora*.



**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

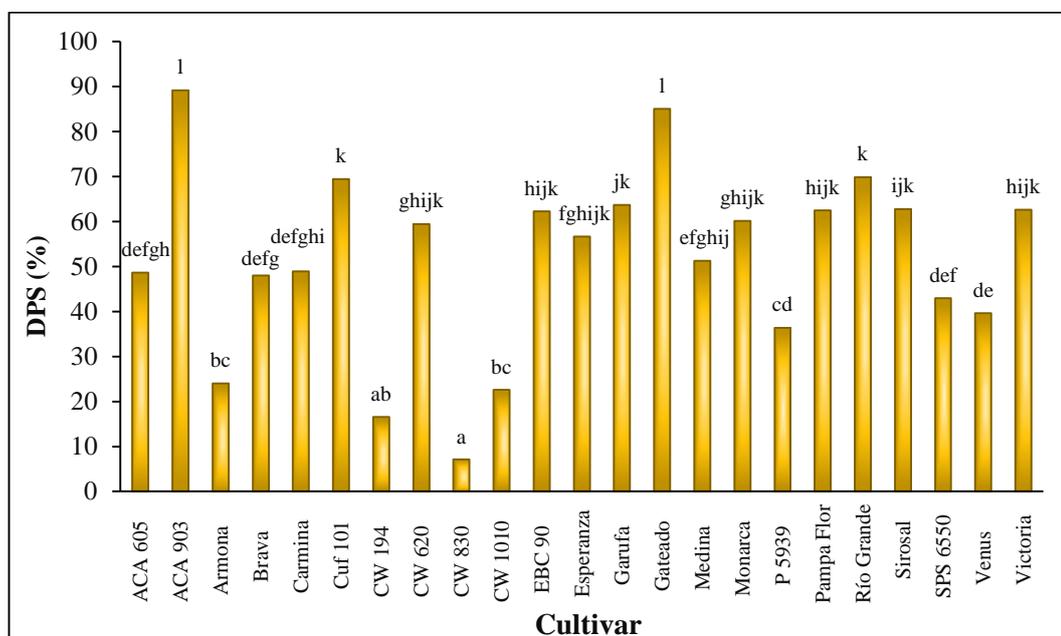
Los cultivares CW 830 y CW 194 resultaron altamente tolerantes al ataque de *T. trifolii* con una reducción del peso seco entre el 7% y el 16%. El cultivar CW

830 se diferenci6 estadisticamente del resto de los cultivares evaluados (DMS,  $p < 0,05$ ) a excepci6n del cultivar CW 194 (DMS,  $p \geq 0,05$ ) (Figura 2.9.).

Los cultivares CW 1010 y Armona resultaron tolerantes con una reducci6n que oscil6 entre el 22% y el 24%. Los cultivares P 5939, Venus, SPS 6550, Brava, ACA 605 y Carmina resultaron moderadamente susceptibles con una reducci6n del peso seco que vari6 entre el 36% al 49%. Los cultivares Medina, Esperanza, CW620, Monarca, EBC 90, Pampa Flor; Victoria, Sirosal, Garufa, Cuf 101 y R6o Grande resultaron susceptibles al ataque de *T. trifolii* con una reducci6n en el peso seco que oscil6 entre el 51% y el 70% (Figura 2.9.).

Por 6ltimo, los cultivares altamente susceptibles fueron Gateado y ACA 903 con una p6rdida entre el 85% al 89% de materia seca. Estos cultivares difirieron del resto de los cultivares evaluados (DMS,  $p < 0,05$ ) (Figura 2.9.).

**Fig. 2.9.** Porcentaje de disminuci6n de peso seco (DPS) de los cultivares de *M. sativa* frente al 6fido *T. trifolii*.



**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

### 2.5.6. – Discusión

En un cultivo y ante la presencia de herbívoros plaga podríamos diferenciar las plantas tolerantes como aquellas con habilidad para producir un mayor rendimiento o una mayor biomasa en peso seco en comparación a aquellos huéspedes o plantas susceptibles (Sulistyo & Inayati, 2016; Girvin *et al.*, 2017).

A nivel de campo evaluar la tolerancia requiere cuantificar el impacto que tienen los insectos en la sanidad y en la producción de su planta huésped (Dent, 2000). Algunos autores consideran que la tolerancia de una planta sería atribuida al incremento del proceso de fotosíntesis, al crecimiento compensatorio, al uso de reservas acumuladas y/o a un cambio en el estado fenológico (Tiffin, 2000; Koch *et al.*, 2016; Mitchell *et al.*, 2016). En este estudio los cultivares se vieron afectados de diversa manera ante la presencia continua y constante de las diferentes especies de áfidos.

Los cultivares tolerantes no exhibieron síntomas de daño en tallos y hojas. Por otro lado, los cultivares susceptibles exhibieron diversos síntomas de daño. Ante la presencia del áfido *T. trifolii* se observó la clorosis característica de las nervaduras y al evaluar las plantas atacadas por *A. craccivora* se observó un acortamiento de los entrenudos. Estos resultados están en coincidencia con los de otros autores quienes reportaron que los cultivares susceptibles de especies de *Medicago* spp mostraron mayores síntomas de daño producido por los áfidos que los cultivares tolerantes (Jimenez, 1987; Jimenez *et al.*, 1988; Berberet *et al.*, 1991; Jiang & Miles, 1993; Madhusudhan & Miles, 1998; He & Zhang, 2006; Quisenberry & Ni, 2007; Kamphuis *et al.*, 2012).

Al evaluar el porcentaje de disminución de peso seco se observó que la presencia de los áfidos tanto en cultivares susceptibles como tolerantes produjo una disminución en la biomasa. Esta reducción fue más acentuada en los cultivares altamente susceptibles Gateado, Sirosal, Venus, ACA 903, Río Grande y Cuf 101. Una situación similar a la observada en nuestro trabajo fue informada por He & Zhang (2006) al evaluar estas tres especies de áfidos sobre diferentes cultivares de *M. sativa*.

Los cultivares altamente tolerantes Carmina, CW 194, SPS 6550 y CW830 exhibieron una escasa pérdida de biomasa. Resultados similares fueron reportados por Kindler *et al.*, (1971) al evaluar la pérdida de materia seca de cultivares resistentes de alfalfa ante la presencia de los áfidos *A. pisum* y *T. trifolii*.

Según Castro *et al.* (2001) el crecimiento compensatorio es uno de los principales mecanismos de la tolerancia. Varios estudios han demostrado que las plantas compensan fotosintéticamente en respuesta a la presencia de los áfidos. Como inconveniente, el crecimiento compensatorio retrasa el momento de la cosecha. Sin embargo, en *M. sativa* este crecimiento compensatorio no afectaría la cosecha por tratarse de un cultivo que persiste por varios años en el campo.

En base a los resultados obtenidos y a las hipótesis planteadas en el punto 2.5.2. podemos inferir que:

La primera hipótesis se acepta parcialmente dado que:

✱ Los cultivares ACA 903, Armona, Brava, Cuf 101, CW 194, CW 620, CW 830, EBC 90, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, P 5939,

Pampa Flor, Sirosal, SPS 6550, Río Grande, Venus y Victoria resultaron susceptibles a *A. pisum*.

✱ Los cultivares ACA 605, ACA 903, Armona, Brava, Carmina, Cuf 101, CW 620, CW 1010, EBC 90, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, P 5939, Pampa Flor, Río Grande y Venus resultaron susceptibles a *A. craccivora*.

✱ Los cultivares ACA 605, ACA 903, Brava, Carmina, Cuf 101, CW 620, EBC 90, Esperanza, Garufa, Gateado, Medina, Monarca, P 5939, Pampa Flor, SPS 6550, Sirosal, Río Grande, Victoria y Venus resultaron susceptibles a *T. trifolii*.

La segunda hipótesis se acepta parcialmente dado que:

✱ Los cultivares CW 194 y CW 830 fueron altamente tolerantes para los áfidos *A. craccivora* y *T. trifolii*.

✱ El cultivar CW 1010 fue tolerante para los áfidos *A. pisum* y *T. trifolii*.

✱ El cultivar SPS 6550 fue moderadamente susceptible a *A. pisum* y a *T. trifolii*.

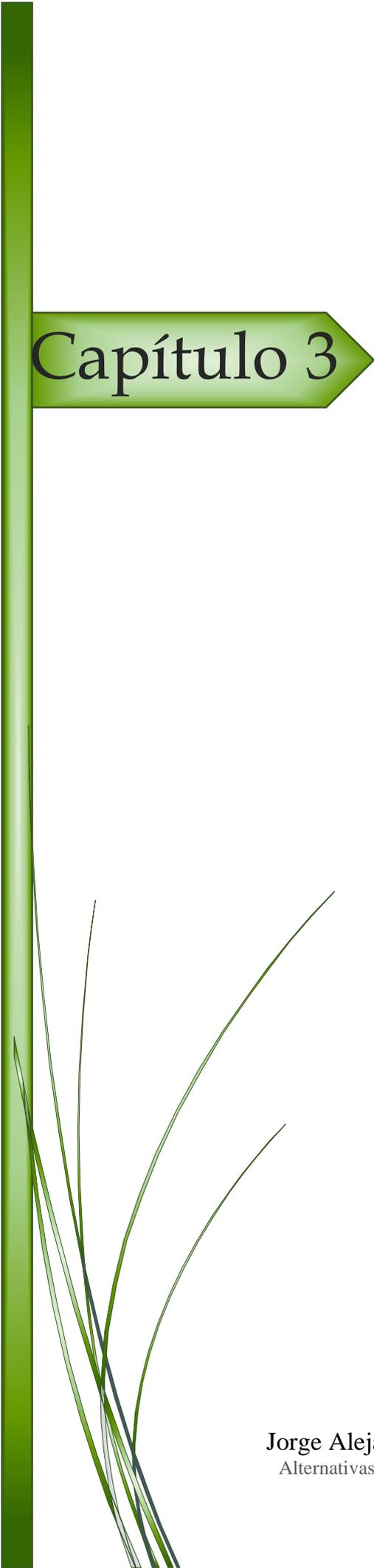
✱ Los cultivares Armona y Garufa fueron moderadamente susceptibles a los áfidos *A. pisum* y *A. craccivora*.

✱ Los cultivares ACA 605 y P5939 fueron moderadamente susceptibles a los áfidos *A. craccivora* y *T. trifolii*.

✱ Los cultivares CW 620 y EBC 90 fueron susceptibles a los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii*.

✱ El cultivar Brava fue susceptible a los áfidos *A. pisum* y *A. craccivora*.

- ✱ Los cultivares Cuf 101, Esperanza, Río Grande y Victoria fueron susceptibles a los áfidos *A. pisum* y *T. trifolii*.
- ✱ El cultivar Pampa Flor fue susceptible a los áfidos *A. craccivora* y *T. trifolii*.
- ✱ El cultivar Gateado fue altamente susceptible a las tres especies de áfidos y el cultivar ACA 903 fue altamente susceptible a *A. craccivora* y *T. trifolii*.



# Capítulo 3

**Jorge Alejandro Jose Bizet Turovsky**

Alternativas de manejo de áfidos limitantes de la producción de  
alfalfa en el Sudoeste bonaerense

# Aceites esenciales

---

## 3.1. – Insecticidas de origen vegetal

Existen antecedentes de que en el año 400 a. C. para el control de los piojos, se espolvoreaba la cabeza de los niños con polvo obtenido de las flores secas de *Tanacetum cinerariifolium* (Asteraceae) (Singh, 2014). Los romanos utilizaban polvos preparados a partir de *Veratrum* sp. (Liliaceae) y algunos pueblos del hemisferio norte utilizaban extractos de *Taxus baccata* (Taxaceae) contra insectos hematófagos (Philogène *et al.*, 2004; Erdogan *et al.*, 2012).

La primera generación de insecticidas de origen botánico, utilizados hasta los años 40 del siglo pasado, incluye extractos y compuestos derivados de plantas tales como piretro, rotenoides y alcaloides (Aguiar Menezes, 2005; Gomes Santos *et al.*, 2015; Said-Al Ahl *et al.*, 2017). En la actualidad, debido a las desventajas que implica el uso de insecticidas sintéticos, se han recomenzado a utilizar los insecticidas de origen vegetal. Los cuatro grupos de productos utilizados mayoritariamente son el piretro, la rotenona, el neem, los aceites esenciales y con cierta restricción se utilizan la ryania, la nicotina y la sabadilla. A estos últimos se les adiciona un menor volumen y sólo a nivel regional, el uso de extractos de distintas plantas (Isman, 2006; Singh, 2014; Gomes Santos *et al.*, 2015; Said-Al Ahl *et al.*, 2017).

Desde principio del siglo XIX, el piretro era utilizado por el hombre para matar insectos que habitaban sus viviendas o sus cuerpos y durante las guerras napoleónicas fue utilizado para liberarse de las pulgas (Dubey *et al.*, 2010). El

piretro es una mezcla de seis compuestos activos conocidos con el nombre colectivo de piretrinas. Las piretrinas naturales son extraídas de las flores de varias especies vegetales como *T. cinerariifolium* y *T. coccineum* (Asteraceae) y son efectivas contra la mayoría de las plagas insectiles (Santiago de Santiago *et al.*, 2005; Regnault Roger, 2012; Singh, 2014). Actúan sobre el sistema nervioso inhibiendo el intercambio de sodio y potasio cuyo efecto inmediato es una rápida excitación y volteo (Grdiša *et al.*, 2013; Singh, 2014). El 80% de los insecticidas botánicos que se comercializan corresponden a piretrinas (Isman, 2006).

Plantas de la familia Fabaceae que contienen rotenona han sido utilizadas desde 1665 por poblaciones autóctonas de América Latina para capturar peces. En 1848 se vio que esta sustancia era efectiva para el control de lepidópteros y en 1877 se comenzó a utilizar en China como insecticida. Este compuesto es obtenido principalmente de las raíces de algunos géneros de la familia Fabaceae como *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* y *Mundulea*. Posee baja toxicidad en mamíferos y actúa en insectos inhibiendo la cadena de transporte de electrones de las mitocondrias (Ryan 2002; Grdiša & Grišić, 2013; Singh, 2014).

El alcaloide más importante utilizado como insecticida es la nicotina, que se extrae de hojas de al menos 18 especies del género *Nicotiana* (Solanaceae), de las cuales *N. tabacum* y *N. rustica* son las más utilizadas para este fin (Ryan 2002; Singh, 2014). Su uso se remonta a 300 años atrás donde los extractos de tabaco eran utilizados como insecticidas acuosos o en polvo. La nicotina actúa a nivel del sistema nervioso de los insectos como antagonista de la acetilcolinesterasa (Ryan, 2002; Aguiar Menezes, 2005; Singh, 2014). Otros alcaloides utilizados para el control de insectos son la veratrina, extraída de *Veratrum album* (Liliaceae) y

*Schoenocaulon officinale* (Melanthiaceae), utilizada para la eliminación de las pulgas de los animales domésticos en América tropical; la rianodina extraída de plantas del género *Ryania* (Salicaceae) que actúa a nivel de los canales de calcio musculares y la cuasina que se extrae de árboles exóticos como *Quassia amara* y *Picrasma excelsa* (Simaroubaceae) utilizada para el control de áfidos (Ryan, 2002; Aguiar Menezes, 2005; Grdiša & Grišić, 2013; Singh, 2014).

Muchas especies de plantas, pertenecientes a diversas familias, han recibido atención en los últimos años debido al hecho de que poseen numerosos terpenoides que actúan como anti alimentarios, toxinas y reguladores del crecimiento de los insectos (Isman & Machial, 2006; Regnault Roger, 2012; Grdiša & Grišić, 2013; Singh, 2014). Un ejemplo particularmente relevante de este grupo de sustancias es la azadiractina, un tetranortriterpenoide (Grdiša & Grišić, 2013) aislado de *Azadirachta indica* y *Melia azederach* (Meliaceae), del que existen numerosas formulaciones registradas y es ampliamente utilizado (Aguiar Menezes, 2005; Grdiša & Grišić, 2013; Singh, 2014). Posee distintos efectos sobre los insectos como inhibición de la muda, de la metamorfosis, de la fecundidad, de la fertilidad y actividad antialimentaria (Ryan, 2002; Isman, 2006; Regnault Roger, 2012; Grdiša & Grišić, 2013; Singh, 2014). Las hojas y frutos de esta especie arbórea han sido usadas en India y Sri Lanka durante siglos para proteger libros, ropa y comida almacenada del daño de los insectos y en China contra piojos y pulgas desde el año 220 d. C. (Ryan, 2002).

### 3.2. – Aceites esenciales

Los aceites esenciales son productos volátiles originados como subproducto del metabolismo vegetal y se considera que estos metabolitos secundarios han evolucionado como respuesta a la herbivoría (Batish *et al.*, 2008; Mann & Kaufman, 2012; Park & Tak, 2016). Los aceites esenciales se pueden encontrar en los pelos glandulares o cavidades secretoras de la pared celular de la planta y pueden estar presentes como gotitas en las hojas, tallos, corteza, flores, raíces y/o frutos de diferentes especies vegetales (Dehghani-Samani, *et al.*, 2015; Stratakos & Koidis, 2016).

Poseen compuestos aromáticos que otorgan aroma, fragancia y/o sabor distintivo a la planta. La característica aromática de los aceites esenciales cumple distintas funciones, como la atracción y/o repelencia de insectos, forman parte de los mecanismos de defensa del vegetal, sirven como señales moleculares e intervienen en la interacción entre plantas. El hombre utiliza los aceites como fragancias en la industria del perfume, como saborizantes y condimentos en la elaboración de alimentos y en terapias alternativas como la aromaterapia (Isman & Machial, 2006; Batish *et al.*, 2008; Dehghani-Samani, *et al.*, 2015; Ríos, 2016).

Los aceites esenciales se obtienen por destilación por arrastre de vapor de distintas partes de las plantas. La composición química de los aceites esenciales varía inter e intra específicamente entre las plantas y su composición varía con el estado fenológico, con la época de recolección, con las variaciones climáticas y edáficas y con el órgano vegetal utilizado (Isman & Machial, 2006; Tripathi *et al.*, 2009; Mann & Kaufman, 2012; Bhattacharya, 2016).

La mayoría de los aceites esenciales son mezclas altamente complejas de monoterpenos, sesquiterpenos, fenoles aromáticos, ésteres, aldehídos y cetonas (Isman & Machial, 2006; Batish *et al.*, 2008; Tripathi *et al.*, 2009; Ríos, 2016).

En la actualidad, los aceites esenciales son los compuestos más ensayados para el control de insectos (Park & Tak, 2016). Se han aislado e identificado aproximadamente 20.000 fitoquímicos, aunque se estima que existen alrededor de 500.000 (Wysoki, 1996). Entre sus variados modos de acción esta mezcla de compuestos puede producir toxicidad por contacto, actuar como fumigante, originar repelencia, atracción y/o disuadir la oviposición (Fleming, 2000; Isman, 2000; Isman & Machial, 2006; Tripathi *et al.*, 2009; Khan & Abourashed, 2010; Mann & Kaufman, 2012; Park & Tak, 2016).

El estudio de la interacción entre el insecto plaga y los compuestos presentes en las plantas ofrecen un potencial importante para mejorar a futuro el control de las plagas en muchos cultivos.

En forma general, los insecticidas naturales se degradan con mayor velocidad que los sintéticos, no dejan residuos en el ambiente, son seguros, ecológicos y tienen bajo impacto negativo sobre la salud humana (Batish *et al.*, 2008; Tripathi *et al.*, 2009; Mann & Kaufman, 2012; Singh, 2014; Dehghani-Samani, *et al.*, 2015; Park & Tak, 2016). Para que un insecticida natural sea comercialmente viable debe cumplir con una serie de requisitos como son la selectividad, la protección de los enemigos naturales, la baja toxicidad en mamíferos, ser biodegradable y no fitotóxicos (Vieira *et al.*, 2001).

### 3.2.1. – *Eucalyptus globulus* Labill.

La especie *E. globulus* es un árbol perenne, nativo de Australia y Tasmania y ampliamente cultivado en todo el mundo (Coppen, 2002; Prieto *et al.*, 2005).

El vocablo *Eucalyptus* proviene del griego *eu*, pozo, y *caliptos*, cubierto, aludiendo al opérculo que cubre a los estambres antes de la antesis. El adjetivo *globulus* proviene del latín y hace alusión a sus frutos que son "pequeñas bolitas" (Coppen, 2002; Arango Mejía, 2006; Short & George, 2013).

#### 3.2.1.1. – Posición sistemática y clasificación taxonómica

Reino Plantae

División Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Subclase Rosidae

Orden Myrtales

Familia Myrtaceae

Subfamilia Myrtoideae

Tribu Eucalypteae

Género *Eucalyptus* L'Hér.

Especie *Eucalyptus globulus* Labill.

(Tutin *et al.*, 1996; Wilson *et al.*, 2005; Wilson, 2011; Shipunov, 2018).

El orden Myrtales contiene nueve familias: Alzateaceae, Combretaceae, Crypteroniaceae, Lythraceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Onagraceae, Penaeaceae y Vochysiaceae (Byng *et al.*, 2016). Myrtaceae es una gran familia dentro de este orden, con aproximadamente 130 géneros y más de 5500 especies (Thornhill & Crisp, 2012), agrupadas en la subfamilia Myrtoideae, con 15 tribus, y la subfamilia Psiloxylodeae, con dos tribus (Wilson *et al.*, 2005; Wilson, 2011; Martos *et al.*, 2017).

Las especies de la familia Myrtaceae son árboles o arbustos de hojas perennes, simples, generalmente opuestas con glándulas aromáticas y el fruto es una baya o una cápsula (Tutin *et al.*, 1996; Wilson, 2011). Se distribuyen principalmente en el hemisferio sur, con centros de diversidad en Australia y América del Sur (Thornhill & Crisp, 2012). Dentro de la subfamilia Myrtoideae se encuentra la tribu Eucalypteae, compuesta por 7 géneros. Esta tribu toma su nombre del género más importante, *Eucalyptus* (Wilson *et al.*, 2005; Wilson, 2011).

El género *Eucalyptus* fue descrito por primera vez por L'Héritier de Brutelle en 1789 a partir de la especie *E. obliqua* (Brooker, 2000; Coppen, 2002; Wilson, 2011). En la actualidad este género comprende alrededor de 800 especies (Coppen, 2002; Wilson, 2011) que se caracterizan por poseer flores sin cáliz ni corola y que en el estado de botón floral están recubiertas por un opérculo caedizo, a veces doble. Las características del tronco y del tipo de inflorescencia sirven para identificar a las especies de mayor importancia (Dimitri & Orfila, 1985; Tutin *et al.*, 1996; Fleming, 2000; Khan & Abourashed, 2010; Wilson, 2011).

### Lámina 3.1. Descripción botánica de *Eucalyptus globulus* Labill.

Árbol de 40 a 90 m de altura en su hábitat natural. El tronco es de aspecto retorcido, de color gris plateado y con verrugas dispersas. La corteza se desprende fácilmente en grandes láminas (Figura 3.1.).

**Hojas:** enteras, coriáceas y perennes, de formas diferentes (dimórficas) según la edad de la rama. Las ramas jóvenes poseen hojas de 7-16 por 4-9 cm, sésiles, alternas, ovadas a lanceoladas, cordadas, glaucas a menudo cubiertas por un polvo blanquecino. Las ramas maduras poseen hojas de 10-13 por 3-4 cm, pecioladas, opuestas, asimétricas, lanceoladas a falcadas-lanceoladas, acuminadas y de color verde brillante. Las hojas tienen una nerviación moderadamente densa, formada por finas nervaduras terciarias y cuaternarias entre las venas laterales (Figura 3.2.).

**Flor:** el botón floral es grande, sésil, verrugoso y glauco. La flor es tetrámera, grande y solitaria sobre un pedúnculo corto. El cáliz y la corola están fusionados formando un opérculo leñoso que se cae en la floración, dejando al descubierto el androceo formado por un elevado número de estambres con filamentos de color cremoso claro, muy vistosos. Gineceo con estilo columnar, de ovario ínfero (Figura 3.2.).

**Fruto:** Cápsula dehiscente de 10-15 por 15-30 mm, leñosa, globo deprimida, algo ahusada hacia la base con 4 costillas principales. El fruto tiene entre 3 a 4 celdas con numerosas semillas de las que maduran de una a dos semillas por celda (Figura 3.3.).

Nota: las características botánicas han sido recopiladas de los trabajos de los siguientes autores: Dimitri & Orfila, 1985; Tutin *et al.*, 1996; Fleming, 2000; Coppen, 2002; Arango Mejía, 2006; Khan & Abourashed, 2010; Majada Guijo *et al.*, 2012.



Fig. 3.1. *Eucalyptus globulus*



Fig. 3.2. Hojas y Flores



Fig. 3.3. Frutos

### **3.2.1.2. – Propiedades, usos etnomedicinales e industriales del aceite de *E. globulus***

El aceite de *E. globulus* tiene propiedades antibacterianas, fungicidas, expectorantes, de hiperemia local leve, antiespasmódicas leves, secretolíticas, antiinflamatorias y de mejora en el cumplimiento pulmonar. Además, alivia el dolor muscular, inhibe la biosíntesis de las prostaglandinas y evita la oxidación del ácido linoleico (Fleming, 2000; Coppen, 2002; Khan & Abourashed, 2010).

Los extractos de las hojas tienen propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, antitumorales y efectos inhibidores en la activación del virus Epstein-Barr y del HIV (Fleming, 2000; Coppen, 2002; Khan & Abourashed, 2010).

En la medicina popular el aceite de *E. globulus* se emplea para el asma, las enfermedades de los senos frontales, la fiebre, la gripe, las quejas gástricas, la ronquera, la escarlatina, el sarampión, la infestación de gusanos y como antiséptico intestinal. Se emplea en aromaterapia y como fragancia en bálsamos tópicos y en aceites para masajes (Fleming, 2000; Coppen, 2002; Khan & Abourashed, 2010).

En la industria farmacéutica se usa ampliamente como expectorante y aromatizante en medicamentos contra el resfriado y la tos y en la elaboración de fluidos vaporizadores, linimentos antisépticos, pastas dentífricas y enjuagues bucales (Khan & Abourashed, 2010).

En cosmética se utiliza como fragancia en jabones, detergentes, cremas, lociones y perfumes y en odontología como componentes de los selladores de los conductos radiculares (Khan & Abourashed, 2010).

En la industria alimenticia el aceite se usa como saborizante en bebidas alcohólicas y no alcohólicas, postres lácteos congelados, dulces, productos horneados, gelatinas y en productos cárnicos (Khan & Abourashed, 2010).

### **3.2.1.3. – Bioactividad del aceite de *E. globulus* en artrópodos plaga**

La efectividad del aceite de *E. globulus* como fumigante, insecticida de contacto y repelente ha sido evaluada en distintas especies de artrópodos plagas.

Regnault Roger & Hamraoui, en el año 1994, fumigaron semillas de *Phaseolus vulgaris* con 0,05  $\mu\text{l cm}^{-3}$  de aceite y produjeron una mortalidad del 90% de los adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera).

En el año 1995, Perrucci observó que 6  $\mu\text{l}$  de aceite utilizado en ensayos de fumigación controló el 76,7% de los adultos del ácaro *Tyrophagus longior* y el 91,7% de los adultos al evaluar la toxicidad por contacto de este aceite.

En larvas de *Cydia pomonella* (Lepidoptera), Landolt *et al.* (1999) observaron que el aceite no presentó repelencia, aunque su aplicación generó una barrera que impidió su avance.

En el año 2000, Lee *et al.* observaron que plagas de granos almacenados del Orden Coleoptera que han desarrollado resistencia a los insecticidas sintéticos pueden ser más tolerantes a los aceites esenciales. Al fumigar adultos de *Oryzaephilus surinamensis* observaron que la dosis letal 50 fue de 0,13  $\text{g l}^{-1}$  en los adultos susceptibles a clorpirifós y de 0,25  $\text{g l}^{-1}$  en los adultos resistentes.

En 2001, Lee *et al.* evaluaron el efecto fumigante en plagas de granos almacenados del aceite y de su principal compuesto, el 1,8-cineol, en *Sitophilus*

*oryzae* y observaron una dosis letal 50 de 28,9  $\mu\text{l l}^{-1}$  de aceite puro y de 23,5  $\mu\text{l l}^{-1}$  para el 1,8-cineol.

Choi *et al.*, en 2003, controlaron el 92% de las ninfas del primer estadio del hemíptero *Trialeurodes vaporariorum* con 0,0093  $\mu\text{l}$  de aceite en 1 ml de aire. Un año después, Choi *et al.* (2004) evaluaron el efecto fumigante del aceite en el ácaro *Tetranychus urticae*. Fumigando con 0,019  $\mu\text{l ml}^{-1}$  obtuvieron una mortalidad del 89% de los adultos.

Yi *et al.*, en el año 2006, fumigaron adultos de *Thrips palmi* (Thysanoptera) y determinaron una concentración letal 50 de 27,73  $\text{mg l}^{-1}$ .

En el año 2008, Mareggiani *et al.* obtuvieron una concentración letal 50 de 2.000 ppm al evaluar el aceite esencial mediante aplicaciones por contacto en adultos de *A. gossypii*.

En 2010 varios autores evaluaron la actividad del aceite esencial en especies de coleópteros plaga de granos almacenados. Según Ahmed & El-Salam, la concentración letal 95 en *Callosobruchus maculatus* y en *S. oryzae* fue de 3,66 y 8,73  $\mu\text{l}$  de aceite en 50 ml de aire, respectivamente. Por su parte, Ebadollahi *et al.*, evaluaron la toxicidad fumigante y determinaron una concentración letal 50 de 11,222  $\mu\text{l l}^{-1}$  para *Lasioderma serricorne* y de 3,529  $\mu\text{l l}^{-1}$  para *Rhyzopertha dominica* (Ebadollahi *et al.*, 2010a, b). Mientras que en *Tribolium castaneum* concentraciones de 4 a 13  $\mu\text{l}$  de aceite produjeron mortalidad a las 24 horas con una concentración letal 50 de 30,037  $\mu\text{l l}^{-1}$  para las larvas, 30,268  $\mu\text{l l}^{-1}$  para las pupas y 30,602  $\mu\text{l l}^{-1}$  para los adultos (Ebadollahi *et al.*, 2010c). Estos autores además evaluaron la toxicidad por contacto en *L. serricorne*, determinando una concentración letal 50 de 0,216  $\mu\text{l cm}^{-2}$  (Ebadollahi *et al.*, 2010b). Otros autores,

Mossi *et al.*, evaluaron la actividad insecticida por contacto en *S. zeamais* y determinaron que la dosis letal 50 fue de 0,10  $\mu\text{l cm}^{-2}$ . También, dentro del Orden Hemiptera, Górski & Tomczak (2010) evaluaron la toxicidad por inmersión de hojas de *Solanum melongena* infestadas con *Aulacorthum solani* en una solución con 0,1% del aceite y lograron controlar cerca del 70% de la colonia en 72 horas.

En el año 2011, Gupta *et al.* evaluaron mediante un ensayo de libre elección la acción del aceite en los isópteros *Odontotermes obesus* observando un 100% de mortalidad a una dosis del 10%. Por su parte, Khanikor & Bora (2011) evaluaron la toxicidad del aceite mediante la aplicación tópica en adultos de *Exorista sorbillans* (Diptera) observando un 100% de mortalidad a los 2,58 minutos.

En el año 2012, se continuó evaluando el efecto fumigante en diversos coleópteros plaga de granos almacenados, Lal & Raj lograron reducir la supervivencia, la fecundidad y la emergencia de adultos de *C. maculatus* sin afectar el poder germinativo de semilla de *Pea* sp. al aplicar 3 ml de aceite por kilo. Por su parte, de França *et al.* (2012) obtuvieron similares resultados con la especie *Zabrotes subfasciatus* alimentada con semillas de *P. vulgaris* tratadas con 0,5 ml de aceite por kilo de semillas. En ese mismo año, Reyes Guzmán *et al.* fumigaron 5  $\mu\text{l}$  de aceite en un volumen de 50 ml y controlaron el 100% de los adultos de *L. serricorne* en 24 horas. Por su parte, Tayoub *et al.* (2012) fumigaron larvas de *Trogoderma granarium* y determinaron una concentración letal 50 de 233  $\mu\text{l l}^{-1}$  a las 24 horas. Nattudurai *et al.* (2012) determinaron que la concentración letal 50 de las larvas de *T. castaneum* era de 131,34  $\mu\text{l l}^{-1}$ , mientras que en los adultos era de 54,95  $\mu\text{l l}^{-1}$ . Además, la concentración letal 10 redujo la fecundidad, el porcentaje de nacimientos, la supervivencia y la emergencia de adultos. En adultos de

*Sternechus pinguis*, Zunino *et al.* (2012) obtuvieron un 100% de mortalidad por contacto con 1,25  $\mu\text{l cm}^{-2}$  del aceite esencial, mientras que para *Rhyssomatus subtilis* se debió utilizar 2,49  $\mu\text{l cm}^{-2}$  para obtener un 100% de mortalidad. En insectos del Orden Diptera, Kim *et al.* (2012) evaluaron la acción fumigante del aceite y observaron un 50% de mortalidad en larvas del tercer estadio de *Camptomyia corticalis* al utilizar una concentración de 0,88  $\text{mg cm}^{-3}$ . Por su parte, Pandey *et al.* (2012) expuso al isóptero *O. assamensis* al efecto del aceite puro y de uno de sus compuestos principales, el 1,8-cineol, observando una mortalidad que varió entre el 80 y el 70%, respectivamente para cada uno de ellos. En ese mismo año, Jeyasankar evaluó el efecto antialimentario y la regulación del crecimiento en larvas de *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera). Este autor observó que las larvas que se alimentaban de hojas de *S. tuberosum* sumergidas en una solución del 2% de aceite redujeron su peso en un 50%, presentaron malformaciones y disminuyeron su emergencia pupal en un 35,5%. En insecto del Orden Orthoptera, Sharaby *et al.* (2012) evaluaron el efecto insecticida aplicando este aceite a la dieta de *Heteracris littoralis* y determinaron una concentración letal 50 de 0,075  $\text{mg}$  de aceite en 100  $\text{ml}$  de dieta.

En el año 2013, Vieira *et al.* evaluaron el efecto ovicida en el hemíptero *Aleurocanthus woglumi*. Las ovoposiciones fueron controladas al utilizar el aceite a una dosis del 4 al 6%. A su vez, Kim *et al.* evaluaron la toxicidad del aceite esencial en las ninfas de *Metcalfa pruinosa* (Hemiptera) mediante la inmersión de hojas de su planta huésped *Hibiscus syriacus* y determinaron que utilizando 1  $\text{gr l}^{-1}$  de aceite esencial en 50  $\mu\text{l}$  de etanol la mortalidad fue del 100%. Dentro del orden Hymenoptera, Tang *et al.* (2013) evaluaron el efecto fumigante del aceite en

*Solenopsis invicta* y lograron controlar el 100% de los individuos con 2 a 3 ml de aceite. Al año siguiente, Wang *et al.* demostraron la actividad repelente del aceite sobre *S. invicta*.

En el año 2017, Peschiutta *et al.* evaluaron el efecto fumigante del aceite en adultos de la cochinilla de la vid, *Planococcus ficus*, logrando controlar el 25% de los insectos en 24 horas, destacando la acción insecticida del principal componente del aceite, el 1,8-cineol.

En 2018, Murcia-Meseguer *et al.*, realizaron aplicaciones tópicas de una solución acetónica del aceite en el protórax de las larvas de *Spodoptera exigua* y generaron una mortalidad del 74%.

### **3.2.2. – *Mentha x piperita* L.**

La especie *Mentha x piperita* es una planta estéril que surge de la hibridación entre *M. aquatica* y *M. spicata* (*M. viridis*) y, probablemente, esta última sea un híbrido entre *M. rotundifolia* y *M. sylvestris* o de *M. longifolia* con *M. suaveolens*, por lo cual *M. x piperita* es un híbrido natural triple (Dimitri & Orfila, 1985; Arango Mejía, 2006; Lawrence, 2007; Khan & Abourashed, 2010).

Según la leyenda la palabra *mentha*, derivado del latín *mintha* o *mintá*, proviene del nombre griego de la ninfa *Mintha* que fue transformada en una planta por la diosa Perséfone. El término *piperita* proviene del latín *piperitus* que significa "picante", esto se debe al sabor picante de la planta (Arango Mejía, 2006).

Esta especie se cultivó por primera vez en la cuenca del mediterráneo. A fines del siglo XVIII se sembró comercialmente en Inglaterra y a principios del siglo XIX se introdujo al continente americano (Lawrence, 2007).

### 3.2.2.1. – Posición sistemática y clasificación taxonómica

Reino Plantae

División Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Subclase Rosidae

Orden Lamiales

Familia Lamiaceae

Subfamilia Nepetoideae

Tribu Mentheae

Género *Mentha* L.

Especie *Mentha x piperita* L.

(Harley *et al.*, 2004; Lawrence, 2007; Li *et al.*, 2016; Shipunov, 2018).

Actualmente se reconocen 24 familias pertenecientes al orden Lamiales: Acanthaceae, Bignoniaceae, Byblidaceae, Calceolariaceae, Carlemanniaceae, Gesneriaceae, Lamiaceae, Lentibulariaceae, Linderniaceae, Martyniaceae, Mazaceae, Oleaceae, Orobanchaceae, Paulowniaceae, Pedaliaceae, Phrymaceae, Plantaginaceae, Plocospermataceae, Schlegeliaceae, Scrophulariaceae, Stilbaceae, Tetrachondraceae, Thomandersiaceae y Verbenaceae. Dentro del orden se destacan se encuentran especies medicinales en las familias Acanthaceae, Plantaginaceae y Scrophulariaceae, árboles ornamentales en Bignoniaceae, Paulowniaceae y Verbenaceae, plantas carnívoras en Byblidaceae y Lentibulariaceae, especies parásitas en Orobanchaceae y especies de interés agrícola en las familias Oleaceae, Pedaliaceae y Lamiaceae (Byng *et al.*, 2016).

La familia Lamiaceae es la sexta familia más grande dentro de las angiospermas, contiene alrededor de 236 géneros y aproximadamente 7173 especies (Harley *et al.*, 2004). Según estos autores la familia Lamiaceae está conformada por siete subfamilias: Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae,

Prostantheroideae, Scutellarioideae, Symphorematoideae y Viticoideae. En el año 2016, Li *et al.* por medio de estudios moleculares elevó el número de subfamilias a diez con la incorporación de la subfamilia Cymarioideae, Premnoideae y Peronematoideae.

La subfamilia Nepetoideae representa más del 47% de la familia Lamiaceae (Lawrence, 2007) y contiene 118 géneros con aproximadamente 3400 especies (Li *et al.*, 2016). En esta subfamilia se encuentran los géneros más importantes desde el punto de vista económico (Lawrence, 2007). Las especies de la subfamilia Nepetoideae están ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y templadas de los hemisferios norte y sur con pocas especies nativas en Australia y Nueva Zelanda (Li *et al.*, 2016).

Aproximadamente el 50% de la subfamilia Nepetoideae corresponde a especies de la tribu Mentheae (Moon *et al.*, 2010). Uno de los géneros de mayor importancia dentro de la mencionada tribu es el género *Mentha* (Lawrence, 2007).

En general, dentro de este género se produce una hibridación entre especies, lo cual dificulta su identificación. En la bibliografía se han publicado más de 3000 epítetos (Lawrence, 2007), muchos de ellos sinónimos y otros nombres infraespecíficos legítimos (Khan & Abourashed, 2010). En 2007, Tucker & Naczi redefinieron el género y han determinado 18 especies y 11 híbridos (Lawrence, 2007). Cada especie, a su vez, posee numerosas variedades. Las diferentes variedades de *Mentha* producen aceites que difieren en la composición química. En general poseen mentol y carvona entre sus compuestos principales (Dimitri & Orfila, 1985; Khan & Abourashed, 2010).

### Lámina 3.2. Descripción botánica de *Mentha x piperita* L.

Hierba aromática perenne. Altura entre 50 a 90 cm hasta 1 m. Cultivada en todo el mundo. Presenta tres variedades, var. *citrata*, var. *piperita* y var. *officinalis*. Esta última presenta dos formas, *M. x piperita* var. *officinalis* f. *pallescens* (Menta blanca) y *M. x piperita* var. *officinalis* f. *rubescens* (Menta negra).

**Hojas:** opuestas, oblongo-ovaladas aserradas. Peciolas o cortamente pecioladas. Color en el haz verde oscuro y en el envés más claro. Cubierta por tricomas simples y glandulares, en los cuales se acumula el aceite esencial (Figura 3.4.).

**Tallos:** erectos cuadrangulares, muy ramificados, normalmente glabros. El color depende de la variedad, de gris-tomentoso a menudo rojizo a violáceo.

**Flor:** actinomorfa. Cáliz tubular con un anillo de pelo. Corola violeta, tubular, glabra con el margen dividido en cuatro (4 lobulado). En espigas falsas con numerosas brácteas discretas (Figura 3.5.).

**Fruto:** aquenio estéril por ser híbrido.

Nota: las características botánicas han sido recopiladas de los trabajos de los siguientes autores: Dimitri & Orfila, 1985; Fleming, 2000; Arango Mejía, 2006; Khan & Abourashed, 2010; Búfalo *et al.*, 2016.



Fig. 3.4. Hojas de *Mentha x piperita*



Fig. 3.5. Inflorescencia

### **3.2.2.2. – Propiedades, usos etnomedicinales e industriales del aceite de**

#### ***M. x piperita***

El aceite esencial de *M. x piperita* posee propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, balsámicas, carminativas, colagogas, descongestivas y expectorantes. Posee actividad espasmolítica en los músculos lisos y es eficaz en el alivio de los síntomas del síndrome del intestino irritable y de la dispepsia no ulcerosa. Por su efecto calmante y adormecedor se usa para tratar dolores de cabeza, irritaciones de la piel y ansiedad asociada con la depresión (Fleming, 2000; Arango Mejía, 2006; McKay & Blumberg, 2006; Khan & Abourashed, 2010; Raja, 2012; Uritu *et al.*, 2018).

Los extractos de *M. x piperita* poseen actividad antiviral contra los virus del herpes simple, del bosque Semliki y del Nilo Occidental. También son efectivos en el tratamiento de la enfermedad de Newcastle (McKay & Blumberg, 2006; Khan & Abourashed, 2010; Uritu *et al.*, 2018).

El aceite esencial y los extractos de *M. x piperita* han demostrado tener efectos quimiopreventivos, radioprotectores, antimutagénicos y propiedades citotóxicas (Khan & Abourashed, 2010; Uritu *et al.*, 2018).

En la medicina popular el aceite esencial *M. x piperita* sirve para combatir el mareo, el vértigo, las palpitations nerviosas, las cefaleas, las quejas estomacales, las hepáticas, las biliares, las náuseas, los vómitos, el dolor de garganta y de muela, la faringitis, la inflamación de la mucosa bucal, los resfriados, la tos, la bronquitis, la halitosis, la diarrea, el colon irritable, la dismenorrea y los calambres. Su aplicación externa se usa para aliviar mialgias y neuralgias (Fleming, 2000; Arango Mejía, 2006; Khan & Abourashed, 2010; Raja, 2012; Uritu *et al.*, 2018).

En la industria farmacéutica se usa en la formulación de compuestos que alivian la indigestión, el resfriado, la tos y la fiebre (Fleming, 2000; Khan & Abourashed, 2010; Raja, 2012; Uritu et al., 2018).

En la industria cosmética es ampliamente usado como aromatizante en pastas dentales, enjuagues bucales, jabones, detergentes, cremas, lociones y perfumes y para la elaboración de tintura (Khan & Abourashed, 2010; Raja, 2012).

En la industria alimenticia el aceite se utiliza como aromatizantes de cigarros, gomas de mascar, dulces, chocolates, bebidas alcohólicas y no alcohólicas, postres congelados, productos horneados, gelatinas, frutas procesadas y en salsas dulces (Khan & Abourashed, 2010).

### **3.2.2.3. – Bioactividad del aceite de *M. x piperita* en artrópodos plaga**

Varios son los investigadores que informan del efecto de los aceites esenciales en insectos plaga.

En el año 1986, Mansour *et al.*, utilizaron el aceite esencial para el control de *T. cinnabarinus* y determinaron una concentración letal 50 de 1,3% a las 48 horas.

Otros investigadores evaluaron el efecto del aceite en plagas de granos almacenados. En 1989, Singh *et al.* observaron el efecto fumigante del aceite en adultos de *S. oryzae*, especie en la cual produjo un 46% de mortalidad.

En 1991, Shaaya *et al.* al evaluar el efecto fumigante lograron controlar el 75% de los adultos de *O. surinamensis*, *R. dominica*, *S. oryzae* y *T. castaneum* utilizando 15 µl de aceite puro por litro de aire.

Por otra parte, en 1994, Regnault Roger & Hamraoui fumigaron semillas de *P. vulgaris* utilizando  $0,05 \mu\text{l cm}^{-3}$  de aceite y observaron un 83% de mortalidad del brúquido *A. obtectus* y una fuerte inhibición de la reproducción.

Al año siguiente, Perrucci realizó una evaluación de la toxicidad por contacto en el ácaro *T. longior*, observando el 100% de mortalidad utilizando una dosis de 1  $\mu\text{l}$  de aceite, mientras que cuando evaluó el efecto fumigante obtuvo un 96,7% de mortalidad con una dosis de 2  $\mu\text{l}$ .

A principios del milenio, Momen *et al.* (2001) pulverizaron hojas de *Rubus idaeus* infestadas con el ácaro *T. urticae* al 1 y 2% y observando una repelencia del 85,7% y del 90%, respectivamente. En el mismo año, Raja *et al.* expusieron semillas de *V. unguiculata* al efecto del aceite puro durante 24 horas para luego infestarlas con *C. maculatus* y observaron un 70% de mortalidad y una importante reducción en la progenie.

En el año 2002, Lee *et al.*, evaluaron la acción fumigante del aceite en adultos de *T. castaneum*, estableciendo la dosis letal 50 en  $25,8 \mu\text{l l}^{-1}$  de aceite puro.

En el año 2003, Choi *et al.* demostraron el efecto fumigante en adultos de la mosca blanca *T. vaporariorum*, logrando un 100% de efectividad en el control utilizando una dosis de  $0,0023 \mu\text{l}$  de aceite por ml de aire. También observaron un 98% de mortalidad ninfal con  $0,0093 \mu\text{l ml}^{-1}$  de aire. Al año siguiente, Choi *et al.* evaluaron el efecto fumigante en huevos y adultos del ácaro *T. urticae* obteniendo el 100% de mortalidad de los adultos con una dosis de  $0,019 \mu\text{l ml}^{-1}$  de aire y afectando un 93% la viabilidad de los huevos con una dosis de  $0,0093 \mu\text{l ml}^{-1}$ .

Aroiee *et al.*, en el año 2005, trabajaron con plantas de *Cucumis melo* var. *inodorus* infestadas con *T. vaporariorum* y observaron un 62,78% de mortalidad

aplicando el aceite por riego de aspersión a una concentración de 8 ppm. Por su parte, Mauchline *et al.* evaluaron la actividad repelente en la especie *Meligethes aeneus*, coleóptero presente en plantas de *Brassica napus* y determinaron que el aceite en una concentración de 10% en acetona fue efectivo repeliendo el 100% de los adultos.

En el año 2010, Han *et al.* demostraron el efecto fumigante del aceite en el ácaro predador *Neoseiulus californicus* con una concentración letal 50 de  $23,5 \mu\text{g cm}^{-3}$ . También, Kellouche *et al.* fumigaron semillas de *Phaseolus* utilizando  $10 \mu\text{l l}^{-1}$  de aire produciendo un 100% de mortalidad en adultos de *C. maculatus*.

En 2011, Abbasipour *et al.* evaluaron el efecto fumigante en adultos del lepidóptero *Ephestia kuehniella* hallando una concentración letal 50 de  $0,97 \mu\text{l l}^{-1}$  a las 24 horas. En ese mismo año, Kim *et al.* probaron el efecto fumigante del aceite en adultos de *Bemisia tabaci* (Hemiptera) obteniendo una concentración letal 50 de 0,82 ml de aceite en 50  $\mu\text{l}$  de acetona.

En el año 2012, Akhtar *et al.* determinaron una disuasión alimentaria del 50% en larvas de *Trichoplusia ni* que se alimentaban de hoja de *Brassica oleracea* tratadas con  $55,5 \mu\text{g cm}^{-2}$  de aceite. En ese mismo año, Khani *et al.* determinaron una concentración letal 50 de  $85,04 \mu\text{l l}^{-1}$  al evaluar la actividad fumigante en *S. oryzae*. Los mismos autores evaluaron esta actividad en larvas del lepidóptero *Corcyra cephalonica* obteniendo una concentración letal 50 de  $343,96 \mu\text{l l}^{-1}$ . Por su parte, Sharaby *et al.* trabajaron con ninfas de *H. littoralis* (Orthoptera) incorporando aceite puro en la dieta y determinaron que la concentración letal 50 de las ninfas del primer estadio era de 0,084 mg de aceite en 100 ml de dieta.

En 2013, Karamaouna *et al.* probaron la actividad insecticida del aceite pulverizando hojas infestadas con la cochinilla *P. ficus*. Estos autores obtuvieron una concentración letal 50 de 5,4 mg ml<sup>-1</sup> de agua para las ninfas y de 8,1 mg ml<sup>-1</sup> para los adultos. Por su parte, Kim *et al.* lograron controlar el 88% de las ninfas de *M. pruinosa* mediante la inmersión de hojas de *H. syriacus* en una solución con 1.000 mg l<sup>-1</sup>.

Dentro del Orden Lepidoptera, en 2015, Sharaby & El-Nojiban evaluaron la toxicidad del aceite en huevos, larvas y pupas de la oruga cortadora *A. ipsilon*, y observaron que la concentración letal 50 por inmersión fue de 0,019 ml en 100 ml de agua para los huevos y de 0,148 ml ml<sup>-1</sup> para las pupas, mientras que para las larvas la concentración letal 50 evaluada por contacto fue 0,032 ml de aceite por 100 ml de agua y por ingestión de 0,160 ml de aceite por ml de dieta.

En 2016 Pandir & Baş probaron el efecto fumigante en huevos, larvas y adultos de *E. kuehniella* y observaron que al utilizar una dosis de 20 µl l<sup>-1</sup> se producía el 100% de mortalidad en adultos, mientras que, con una dosis mayor, de 100 µl l<sup>-1</sup>, lograron un 100% de control en los huevos y un 86% de mortalidad larval. En ese año, Renkema *et al.* evaluaron la repelencia del aceite en el díptero *Drosophila suzukii* y lograron repeler un 60% de los adultos durante las primeras 6 horas de la aplicación.

En el año 2017, Al-Antary *et al.* evaluaron el porcentaje de mortalidad producido por este aceite esencial en ninfas del último estadio de *M. persicae*. Estos autores obtuvieron valores de alrededor del 90% de mortalidad a las 72 horas.

Dado que no existen antecedentes de la actividad biológica de *E. globulus* y *M. x piperita* en las especies de áfidos en estudio y teniendo en cuenta el uso de

productos derivados de vegetales en el control de insectos se plantean las siguientes hipótesis.

### 3.2.3. – Hipótesis

- ✱ Los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* poseen actividad insecticida en adultos de *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.
- ✱ Los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* generan efectos adversos sobre la reproducción de los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.
- ✱ Los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* poseen actividad repelente en adultos de *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

### 3.2.4. – Objetivos

- ✱ Evaluar la actividad insecticida por inmersión y por contacto de distintas dosis de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* en adultos de *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.
- ✱ Evaluar el efecto de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* sobre la reproducción de los áfidos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

\* Evaluar la actividad repelente de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* a diferentes concentraciones en adultos de *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* y *Therioaphis trifolii*.

### **3.2.5. – Materiales y Métodos**

#### **3.2.5.1. – Insectos**

Se utilizaron adultos ápteros de *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* provenientes de colonias susceptibles criadas desde el año 2012 en el laboratorio de Zoología Agrícola, Dpto. de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. Esta población fue establecida a partir de hembras ápteras virginóparas colectadas de una parcela experimental de *M. sativa* ubicada en el predio del Campus de la Universidad Nacional del Sur (lat 38° 41' 48,70" S, long 62° 14' 58,38" O).

Los insectos fueron criados sobre plantas de *M. sativa* cultivar Monarca en condiciones controladas de temperatura y humedad relativa (24±1°C y 65±10 % HR) con un fotoperiodo 12:12 (L: O).

#### **3.2.5.2. – Material vegetal**

Las semillas de *M. sativa* cv Monarca fueron provistas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA – Red de Evaluación de Alfalfa) y sembradas individualmente en macetas de arcillas de 10 cm de diámetro con un suelo Haplustol éntico, fertilizado a tasas comerciales (Soil Survey Staff, 1999). Las plantas crecieron bajo condiciones controladas de temperatura y humedad relativa (24±1°C y 65±10 % HR) y fotoperiodo 12:12 (L: O).

### 3.2.5.3. – Aceites esenciales

Los aceites comerciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* fueron producidos por Swiss-Just Lomas del Mirador, Argentina; manufacturados bajo la supervisión y el control de Ulrich-Jüstrich AG Walzenhausen, Suiza. Las soluciones de los aceites esenciales fueron preparadas disolviendo los mismos en agua destilada conteniendo una solución de etanol y Tween 20% (0,012:10).

Por otra parte, estos aceites esenciales fueron analizados por Cromatografía Gaseosa y Espectrometría de Masas (CG-EM HP5972A) en una columna (HP5-MS 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m) con un programa de temperaturas de 50°C durante 3 minutos, una rampa de 5°C/min y temperatura final de 200°C durante 5 minutos. Los compuestos determinados para los aceites esenciales y sus porcentajes relativos se muestran en las Tablas 3.1. y 3.2.

Tabla 3.1. Composición del aceite esencial de *E. globulus*.

Compuestos	Porcentaje relativo
1,8-cineol	92,76%
o-cimeno	3,83%
$\alpha$ -pineno	1,72%
4-careno	1,67%

Tabla 3.2. Composición del aceite esencial de *M. x piperita*.

Compuestos	Porcentaje relativo
Mentol	46,82%
Isomentona	21,65%
p-menthan-3-ona	12,13%
p-Mentona	5,38%
Limoneno	4,58%
1,8-cineol	3,93%
Cariofileno	1,13%
Pulegona	1,06%
$\beta$ -terpineno	0,98%
$\alpha$ -pineno	0,81%
Piperitona	0,77%
Menth-1-ona	0,7%

Los análisis de los aceites esenciales se realizaron en la sección de Química Orgánica del Instituto de Química del Sur (INQUISUR), UNS- CONICET.

### 3.2.5.4. – Bioensayos

#### 3.2.5.4.a. – Toxicidad por inmersión

Se evaluó según el método propuesto por la FAO (FAO, 1970). 10 áfidos adultos se dispusieron en el interior de un cilindro de vidrio (20 mm de diámetro por 30 mm de altura) cuyo fondo estaba cubierto con una gasa, asegurada con una banda elástica. Este cilindro se sumergió durante 10 s en una cubeta que contenía 2 ml de las soluciones de los aceites esenciales. Como control los áfidos se sumergieron en 2 ml de agua destilada conteniendo una solución de etanol y Tween 20% (0,012:10). Los áfidos se colocaron sobre hojas del cultivar Monarca y se realizaron tres réplicas por aceite y por concentración. Se registró la mortalidad luego de 1, 6 y 24 horas de iniciado el ensayo y se estimaron los valores de  $CL_{50}$  (concentración de un aceite esencial que controla el 50% de la población) mediante

el programa SPSS 15.0. Para comparar los valores de  $CL_{50}$  se utilizó el criterio de la no superposición de sus intervalos de confianza del 95% (NSIC,  $p < 0,05$ ).

#### **3.2.5.4.b. – Toxicidad por contacto**

Para evaluar la toxicidad por contacto plantas de *M. sativa* cv Monarca fueron infestadas con diez áfidos adultos. Utilizando un micropulverizador manual se aplicaron a las plantas previamente infestadas 0,2 ml de las soluciones de los aceites esenciales. Como control se pulverizó con 0,2 ml de agua destilada conteniendo una solución de etanol y Tween 20% (0,012:10). Para evitar el parasitismo o el escape las plantas fueron confinadas en tubos de vidrios cubiertos con malla antiáfidos en su extremo. Se realizaron tres réplicas por aceite y por concentración y cada experimento se repitió tres veces en forma independiente. Se registró la mortalidad a las 24 y 48 horas luego del tratamiento y se estimaron los valores de  $CL_{50}$  mediante el programa SPSS 15.0. Para comparar los valores de  $CL_{50}$  se utilizó el criterio de la no superposición de sus intervalos de confianza del 95% (NSIC,  $p < 0,05$ ).

#### **3.2.5.4.c. – Efectos sobre la reproducción**

Para evaluar los posibles efectos sobre la reproducción plantas de *M. sativa* cv Monarca fueron infestadas con una hembra adulta áptera de 24 horas de edad. Utilizando un micropulverizador manual se aplicaron a las plantas previamente infestadas 0,2 ml de las soluciones de los aceites esenciales a la concentración igual a la  $CL_{25}$  (concentración letal 25%) obtenida en el ensayo de toxicidad por contacto. Para el control se utilizaron 0,2 ml de agua destilada conteniendo una solución de

etanol y Tween 20% (0,012:10). Para evitar el parasitismo o el escape de los áfidos las plantas fueron confinadas en tubos de vidrios cubiertos con malla antiáfidos en su extremo. Se realizaron tres réplicas por aceite y por concentración. Se registró diariamente el número de ninfas paridas y el número de adultos vivos durante siete días. Los resultados se analizaron mediante la prueba de varianza ANOVA, previa verificación de los supuestos de normalidad con el test de Shapiro-Wilks y de homocedasticidad con la prueba de Levene (InfoStat, 2018) y las medias fueron separadas mediante el test de diferencias mínimas significativas (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

#### **3.2.5.4.d. – Repelencia**

La actividad repelente se evaluó mediante un test de elección foliar. Hojas de *M. sativa* cv Monarca fueron sumergidas durante 10 s en soluciones de los aceites esenciales a las concentraciones de 7; 3,50 y 1,75 % ( $p v^{-1}$ ). Como control se sumergieron hojas en agua destilada conteniendo una solución de etanol y Tween 20% (0,012:10). Las hojas se dejaron secar durante 1 hora a temperatura controlada y se colocaron en cajas de Petri (9 cm de diámetro) con 2-3 ml de agar al 1% selladas en la parte superior con tela antiáfidos. Cada arena experimental constó de dos hojas dispuestas de manera equidistante a 4 cm, una tratada con la solución de los aceites esenciales y otra con la solución control. Grupos de 10 áfidos se liberaron en el centro de las cajas de Petri y se registró su ubicación sobre las hojas a las 24 horas y 48 horas después de comenzado el experimento. Finalmente se calculó el índice de repelencia ( $I.R.= C/(C+T)$ ; donde  $C$  es el número de áfidos en las hojas control y  $T$  es el número de áfidos en las hojas tratadas). Se realizaron tres réplicas por aceite y por concentración y cada experimento se repitió tres veces en forma

independiente. Los resultados se analizaron mediante la prueba de varianza ANOVA, previa verificación de los supuestos de normalidad con el test de Shapiro-Wilks y de homocedasticidad con la prueba de Levene (InfoStat, 2018) y las medias fueron separadas mediante el test de diferencias mínimas significativas (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

### 3.2.6. – Resultados

#### 3.2.6.1. – Toxicidad por inmersión

En la Tabla 3.3. se presenta la toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* en el áfido *A. pisum*. El aceite esencial de *M. x piperita* presentó una mayor actividad insecticida en los tres tiempos evaluación, sin encontrarse diferencias entre ambos aceites esenciales (NSIC,  $p \geq 0,05$ ) (Tabla 3.3.).

**Tabla 3.3.** Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *A. pisum*.

T.E. (horas)	Aceite Esencial	N	CL <sub>50</sub> (IC 95%)	X <sup>2</sup>	Pendiente ± E.S.	Ordenada al origen ± E.S.
1	<i>E. globulus</i>	330	1,1341 (0,8931-1,4400) a	65,98	2,240 ± 0,275	-0,122 ± 0,116
	<i>M. x piperita</i>	330	1,1098 (0,9114-1,3583) a	65,89	3,086 ± 0,380	-0,139 ± 0,132
6	<i>E. globulus</i>	330	0,8807 (0,6827-1,1245) a	61,61	2,133 ± 0,271	0,117 ± 0,113
	<i>M. x piperita</i>	330	0,7603 (0,6013-0,9517) a	61,46	2,468 ± 0,314	0,293 ± 0,124
24	<i>E. globulus</i>	330	0,4798 (0,3281-0,5736) a	46,10	2,266 ± 0,333	0,790 ± 0,139
	<i>M. x piperita</i>	330	0,4309 (0,3140-0,5542) a	45,33	2,234 ± 0,331	0,816 ± 0,142

**Referencia:** T.E.: tiempo de exposición; N: número total de individuos utilizados; CL<sub>50</sub>: concentración letal 50 (% p v<sup>-1</sup>); IC 95%: intervalo de confianza del 95%; X<sup>2</sup>: Chi cuadrado; E.S.: error estándar. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente para cada tiempo de evaluación (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

Para el áfido *A. craccivora* el aceite esencial de *E. globulus* fue más tóxico que el de *M. x piperita*, aunque no se evidenciaron diferencias significativas entre

ambos aceites esenciales para los tres tiempos de evaluación (NSIC,  $p \geq 0,05$ ) (Tabla 3.4.).

**Tabla 3.4.** Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *A. craccivora*.

T.E. (horas)	Aceite Esencial	N	CL <sub>50</sub> (IC 95%)	X <sup>2</sup>	Pendiente ± E.S.	Ordenada al origen ± E.S.
1	<i>E. globulus</i>	330	0,4904 (0,2249-0,7916) a	22,68	0,988 ± 0,207	0,305 ± 0,102
	<i>M. x piperita</i>	330	0,7083 (0,5328-0,9124) a	54,87	2,016 ± 0,272	0,302 ± 0,114
6	<i>E. globulus</i>	330	0,4385 (0,2350-0,6600) a	30,31	1,231 ± 0,223	0,440 ± 0,107
	<i>M. x piperita</i>	330	0,6157 (0,4538-0,7991) a	51,17	1,961 ± 0,274	0,413 ± 0,116
24	<i>E. globulus</i>	330	0,2906 (0,1389-0,4488) a	29,04	1,338 ± 0,248	0,718 ± 0,116
	<i>M. x piperita</i>	330	0,3205 (0,1952-0,4438) a	35,27	1,801 ± 0,303	0,890 ± 0,133

**Referencia:** T.E.: tiempo de exposición; N: número total de individuos utilizados; CL<sub>50</sub>: concentración letal 50 (% p v<sup>-1</sup>); IC 95%: intervalo de confianza del 95%; X<sup>2</sup>: Chi cuadrado; E.S.: error estándar. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente para cada tiempo de evaluación (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

Para el áfido *T. trifolii* el aceite esencial de *M. x piperita* resultó significativamente más tóxico que el aceite esencial de *E. globulus* en cada tiempo de evaluación (NSIC,  $p < 0,05$ ) (Tabla 3.5.).

**Tabla 3.5.** Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *T. trifolii*.

T.E. (horas)	Aceite Esencial	N	CL <sub>50</sub> (IC 95%)	X <sup>2</sup>	Pendiente ± E.S.	Ordenada al origen ± E.S.
1	<i>E. globulus</i>	330	3,1736 (2,7616-3,6313) b	25,41	7,288 ± 1,445	-3,655 ± 0,760
	<i>M. x piperita</i>	330	1,3016 (1,0672-1,5975) a	65,41	3,051 ± 0,371	-0,349 ± 0,138
6	<i>E. globulus</i>	330	3,1079 (2,7039-3,5490) b	25,05	7,429 ± 1,484	-3,658 ± 0,770
	<i>M. x piperita</i>	330	1,1836 (0,9604-1,4656) a	68,68	2,794 ± 0,337	-0,204 ± 0,128
24	<i>E. globulus</i>	330	0,9340 (0,6859-1,2467) b	50,98	1,724 ± 0,241	0,051 ± 0,109
	<i>M. x piperita</i>	330	0,4236 (0,2923-0,5597) a	41,59	1,992 ± 0,308	0,743 ± 0,132

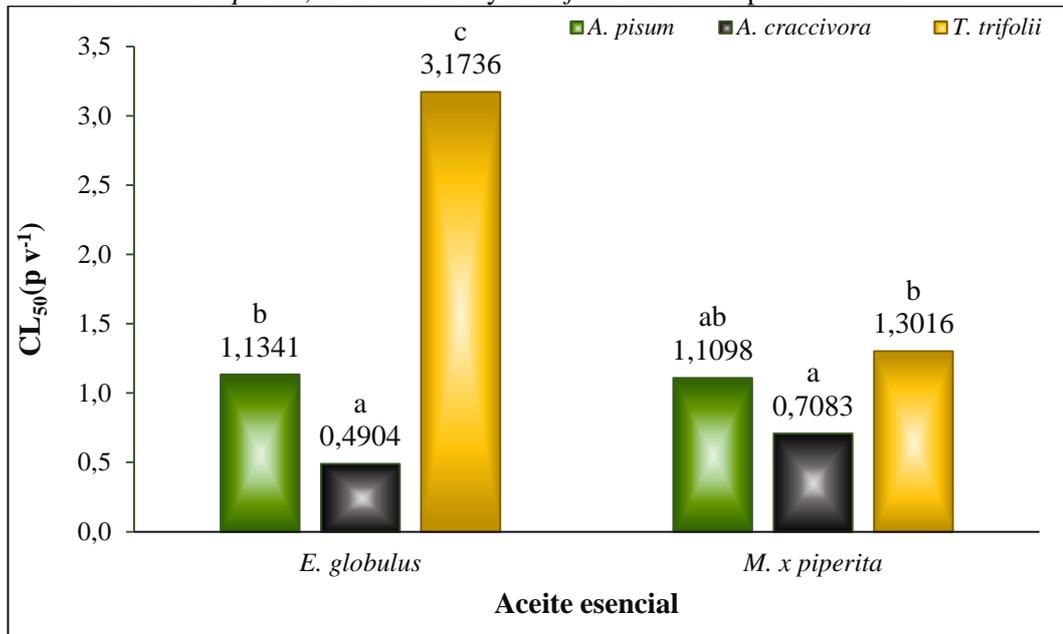
**Referencia:** T.E.: tiempo de exposición; N: número total de individuos utilizados; CL<sub>50</sub>: concentración letal 50 (%  $p^{-1}$ ); IC 95%: intervalo de confianza del 95%; X<sup>2</sup>: Chi cuadrado; E.S.: error estándar. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente para cada tiempo de evaluación (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

Cuando se evaluó la actividad insecticida de manera conjunta para las tres especies de áfidos se pudo observar que tanto a la primera hora como a las 6 horas el aceite esencial de *E. globulus* fue más tóxico para el áfido *A. craccivora*, diferenciándose significativamente de las otras dos especies (NSIC,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.6. y 3.7.). A las 24 horas, este aceite resultó más tóxico para *A. craccivora* sin hallarse diferencias significativas con el áfido *A. pisum* (NSIC,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.8.).

Al considerar el efecto tóxico del aceite esencial de *M. x piperita* se pudo observar que durante la primera hora este aceite presentó mayor toxicidad para el áfido *A. craccivora*, diferenciándose significativamente del áfido *T. trifolii* (NSIC,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.6.). A las 6 horas, este aceite fue más tóxico para los áfidos *A.*

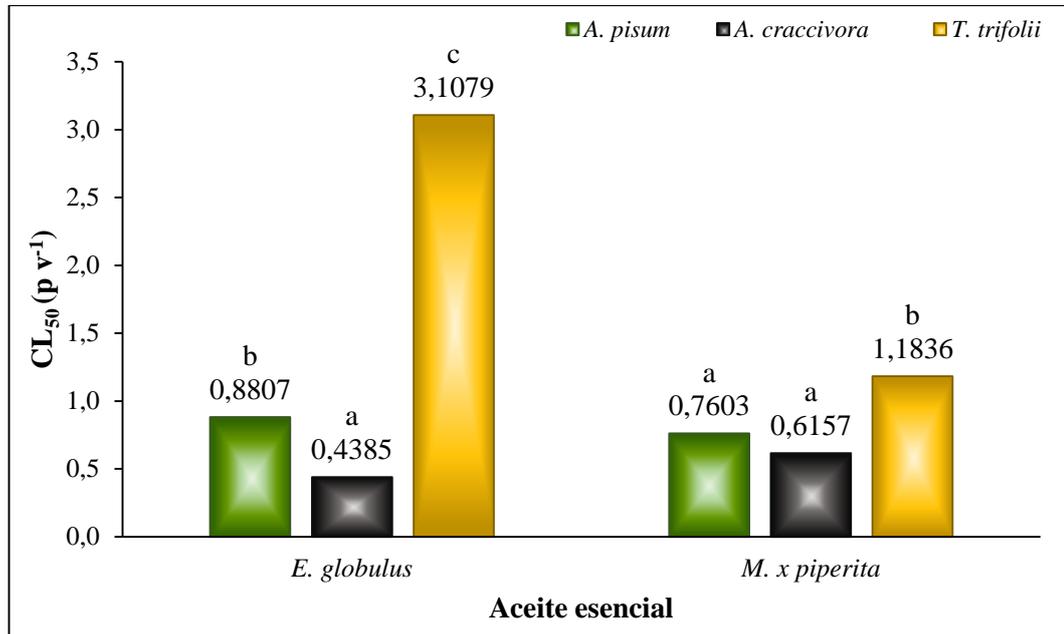
*pisum* y *A. craccivora* que para el áfido *T. trifolii* (NSIC,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.7.). Al cabo de 24 horas, la toxicidad fue similar para las tres especies de áfidos (NSIC,  $p \geq 0,05$ ) (Figura 3.8.).

**Fig. 3.6.** Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* durante la primera hora.



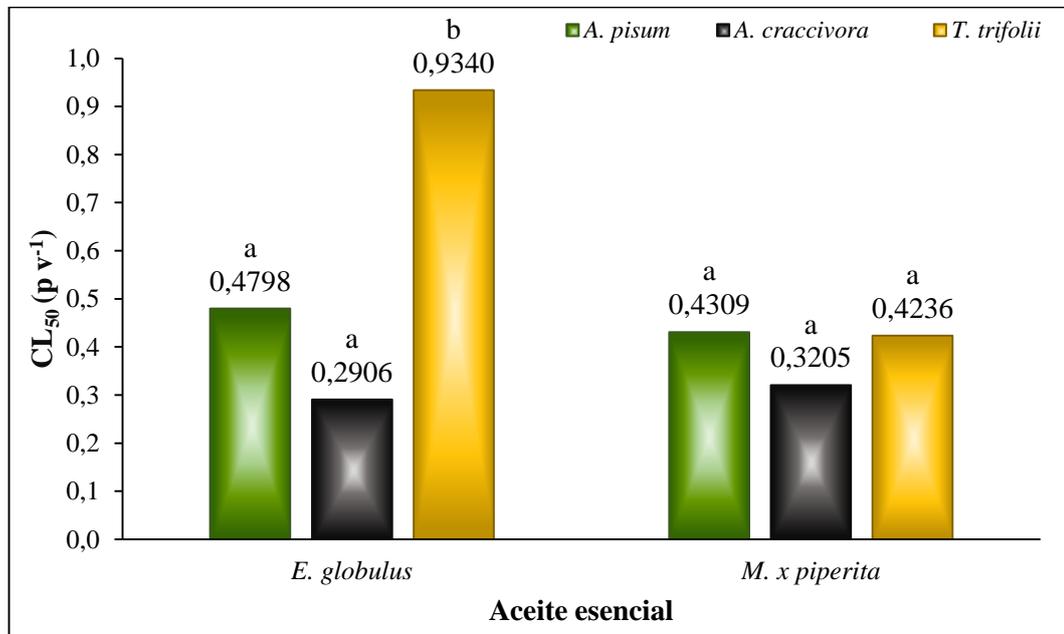
**Referencia:** Valores de  $CL_{50}$  seguidos por la misma letra dentro de cada aceite esencial no difieren significativamente (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

**Fig. 3.7.** Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* durante las primeras 6 horas.



**Referencia:** Valores de  $CL_{50}$  seguidos por la misma letra dentro de cada aceite esencial no difieren significativamente (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

**Fig. 3.8.** Toxicidad por inmersión de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* durante las primeras 24 horas.



**Referencia:** Valores de  $CL_{50}$  seguidos por la misma letra dentro de cada aceite esencial no difieren significativamente (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

### 3.2.6.2. – Toxicidad por contacto

Al evaluar la toxicidad por contacto de los aceites esenciales no se hallaron diferencias significativas sobre el áfido *A. pisum* tanto a las 24 como a las 48 horas (NSIC,  $p \geq 0,05$ ). Sin embargo, el aceite esencial de *E. globulus* fue más tóxico a las 24 horas, mientras que el aceite esencial de *M. x piperita* fue el más tóxico a las 48 horas (Tabla 3.6.).

**Tabla 3.6.** Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *A. pisum*.

T.E. (horas)	Aceite Esencial	N	CL <sub>50</sub> (IC 95%)	X <sup>2</sup>	Pendiente ± E.S.	Ordenada al origen ± E.S.
24	<i>E. globulus</i>	180	1,4574 (0,2833-3,6121) a	6,43	0,624 ± 0,246	-0,102 ± 0,123
	<i>M. x piperita</i>	180	1,9479 (1,1349-3,4371) a	15,21	0,996 ± 0,255	-0,288 ± 0,126
48	<i>E. globulus</i>	180	0,5717 (0,2196-+0,9161) a	19,12	1,241 ± 0,283	0,301 ± 0,125
	<i>M. x piperita</i>	180	0,5542 (0,2739-0,8185) a	13,14	1,597 ± 0,322	0,409 ± 0,127

**Referencia:** T.E.: tiempo de exposición; N: número total de individuos utilizados; CL<sub>50</sub>: concentración letal 50 (% p v<sup>-1</sup>); IC 95%: intervalo de confianza del 95%; X<sup>2</sup>: Chi cuadrado; E.S.: error estándar. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente para cada tiempo de evaluación (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

Para el áfido *A. craccivora*, aunque no se observaron diferencias significativas (NSIC,  $p \geq 0,05$ ), el aceite esencial de *E. globulus* fue más tóxico tanto a las 24 como a las 48 horas (Tabla 3.7.).

**Tabla 3.7.** Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *A. craccivora*.

T.E. (horas)	Aceite Esencial	N	CL <sub>50</sub> (IC 95%)	X <sup>2</sup>	Pendiente ± E.S.	Ordenada al origen ± E.S.
24	<i>E. globulus</i>	180	2,4917 (1,6364-4,2955) a	19,99	1,167 ± 0,261	-0,463 ± 0,130
	<i>M. x piperita</i>	180	3,0156 (2,1776-4,6398) a	30,47	1,555 ± 0,281	-0,745 ± 0,144
48	<i>E. globulus</i>	180	1,0103 (0,5495-1,5018) a	21,00	1,249 ± 0,272	-0,005 ± 0,123
	<i>M. x piperita</i>	180	1,9494 (1,4521-2,6501) a	37,89	1,793 ± 0,291	-0,519 ± 0,137

**Referencia:** T.E.: tiempo de exposición; N: número total de individuos utilizados; CL<sub>50</sub>: concentración letal 50 (% p v<sup>-1</sup>); IC 95%: intervalo de confianza del 95%; X<sup>2</sup>: Chi cuadrado; E.S.: error estándar. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente para cada tiempo de evaluación (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

Al evaluar la toxicidad por contacto para el áfido *T. trifolii* no se hallaron diferencias significativas para ambos aceites esenciales (NSIC,  $p \geq 0,05$ ) (Tabla 3.8.), sin embargo, el aceite esencial de *M. x piperita* fue más tóxico tanto a las 24 como a las 48 horas (Tabla 3.8.).

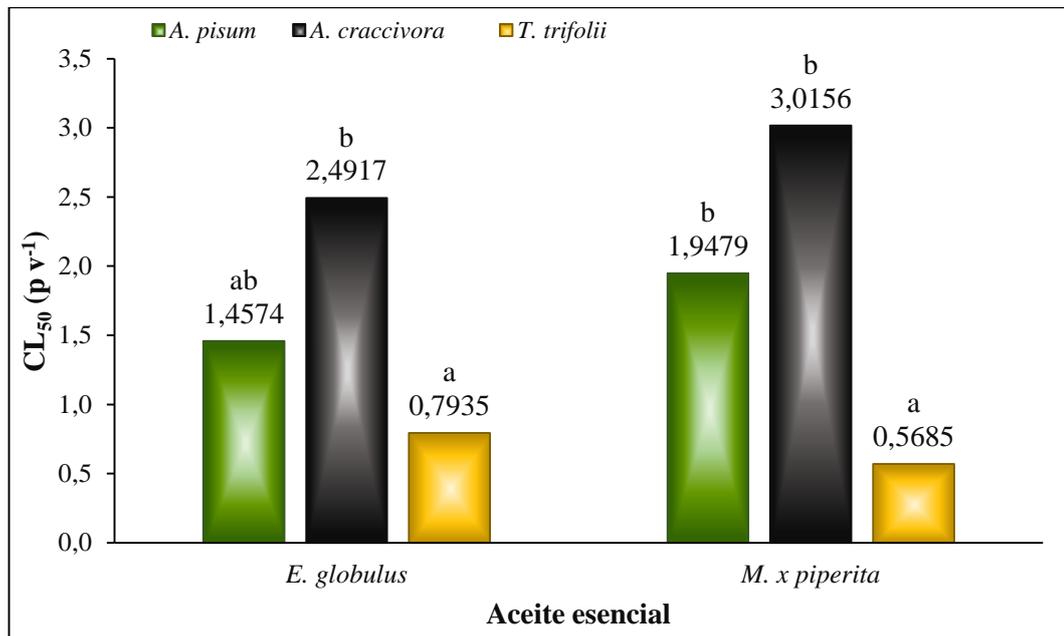
**Tabla 3.8.** Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *T. trifolii*.

T.E. (horas)	Aceite Esencial	N	CL <sub>50</sub> (IC 95%)	X <sup>2</sup>	Pendiente ± E.S.	Ordenada al origen ± E.S.
24	<i>E. globulus</i>	180	0,7935 (0,4035-1,4568) a	21,12	0,699 ± 0,152	0,070 ± 0,089
	<i>M. x piperita</i>	180	0,5685 (0,1058-1,0491) a	11,56	0,889 ± 0,261	0,218 ± 0,123
48	<i>E. globulus</i>	180	0,5175 (0,2850-0,8218) a	31,97	0,896 ± 0,158	0,256 ± 0,092
	<i>M. x piperita</i>	180	0,4436 (0,1301-0,7606) a	17,16	1,194 ± 0,288	0,421 ± 0,126

**Referencia:** T.E.: tiempo de exposición; N: número total de individuos utilizados; CL<sub>50</sub>: concentración letal 50 (% p v<sup>-1</sup>); IC 95%: intervalo de confianza del 95%; X<sup>2</sup>: Chi cuadrado; E.S.: error estándar. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente para cada tiempo de evaluación (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

Al analizar los valores de la  $CL_{50}$  obtenidos durante las primeras 24 horas para las tres especies de áfidos y para cada aceite esencial se observó que el aceite de *E. globulus* fue más tóxico para *T. trifolii*, diferenciándose estadísticamente de *A. craccivora* (NSIC,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.9.). El aceite esencial de *M. x piperita* fue significativamente más tóxico para *T. trifolii* (NSIC,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.9.).

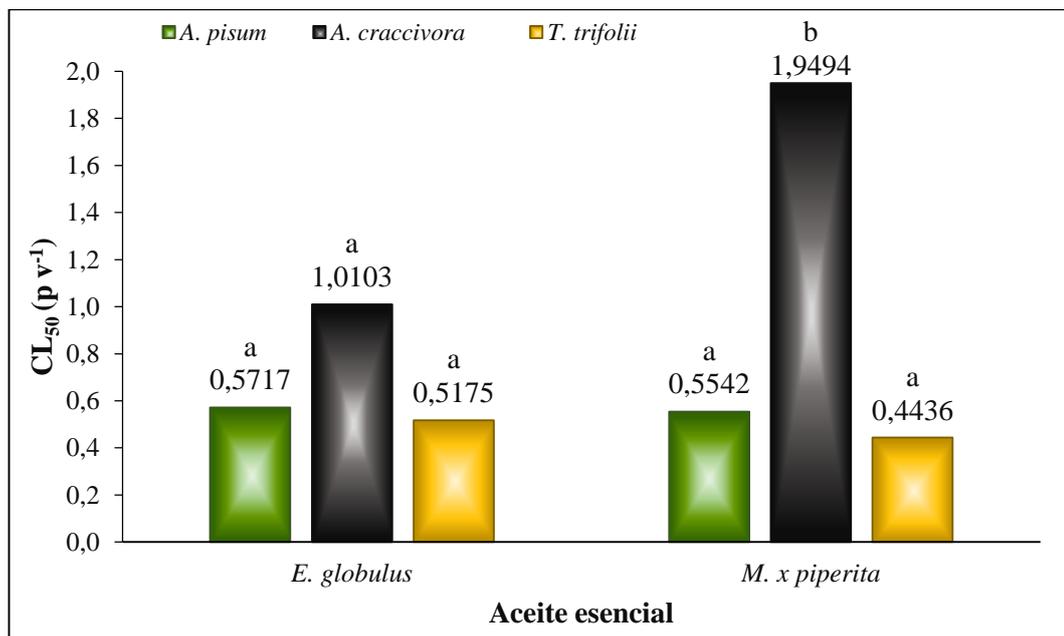
**Fig. 3.9.** Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* a las 24 horas.



**Referencia:** Valores de  $CL_{50}$  seguidos por la misma letra dentro de cada aceite no difieren significativamente (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

Luego de 48 horas el aceite esencial de *E. globulus* produjo una toxicidad estadísticamente similar para las tres especies de áfidos (NSIC,  $p \geq 0,05$ ) (Figura 3.10.). Por su parte, el aceite esencial de *M. x piperita* fue más efectivo para el control de los áfidos *A. pisum* y *T. trifolii* que para *A. craccivora* (NSIC,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.10.).

**Fig. 3.10.** Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* a las 48 horas.

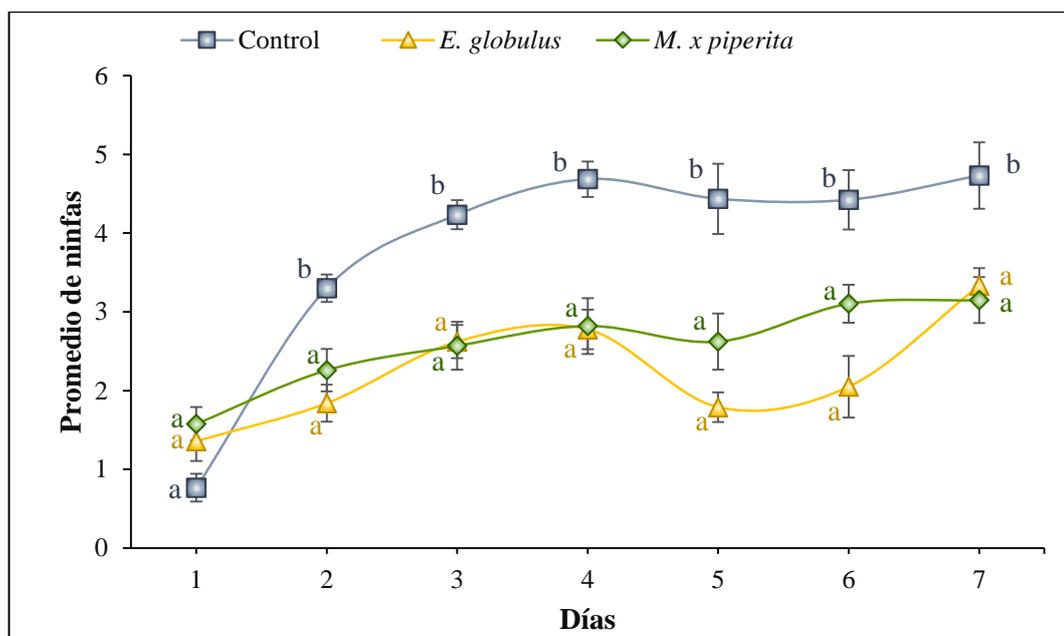


**Referencia:** Valores de  $CL_{50}$  seguidos por la misma letra dentro de cada aceite no difieren significativamente (NSIC,  $p \geq 0,05$ ).

### 3.2.6.3. – Efectos sobre la reproducción

Para el áfido *A. pisum*, a las 24 horas luego del tratamiento el promedio de ninfas paridas no difirió significativamente del control para ambos aceites (DMS,  $p \geq 0,05$ ). A partir del segundo día de realizarse la pulverización hasta el séptimo día de evaluación los aceites esenciales se diferenciaron significativamente del control (DMS,  $p < 0,05$ ), produciéndose una disminución en el porcentaje de ninfas nacidas que osciló entre el 30 y el 60% para *E. globulus* y entre el 30 al 41% para *M. x piperita* para cada fecha evaluada (Figura 3.11.).

**Fig. 3.11.** Promedio de ninfas paridas por día de *A. pisum* en plantas de *M. sativa* tratadas con los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita*.

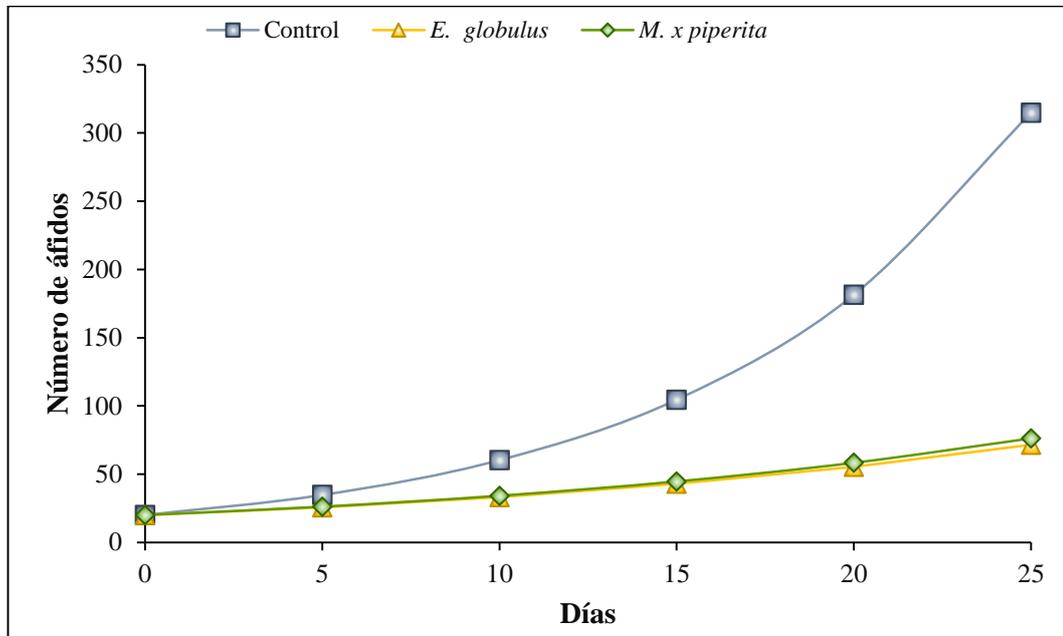


**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra dentro de cada día no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En la Figura 3.12. se observa la curva teórica de crecimiento del áfido *A. pisum*. Partiendo de una población inicial de 20 hembras adultas es posible inferir que al cabo de 25 días la población de *A. pisum* creciendo en plantas tratadas con *E. globulus* será de 71 individuos, mientras que la población creciendo en plantas

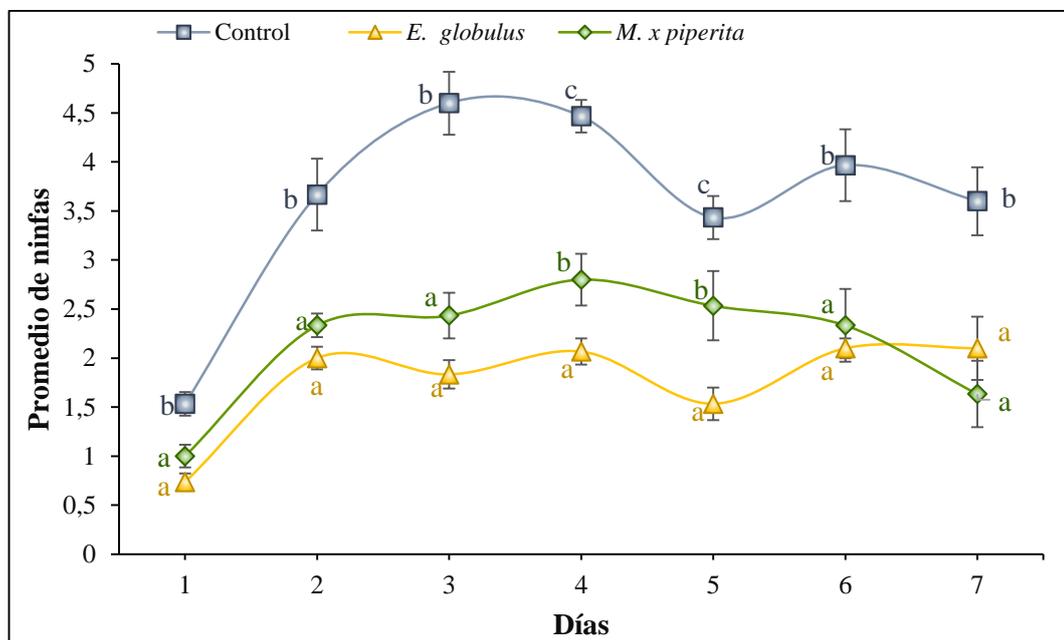
pulverizadas con *M. x piperita* será de 76 individuos. En el control la población llegaría a 315 hembras en el mismo lapso.

**Fig. 3.12.** Curva teórica de crecimiento poblacional de *A. pisum* en plantas de *M. sativa* tratadas con los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita*.



El porcentaje de parición del áfido *A. craccivora* disminuyó entre un 42 y un 60% en las plantas tratadas con el aceite esencial de *E. globulus*. Para las plantas pulverizadas con *M. x piperita* el porcentaje de disminución de la parición para cada fecha osciló entre el 26 y el 55 % (Figura 3.13.). Durante todo el ensayo el número de ninfas paridas en plantas tratadas con los aceites esenciales se diferenció significativamente del control (DMS,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.13.).

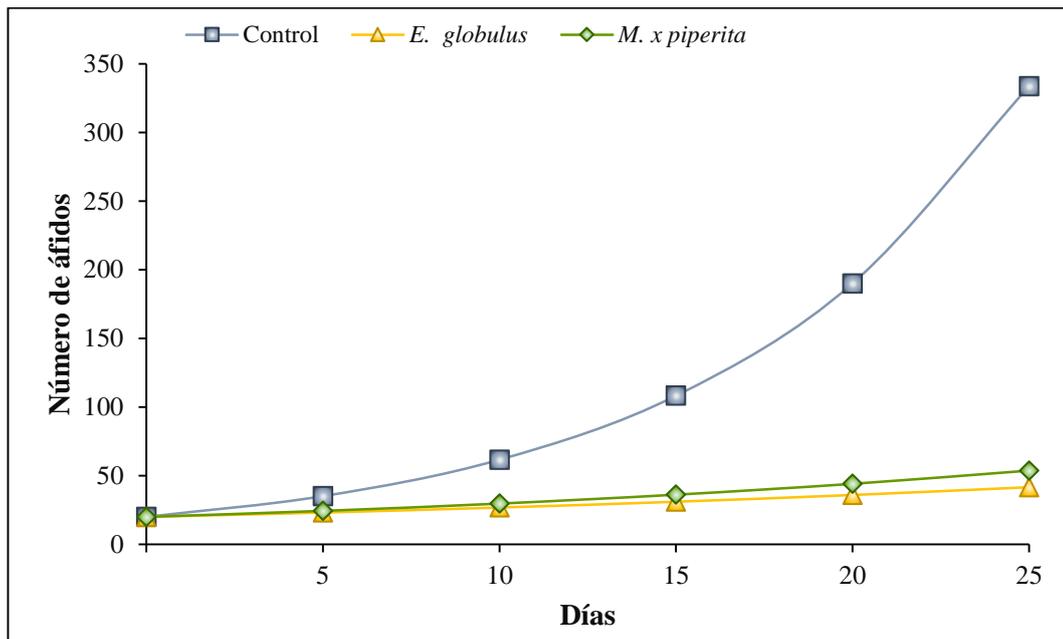
**Fig. 3.13.** Promedio de ninfas paridas por día de *A. craccivora* en plantas de *M. sativa* tratadas con los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita*.



**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra dentro de cada día no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

De acuerdo a la curva teórica de crecimiento del áfido *A. craccivora* es posible inferir que se encontrarán 41 individuos en las plantas tratadas con *E. globulus* y 54 individuos en las plantas tratadas con *M. x piperita*. En las plantas no tratadas la población llegaría a 333 individuos (Figura 3.14.).

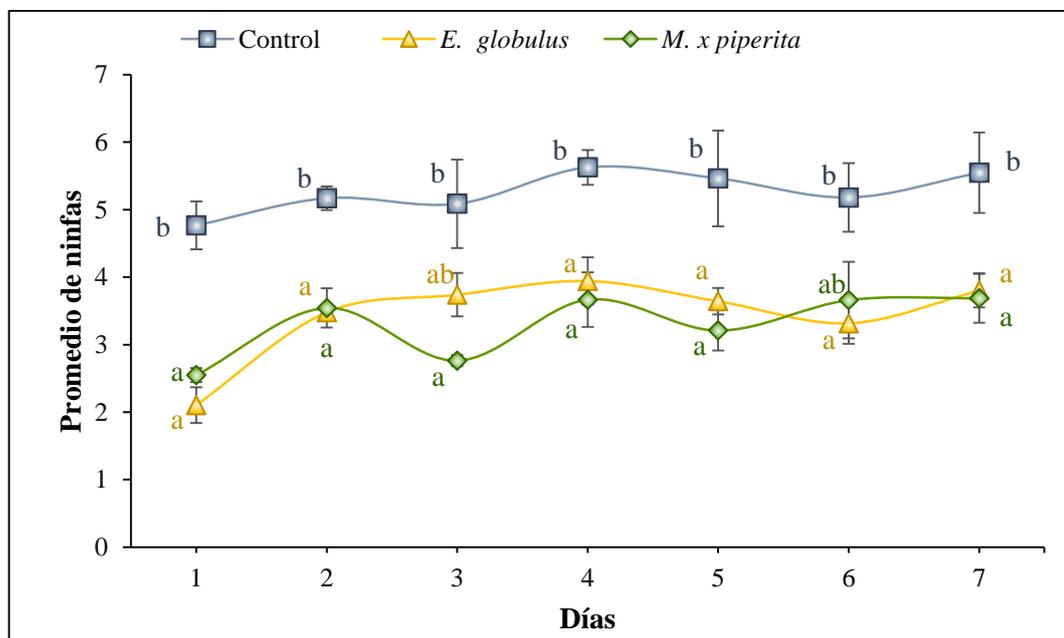
**Fig. 3.14.** Curva teórica de crecimiento poblacional de *A. craccivora* en plantas de *M. sativa* tratadas con los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita*.



Al utilizar el aceite esencial de *E. globulus* se observó que el promedio de ninfas paridas por *T. trifolii* disminuyó entre un 26 y un 56% con respecto al control. Al tratar las plantas con el aceite esencial de *M. x piperita* se observó una disminución de entre el 31 al 46 % (Figura 3.15.).

Para los días 1, 2, 4, 5, y 7 el número de ninfas paridas en las plantas tratadas difirieron significativamente del control (DMS,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.15.).

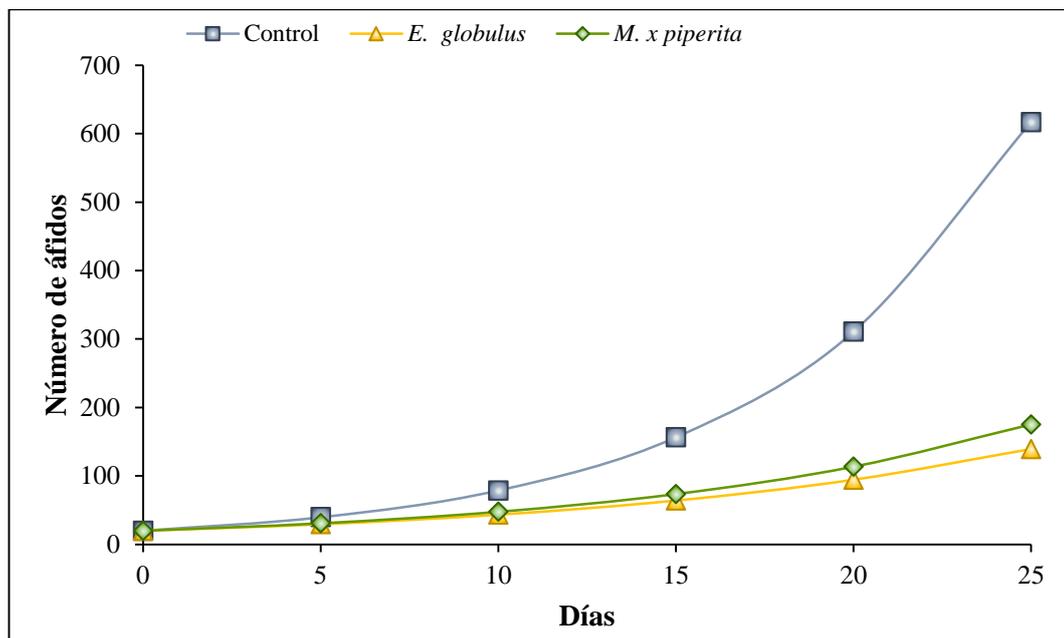
**Fig. 3.15.** Promedio de ninfas paridas por día de *T. trifolii* en plantas de *M. sativa* tratadas con los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita*.



**Referencias:** Valores seguidos por la misma letra dentro de cada día no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

En la Figura 3.16. se observa la curva teórica de crecimiento del áfido *T. trifolii*. Después de 25 días es posible inferir que la población de *T. trifolii* creciendo en plantas tratadas con *E. globulus* sería de 139 áfidos, mientras que la población del áfido creciendo en plantas pulverizadas con *M. x piperita* sería de 175 individuos. En las plantas del control se esperaría una población de 617 individuos.

**Fig. 3.16.** Curva teórica de crecimiento poblacional de *T. trifolii* en plantas de *M. sativa* tratadas con los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita*.



### 3.2.6.4. – Repelencia

La actividad repelente de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* frente al áfido *A. pisum* se presenta en la Tabla 3.9. Durante las primeras 24 horas de ensayo ambos aceites esenciales produjeron una elevada repelencia, hallándose diferencias significativas entre todas las concentraciones evaluadas y el control (DMS,  $p < 0,05$ ). A la mayor concentración utilizada, los IRs producidos por los aceites de *E. globulus* y de *M. x piperita* fueron de 0,86 y de 0,90, respectivamente.

A las 48 horas se observó para el aceite esencial de *E. globulus* una disminución en la repelencia a la menor concentración, no hallándose diferencias significativas con el control (DMS,  $p \geq 0,05$ ). El aceite esencial de *M. x piperita* fue repelente a todas las concentraciones evaluadas. A la menor concentración el IR de este aceite esencial (0,63) se diferenció del control (DMS,  $p < 0,05$ ) (Tabla 3.9.).

**Tabla 3.9.** Actividad repelente de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *A. pisum*.

Tratamiento	Concentración (% p v <sup>-1</sup> )	I.R. ± E.S. 24 horas	I.R. ± E.S. 48 horas
<i>E. globulus</i>	7,00	0,866 ± 0,033 c	0,933 ± 0,033 e
	3,50	0,733 ± 0,033 b	0,733 ± 0,033 cd
	1,75	0,633 ± 0,033 b	0,566 ± 0,033 ab
<i>M. x piperita</i>	7,00	0,9 ± 0,057 c	0,9 ± 0,057 e
	3,50	0,733 ± 0,033 b	0,833 ± 0,033 de
	1,75	0,633 ± 0,033 b	0,633 ± 0,088 bc
Control	0,00	0,466 ± 0,033 a	0,466 ± 0,033 a

**Referencias:** I.R. Índice de repelencia; E.S. Error Estándar. Valores seguidos por las mismas letras dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Al evaluar los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* frente al áfido *A. craccivora* se observó que tanto a las 24 como a las 48 horas estos aceites esenciales a las mayores concentraciones generaron un elevado efecto repelente (DMS,  $p < 0,05$ ) (Tabla 3.10.). A la menor concentración solo el aceite esencial de *E. globulus* produjo repelencia en el áfido *A. craccivora* (Tabla 3.10.).

**Tabla 3.10.** Actividad repelente de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *A. craccivora*.

Tratamiento	Concentración (% p v <sup>-1</sup> )	I.R. ± E.S. 24 horas	I.R. ± E.S. 48 horas
<i>E. globulus</i>	7,00	0,966 ± 0,033 d	0,833 ± 0,033 c
	3,50	0,9 ± 0,057 d	0,833 ± 0,088 c
	1,75	0,666 ± 0,033 c	0,666 ± 0,033 b
<i>M. x piperita</i>	7,00	0,966 ± 0,033 d	0,933 ± 0,066 c
	3,50	0,633 ± 0,033 bc	0,666 ± 0,033 b
	1,75	0,533 ± 0,176 ab	0,533 ± 0,033 ab
Control	0,00	0,466 ± 0,033 a	0,466 ± 0,033 a

**Referencias:** I.R. Índice de repelencia; E.S. Error Estándar. Valores seguidos por las mismas letras dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* produjeron repelencia frente al áfido *T. trifolii* a todas las concentraciones evaluadas. Este efecto dependió de la concentración tanto a las 24 horas como a las 48 horas (Tabla 3.11.).

**Tabla 3.11.** Actividad repelente de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre *T. trifolii*.

Tratamientos	Concentración (% p v <sup>-1</sup> )	I.R. ± E.S. 24 horas	I.R. ± E.S. 48 horas
<i>E. globulus</i>	7,00	0,866 ± 0,033 de	0,933 ± 0,033 d
	3,50	0,666 ± 0,033 bc	0,733 ± 0,033 bc
	1,75	0,633 ± 0,033 b	0,633 ± 0,033 b
<i>M. x piperita</i>	7,00	0,9 ± 0,057 e	0,966 ± 0,033 d
	3,50	0,766 ± 0,033 cd	0,766 ± 0,066 c
	1,75	0,7 ± 0,057 bc	0,666 ± 0,066 bc
Control	0,00	0,433 ± 0,033 a	0,433 ± 0,033 a

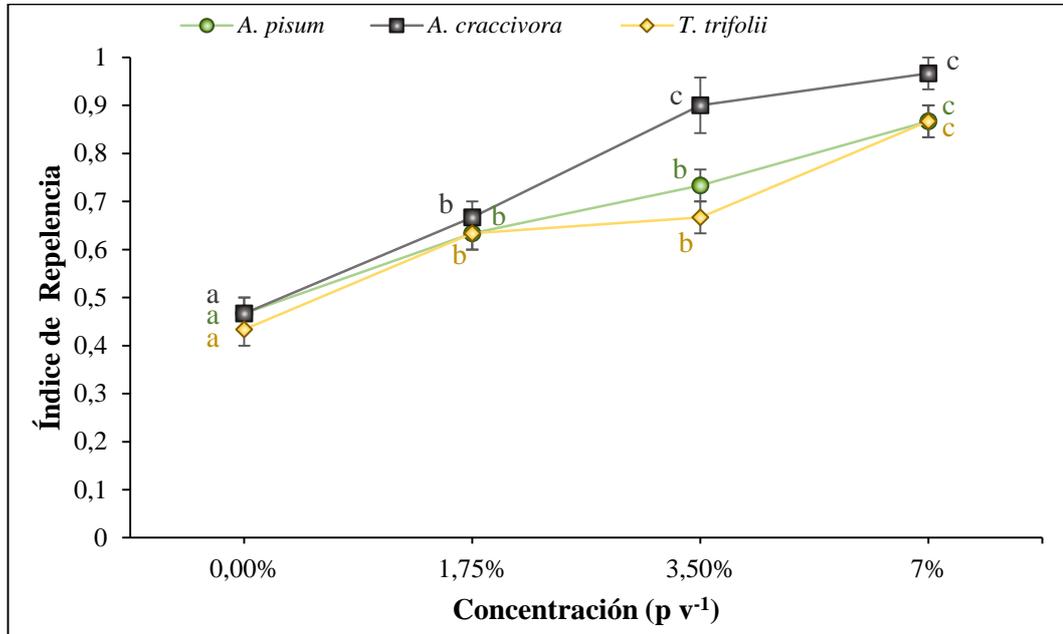
**Referencias:** I.R. Índice de repelencia; E.S. Error Estándar. Valores seguidos por las mismas letras dentro de cada columna no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Dado que en lotes de producción de *M. sativa* es frecuente observar la presencia conjunta de estos áfidos resultó de interés evaluar si existían diferencias entre las distintas especies de áfidos frente a los aceites esenciales de *E. globulus* y *M. x piperita*.

En la Figura 3.17. se compara el efecto repelente del aceite esencial de *E. globulus* sobre las tres especies de áfidos durante las primeras 24 horas. Este aceite resultó repelente a todas las concentraciones evaluadas para las tres especies de áfidos, hallándose diferencias significativas con el control (DMS,  $p < 0,05$ ). El aceite esencial de *E. globulus* a la concentración del 3,5% (p v<sup>-1</sup>) resultó ser

estadísticamente más repelente para *A. craccivora* que para el resto de los áfidos (DMS,  $p < 0,05$ ).

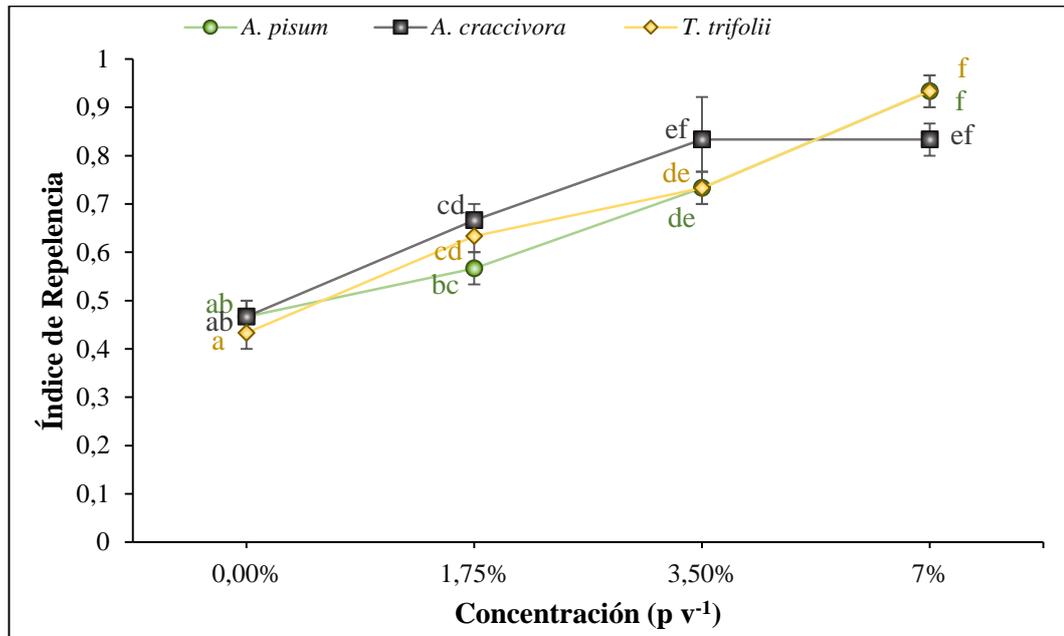
**Fig. 3.17.** Actividad repelente del aceite esencial de *E. globulus* durante las primeras 24 horas.



**Referencias:** Valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

A las 48 horas el aceite esencial de *E. globulus* generó un efecto repelente similar para las tres especies de áfidos a todas las concentraciones evaluadas (DMS,  $p \geq 0,05$ ) (Figura 3.18.).

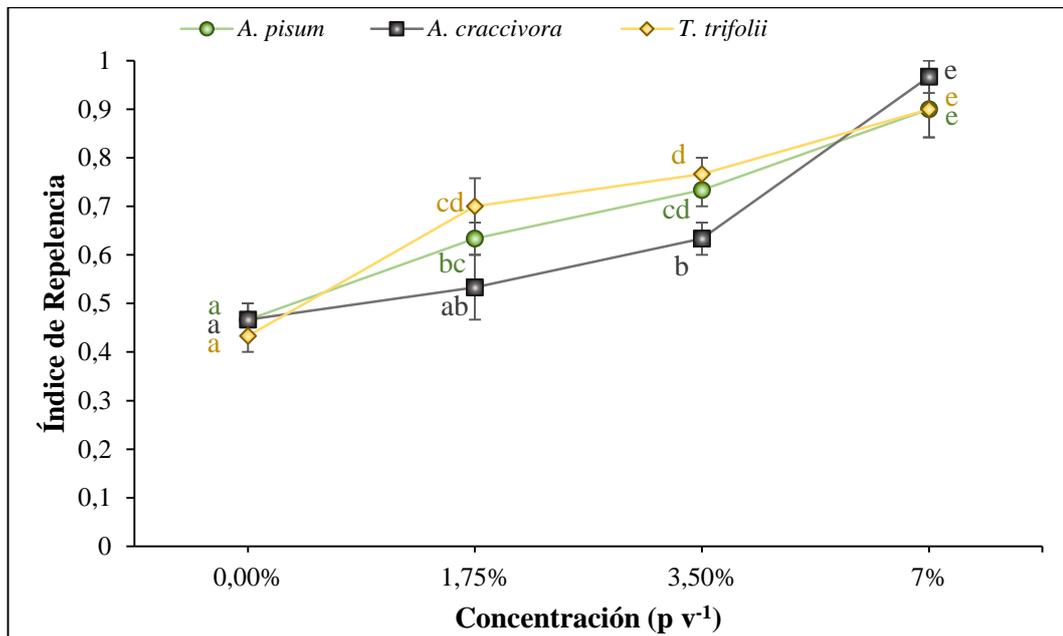
**Fig. 3.18.** Actividad repelente del aceite esencial de *E. globulus* a las 48 horas.



**Referencias:** Valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

Durante las primeras 24 horas el aceite esencial de *M. x piperita* a la máxima concentración generó una repelencia similar en las tres especies de áfidos (DMS,  $p \geq 0,05$ ). A las menores concentraciones evaluadas este aceite resultó más repelente para el áfido *T. trifolii* que para el áfido *A. craccivora* (DMS,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.19.).

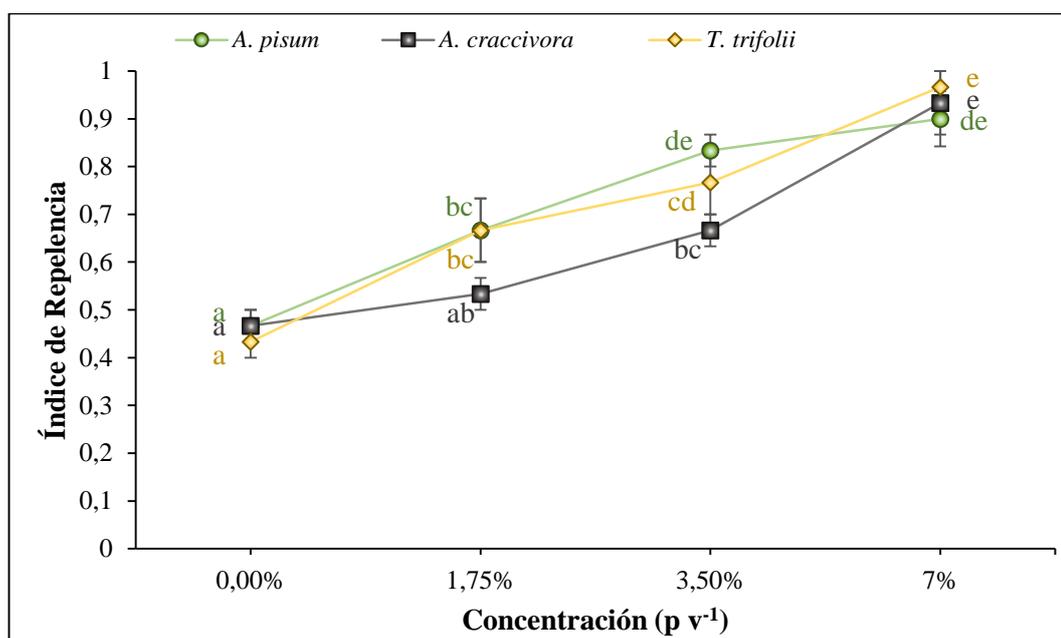
**Fig. 3.19.** Actividad repelente del aceite esencial de *M. x piperita* durante las primeras 24 horas.



**Referencias:** Valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

A las 48 horas, el aceite esencial de *M. x piperita* generó un efecto repelente similar para las tres especies de áfidos, tanto a la mayor como a la menor concentración (DMS,  $p \geq 0,05$ ) (Figura 3.20.). El aceite esencial a la concentración del 3,5% ( $p v^{-1}$ ) resultó más repelente para el áfido *A. pisum* que para el áfido *A. craccivora* (DMS,  $p < 0,05$ ) (Figura 3.20.).

**Fig. 3.20.** Actividad repelente del aceite esencial de *M. x piperita* a las 48 horas.



**Referencias:** Valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente (DMS,  $p \geq 0,05$ ).

### 3.2.7. – Discusión

Los aceites esenciales afectan a los insectos y otros artrópodos de diversas maneras dependiendo del tipo de planta de la cual se extraen y de las características fisiológicas de las especies plagas (Hikal *et al.*, 2017).

Los metabolitos secundarios de los aceites esenciales según su actividad biológica pueden clasificarse en seis grupos: tóxicos, quimioesterilizantes, repelentes, atrayentes, antialimentarios e inhibidores del desarrollo (Trivedi *et al.*, 2018).

La actividad insecticida de los aceites esenciales se basa en las concentraciones de los componentes mayoritarios que pertenecen a la clase de los terpenos, fenoles y alcaloides (Moghaddam & Mehdizadeh, 2017).

En nuestro trabajo las actividades insecticidas de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* variaron de acuerdo a los tiempos de evaluación y al tipo de bioensayo utilizado para registrar la mortalidad de los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii*.

Los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* produjeron mortalidad tanto por inmersión como por contacto. Similares resultados fueron obtenidos por otros autores al utilizar aceites esenciales de diferentes plantas sobre los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii* (Kassimi & El Watik, 2012; Kassimi *et al.*, 2016).

Cuando los insectos fueron sumergidos en los aceites esenciales las sustancias tóxicas entraron en contacto con la cutícula y difundieron a través de ella en forma vertical y horizontal. De esta manera una fracción de cada sustancia cruza el tegumento, alcanza la hemolinfa y es distribuida por el organismo. Otra fracción alcanza el sistema traqueal y viaja por la cutícula hasta alcanzar el tejido blanco. En este tipo de exposición la lipofilicidad de las sustancias es un factor importante en la determinación de la toxicidad (Yazdgerdian *et al.*, 2015; Hikal *et al.*, 2017; Rizvi *et al.*, 2018).

En nuestros ensayos tanto a la hora, como a las seis y a las 24 horas el aceite esencial de *M. x piperita* fue el más efectivo para el control del áfido *T. trifolii*. Esto podría deberse a la presencia de distintos metabolitos secundarios con una alta lipofilicidad o a diferencias en la concentración de estos metabolitos (Murray *et al.*, 2005).

En el ensayo de toxicidad por contacto los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* produjeron menos toxicidad para el áfido *A. craccivora*. Este áfido fue más resistente que los áfidos *A. pisum* y *T. trifolii*. Esta diferencia en la sensibilidad entre los áfidos a los aceites esenciales podría ser el resultado de las diferentes adaptaciones a la herbivoría (Digilio *et al.*, 2008). El áfido *A. craccivora* presenta un amplio rango de huéspedes y está asociado con la habilidad de superar diferentes tipos de defensas en las plantas (Blackman & Eastop, 2007). De hecho, los aceites esenciales al igual que otros metabolitos secundarios de las plantas se supone que son sintetizados fundamentalmente como defensivos químicos contra las plagas (Pavela & Benelli, 2016). Se ha demostrado que los insectos fitófagos generalistas poseen una mayor actividad del citocromo P450 detoxificando más eficientemente las toxinas de las plantas (Yu 1987; Bass *et al.*, 2013; Peng *et al.*, 2017).

Cabe destacar que la CL<sub>50</sub> hallada tanto para los ensayos de inmersión como para los ensayos de toxicidad por contacto fueron menores que las informadas para el aceite esencial de *M. x piperita* sobre el áfido *Lipaphis pseudobrassicae* (CL<sub>50</sub>: 8,8 mg ml<sup>-1</sup>) (Sampson *et al.*, 2005) y para el aceite de *M. microphylla* por inmersión sobre el áfido *A. craccivora* (CL<sub>50</sub>: 0,50 mg ml<sup>-1</sup>) (Farghaly *et al.*, 2009)

Algunos estudios han reportado los efectos subletales de los aceites esenciales y de sus componentes sobre la biología de los insectos. La exposición a concentraciones subletales puede causar cambios en los parámetros comportamentales. Algunos aceites esenciales que actúan sobre el sistema endocrino pueden también influir en el comportamiento reproductivo (de França *et al.*, 2017). Los áfidos se alimentan pasivamente de savia floemática, pero ante

condiciones de estrés como cambios en la calidad del alimento, la presencia de metabolitos secundarios o cambios endocrinos relacionados con el sistema reproductivo comienzan a ingerir savia xilemática a fin de reestablecer el balance hídrico (Spiller *et al.*, 1990; Powell & Hardie, 2002; Daniels *et al.*, 2009). En este contexto la reproducción se vería afectada de manera negativa. En nuestro trabajo se observó una disminución en la fecundidad diaria de los áfidos expuestos a los aceites esenciales. Según Dixon (1977) la fecundidad depende en gran medida de la calidad del alimento. En este estudio la aplicación de aceites esenciales en las plantas de *M. sativa* podría ocasionar un cambio en la calidad del alimento en detrimento de la reproducción. Una disminución en la fecundidad fue observada por Tomova *et al.* (2005) al evaluar los aceites esenciales de *Tagetes minuta* en *A. pisum* y por Ofuya & Okuku (1994) al evaluar extractos acetónicos de *Zingiber officinalis* y *Aframomum melegueta* en *A. craccivora*.

Un repelente ha sido definido como cualquier estímulo que genera un cambio en el comportamiento, provocando una reacción de escape o evitación de la fuente que lo produce (White, 2006).

Estudios realizados en laboratorio y corroborados a nivel de campo han demostrado que los aceites esenciales y sus metabolitos poseen el potencial de actuar simultáneamente repeliendo los insectos plaga y atrayendo a los enemigos naturales (Alhmedi *et al.*, 2010; Heuskin *et al.*, 2012). Los primeros resultados de esta táctica de manejo dentro del MIP fueron observados en Australia en cultivos de algodón para protegerlos del ataque de *Helicoverpa* sp. Esta estrategia más extensamente abordada consiste en repeler el insecto plaga “push” y atraer hacia

otra zona o trampa para facilitar el control “pull” (Cook *et al.*, 2007; Khan & Pickett, 2008).

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* produjeron repelencia en adultos de *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii*. Estos aceites poseen metabolitos que podrían provocar un enmascaramiento de los compuestos volátiles de atracción de las plantas hospederas tornando a las mismas repelentes para los áfidos (Hori, & Komatsu, 1997; Cook *et al.*, 2007; Khan & Pickett, 2008). Varios autores han observado que el aceite esencial de plantas de los géneros *Eucalyptus* y *Mentha* generaron repelencia en diferentes especies de áfidos plaga (Hori, 1999; Hosseini *et al.*, 2013; Teixeira *et al.*, 2014; Oulebsir-Mohandkaci *et al.*, 2015).

Por otro lado, se observó que la actividad repelente de ambos aceites disminuyó con el tiempo de exposición. Esto podría deberse al bajo peso molecular y/o a la gran volatilidad de los compuestos presentes en los aceites esenciales evaluados (Trongtokit *et al.*, 2005; Shaaya & Rafaeli, 2007).

La actividad insecticida, los efectos sobre la reproducción y la actividad repelente de los aceites de *E. globulus* y de *M. x piperita* se evaluaron en adultos de *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii*. En base a los resultados obtenidos y a las hipótesis planteadas en el punto 3.2.3. podemos inferir que:

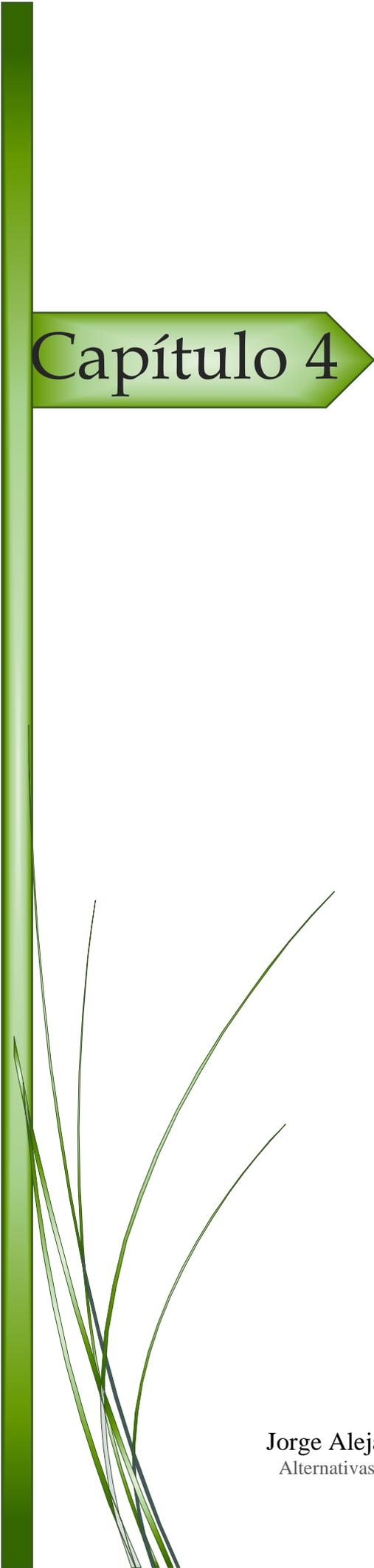
La primera hipótesis se acepta totalmente, dado que los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* generaron toxicidad por inmersión y por contacto.

La segunda hipótesis se acepta parcialmente dado que:

- ✱ Durante el primer día el promedio de ninfas paridas por *A. pisum* en las plantas tratadas con aceites esenciales fue similar al promedio de ninfas paridas en el control.
- ✱ Durante el tercer día el promedio de ninfas paridas por *T. trifolii* en plantas tratadas con *E. globulus* fue similar al promedio de ninfas paridas en el control.
- ✱ Durante el sexto día el promedio de ninfas paridas por *T. trifolii* en plantas tratadas con *M. x piperita* fue similar al promedio de ninfas paridas en el control.

La tercera hipótesis se acepta parcialmente dado que:

- ✱ El aceite esencial de *E. globulus* a las 48 horas de ensayo y a la menor concentración no mostró efecto repelente para el áfido *A. pisum*.
- ✱ El aceite esencial de *M. x piperita* a la menor concentración no mostró efecto repelente para el áfido *A. craccivora* a ambos tiempos de evaluación.



# Capítulo 4

**Jorge Alejandro Jose Bizet Turovsky**

Alternativas de manejo de áfidos limitantes de la producción de  
alfalfa en el Sudoeste bonaerense

## Conclusiones finales y perspectivas

---

El manejo integrado de plagas (MIP) es una práctica a largo plazo basada en estrategias que permitan mantener un sistema agrícola de manera sustentable. Se basa en una combinación de herramientas de control entre las que se incluyen el control biológico, el control cultural, el control genético y el control químico.

El MIP fundamenta parte de su estrategia en el uso de cultivares resistentes y en la aplicación de productos no contaminantes que minimicen los riesgos para la salud humana y ambiental y protejan la fauna benéfica.

En términos agronómicos, podríamos definir resistencia varietal como la habilidad inherente de un cultivar para restringir, retardar o para sobreponerse a un organismo plaga. Desde el punto de vista productivo, el uso de cultivares resistentes representa una de las herramientas más simples y sustentables contra la herbivoría.

En esta tesis se evaluó la resistencia por antixenosis y antibiosis en cultivares de *M. sativa* a los áfidos *A. pisum*, *A. craccivora* y *T. trifolii*. Ambos mecanismos, antibiosis y antixenosis, están en íntima relación e implican una respuesta conjunta entre la planta y el herbívoro. En la naturaleza, estas formas de resistencia no deben ser consideradas en sentido estricto, ya que la antixenosis afecta la dinámica poblacional de los áfidos en muchos aspectos que son paralelos a la antibiosis.

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que el cultivar CW 194 fue antixenótico para el áfido *A. pisum*, el cultivar ACA 605 para el áfido *A. craccivora* y el cultivar Brava para el áfido *T. trifolii* a ambos tiempos de evaluación. Estos cultivares podrían ser utilizados en zonas productoras de alfalfa

a fin de retrasar la colonización y reducir el número inicial de insectos. Además, los áfidos que son disuadidos de establecerse sobre los cultivares antixenóticos continuarían buscando huéspedes aceptables para la alimentación y en consecuencia quedarían expuestos durante más tiempo a los enemigos naturales.

Los cultivares de *M. sativa* CW 1010, Pampa Flor, Sirosal y Venus resultaron antibióticos para el áfido *A. pisum* y los cultivares CW 194, CW 1010 y EBC 90 para el áfido *A. craccivora*. Estos cultivares afectaron de manera negativa el crecimiento poblacional de ambas especies. Dentro de un manejo integrado de plagas los mismos podrían utilizarse en áreas productoras de *M. sativa* a fin de reducir las potenciales infestaciones que producirían una disminución en la disponibilidad de forraje.

La tolerancia a la herbivoría está dada por la capacidad genética inherente a la planta que le permite superar el ataque del artrópodo y no por la interacción insecto-planta. En este trabajo se observó que el cultivar Carmina fue altamente tolerante al ataque del áfido *A. pisum*. Ante la presencia de *A. craccivora* los cultivares altamente tolerantes fueron SPS 6550, CW 194 y CW 830. Estos dos últimos cultivares también resultaron altamente tolerantes para el áfido *T. trifolii*. El empleo de estos cultivares tolerantes contribuiría a evitar pérdidas en materia seca debido a la herbivoría y a disminuir la aplicación de insecticidas sintéticos en áreas con altas infestaciones de estos áfidos.

En un sistema productivo, el uso de cultivares de *M. sativa* resistentes implicaría una menor presencia de áfidos. Sin embargo, dado la gran variabilidad dentro de las poblaciones de estas especies, la adaptación a distintas hospederas y la aparición de nuevos biotipos, los áfidos plaga llegan ocasionalmente al nivel de daño

económico. En estas instancias, el empleo de aceites esenciales es otro de los eslabones a considerar dentro del MIP.

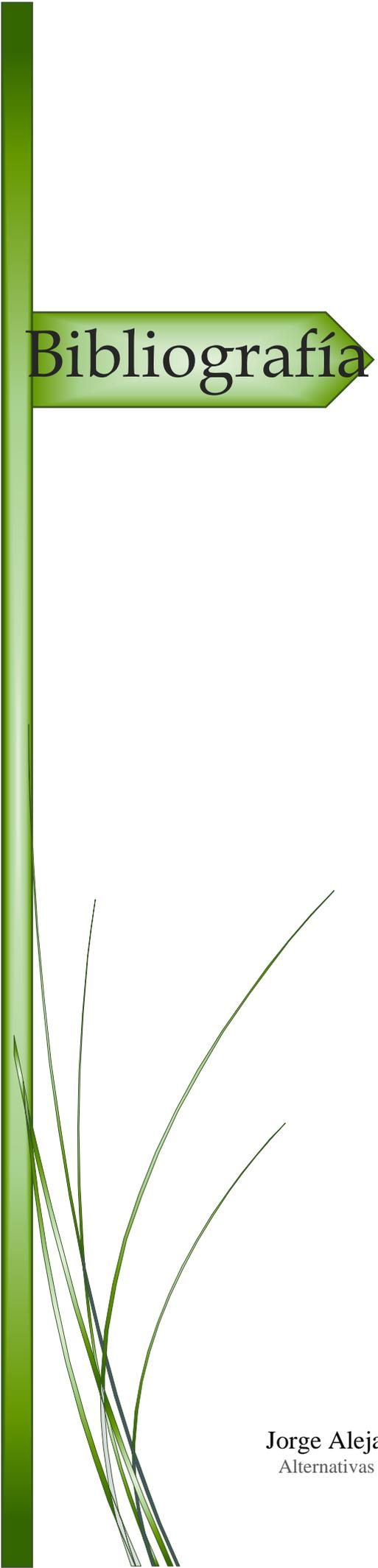
A fin de determinar la bioactividad de los aceites esenciales de *E. globulus* y de *M. x piperita* sobre los áfidos plaga en un cultivo de *M. sativa* en esta tesis se evaluó la actividad insecticida, los efectos sobre la reproducción y la repelencia.

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que ambos aceites esenciales presentaron toxicidad por inmersión y toxicidad por contacto en las tres especies de áfidos. En los ensayos de inmersión la especie *A. craccivora* fue más susceptible y en los ensayos de pulverizado de planta la especie más susceptible fue *T. trifolii*. Además, los aceites esenciales generaron una disminución de la progenie de los áfidos criados sobre plantas de *M. sativa* tratadas. Estos aceites podrían ser utilizados en un ecosistema agrícola como una herramienta sustentable y no contaminante.

Los aceites esenciales aplicados a las concentraciones de 7 y 3,5% ( $\text{p v}^{-1}$ ) generaron un amplio efecto repelente sobre los áfidos tanto a las 24 como a las 48 horas de evaluación. Estos aceites podrían ser utilizados para enmascarar los compuestos volátiles de atracción de las plantas hospederas tornado a las mismas repelentes.

A nivel de campo, el control de áfidos se realiza por medio del uso de insecticidas sintéticos. Actualmente, el conocimiento de los daños ocasionados por estos productos químicos incentiva el uso de cultivares resistentes y de productos naturales como herramientas alternativas de control.

En consecuencia, el presente trabajo constituye un aporte interesante a estas líneas de investigación que permiten integrar técnicas dentro del manejo de estas plagas.



# Bibliografía

**Jorge Alejandro Jose Bizet Turovsky**

Alternativas de manejo de áfidos limitantes de la producción de  
alfalfa en el Sudoeste bonaerense

## Bibliografía

---

1. **Aapola, A. A.; Knesek, J. E. & Mink, G. I. 1974.** The influence of inoculation procedure on the host range of pea seed-borne mosaic virus. *Phytopathology*, 64: 1003-1006.
2. **Abbasipour, H.; Seyedi, A. & Mahmoudvand, M. 2011.** Fumigant toxicity of three plant essential oils against adults of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae). *IOBC/wprs Bulletin*, 69: 257-261.
3. **Abivardi, C. 2001.** Iranian Entomology. An Introduction. Volume 1: Faunal Studies. Volume 2: Applied Entomology. Springer Science + Business Media, B.V. Zürich, Switzerland. 1033 pp.
4. **Agrell, J.; Oleszek, W.; Stochmal, A.; Olsen, M. & Anderson, P. 2003.** Herbivore-induced responses in alfalfa (*Medicago sativa*). *Journal of Chemical Ecology*, 29(2): 303-320.
5. **Aguilera, A. & Ortega, F. K. 1994.** Determinación de *Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach) (Homoptera: Aphididae) en leguminosas forrajeras para la IX región de Chile. *Agricultura Técnica*, 54(1): 65-67.
6. **Aguiar-Menezes, E. D. L. 2005.** Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Embrapa Agrobiologia. 58 pp.
7. **Åhman, I.; Tuveesson, S. & Johansson, M. 2000.** Does indole alkaloid gramine confer resistance in barley to aphid *Rhopalosiphum padi*? *Journal of Chemical Ecology*, 26(1): 233-255.
8. **Ahmed, A. H. & El-Sadig, E. O. 1985.** Association of *Aphis craccivora* with the spread of peanut stunt virus in alfalfa fields in the Sudan. *FAO Plant Protection Bulletin*, 33(2): 57-59.
9. **Ahmed, M. E. & El-Salam, A. 2010.** Fumigant toxicity of seven essential oils against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) and the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 2(1): 1-6.
10. **Ahmed, N.; Chamila Darshanee, H. L.; Fu, W. Y.; Hu, X. S.; Fan, Y. & Liu, T. X. 2018.** Resistance of Seven Cabbage Cultivars to Green Peach Aphid (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 111(2): 909-916.
11. **Akhtar, Y.; Pages, E.; Stevens, A.; Bradbury, R.; da Camara, C. A. G. & Isman, M. B. 2012.** Effect of chemical complexity of essential oils on feeding deterrence in larvae of the cabbage looper. *Physiological Entomology*, 37(1): 81-91.

12. **Al-Antary, T. M.; Belghasem, I. H. & Alaraj, S. A. 2017.** Effect of mint oil against the green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae) using four solvents. *Advances in Environmental Biology*, 11(1): 61-68.
13. **Al-Shahwan, I. M.; Farooq, T.; Al-Saleh, M. A.; Abdalla, O. A. & Amer, M. A. 2016.** First report of red clover vein mosaic virus infecting alfalfa in Saudi Arabia. *Plant Disease*, 100(2): 539-539.
14. **Al-Solami, H. M.; Al-Ghamdi, K. M.; Mangoud, A. A. H. & Mahyoub, J. A. 2016.** Biological control of *Brevicoryne brassicae* by release of *Coccinella septempunctata* on alfalfa plant, *Medicago sativa*. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 9(2): 171-178.
15. **Alege, G. O.; Abu Ngozi, E. & Sunday, C. E. 2014.** Seed protein electrophoresis of some members of the family Fabaceae. *African Journal of Biotechnology*, 13(36): 3730-3735.
16. **Alhmedi, A.; Haubruge, E. & Francis, F. 2010.** Identification of limonene as a potential kairomone of the harlequin ladybird *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, 107: 541-548.
17. **Alsuhaibani, A. M. 1996.** Entomofauna of alfalfa in Riyadh, Saudi Arabia. *Journal of the King Saud University, Agricultural Sciences*, 8(2): 269-277.
18. **Alston, F. H. & Briggs, J. B. 1970.** Inheritance of hypersensitivity to rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* in apple. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 12(2): 257-258.
19. **Andorno, A. V.; López, S. N. & Botto, E. N. 2007.** Asociaciones áfido-parasitoide (Hemiptera: Aphididae; Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) en cultivos hortícolas orgánicos en Los Cardales, Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 66(1-2): 171-175.
20. **Aragón, J. R. & Imwinkelried, J. M. 1995.** Plagas de la alfalfa. En: Hijano, E. H. & Navarro, A. *La Alfalfa en la Argentina*. INTA, Subprograma Alfalfa. Enciclopedia Agro de Cuyo, Manual N° 11. San Juan, Argentina. Cap. 5: 81-106.
21. **Aragón, J. R. & Imwinkelried, J. M. 2007.** Manejo integrado de plagas de la alfalfa. En: Basigalup, D. H. *El cultivo de la alfalfa en Argentina*. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 9: 165-197.
22. **Arango Mejía, M. C. 2006.** Plantas Medicinales: botánica de interés médico. Medicina indígena colombiana según los cronistas y los viajeros. Artes Gráficas Tizán, Manizales, Colombia, 437 pp.
23. **Argandoña, V. H.; Zuñiga, G. E. & Corcuera, L. J. 1987.** Distribution of gramine and hydroxamic acids in barley and wheat leaves. *Phytochemistry*, 26(7): 1917-1918.
24. **Armendano, A. & González, A. 2010.** Comunidad de arañas (Arachnida, Araneae) del cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en Buenos Aires, Argentina. *Revista de Biología Tropical*, 58(2): 757-767.

25. **Armendano, A. & González, A. 2011.** Efecto de las arañas (Arachnida: Araneae) como depredadoras de insectos plaga en cultivos de alfalfa (*Medicago sativa*) (Fabaceae) en Argentina. *Revista de Biología Tropical*, 59(4): 1651-1662.
26. **Armstrong, J. M. 1954.** Cytological studies in alfalfa polyploids. *Canadian Journal of Botany*, 32(4): 531-542.
27. **Aroiee, H.; Mossapoor, S. & Karimzadeh, H. 2005.** Control of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) by thyme and peppermint. *King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Science and Technology Journal*, 5(2): 511-514.
28. **Avalos, S.; Mazzuferi, V.; Fichetti, P.; Berta, C. & Carreras, J. 2010.** Entomofauna asociada a garbanzo en el noroeste de Córdoba (Argentina). *Horticultura Argentina*, 29(70): 5-11.
29. **Awmack, C. S. & Leather, S. R. 2002.** Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 47(1): 817-844.
30. **Azcón-Bieto, J. & Talón, M. 2013.** *Fundamentos de Fisiología Vegetal 2<sup>nd</sup> Ed.* McGraw-Hill Interamericana & Universidad de Barcelona. Madrid, España, 651 pp.
31. **Aznar Fernández, T. & Rubiales, D. 2018.** Identification and characterization of antixenosis and antibiosis to pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) in *Pisum* spp. germplasm. *Annals of Applied Biology*, 172(3): 268-281.
32. **Bananej, K.; Hajimorad, M. R.; Roossinck, M. J. & Shahraeen, N. 1998.** Identification and characterization of peanut stunt cucumovirus from naturally infected alfalfa in Iran. *Plant pathology*, 47(3): 355-361.
33. **Barnes, D. K.; Bingham, E. T.; Axtell, J. D. & Davis, W. H. 1972.** The flower, sterility mechanisms, and pollination control. En: Hanson, C. H. *Alfalfa Science and Technology. Agronomy Monograph N° 15.* Ed. American Society of Agronomy. Madison, USA. Cap. 6: 123-141.
34. **Bartley, G. E. & Scolnik, P. A. 1995.** Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *The Plant Cell*, 7(7): 1027-1038.
35. **Basigalup, D. 2007.** Mejoramiento genético y desarrollo de variedades. En: Basigalup, D. H. *El cultivo de la alfalfa en Argentina.* Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 5: 81-108.
36. **Basigalup, D. H. & Hijano, E. H. 1995.** Mejoramiento genético de la alfalfa. En: Hijano, E. H. & Navarro, A. *La Alfalfa en la Argentina.* INTA, Subprograma Alfalfa. Enciclopedia Agro de Cuyo, Manual N° 11. San Juan, Argentina. Cap. 3: 39-60.
37. **Basigalup, D. H. & Rossanigo, R. 2007.** Panorama actual de la alfalfa en la Argentina. En: Basigalup, D. H. *El cultivo de la alfalfa en Argentina.* Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 1: 13-25.

38. **Bass, C.; Zimmer, C. T.; Riveron, J. M.; Wilding, C. S.; Wondji, C. S.; Kausmann, M.; Field, L. M.; Williamson, M. S. & Nauen, R. 2013.** Gene amplification and microsatellite polymorphism underlie a recent insect host shift. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(48): 19460-19465.
39. **Batish, D. R.; Singh, H. P.; Kohli, R. K. & Kaur, S. 2008.** *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256(12): 2166-2174.
40. **Beck, S. D. 1965.** Resistance of plants to insects. *Annual Review of Entomology*, 10(1): 207-232.
41. **Belefant-Miller, H.; Porter, D. R.; Pierce, M. L. & Mort, A. J. 1994.** An early indicator of resistance in barley to Russian wheat aphid. *Plant Physiology*, 105(4): 1289-1294.
42. **Bello, M. A.; Bruneau, A.; Forest, F. & Hawkins, J. A. 2009.** Elusive relationships within order Fabales: phylogenetic analyses using *matK* and *rbcL* sequence data. *Systematic Botany*, 34(1): 102-114.
43. **Bennett, R. N. & Wallsgrave, R. M. 1994.** Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New phytologist*, 127(4): 617-633.
44. **Berberet, R. C.; McNew, R. W.; Dillwith, J. W. & Caddel, J. L. 1991.** Within-plant patterns of *Therioaphis maculata* on resistant, tolerant, and susceptible alfalfa plants. *Environmental Entomology*, 20(2): 551-555.
45. **Bergman, D. K.; Dillwith, J. W.; Zarrabi, A. A.; Caddel, J. L. & Berberet, R. C. 1991.** Epicuticular lipids of alfalfa relative to its susceptibility to spotted alfalfa aphids (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology*, 20(3): 781-785.
46. **Berlandier, F. A. 1996.** Alkaloid level in narrow-leafed lupin, *Lupinus angustifolius*, influences green peach aphid reproductive performance. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 79(1): 19-24.
47. **Bertolaccini, I.; Núñez – Pérez, E. & Tizado, E. J. 2004.** Plantas hospedadoras alternativas de áfidos plaga de cultivos de leguminosas, sus parasitoides e hiperparasitoides en la provincia de León (España). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, 28(3-4): 33-47.
48. **Bhattacharya, S. 2016.** Cultivation of Essential Oils. En: Preedy, V. R. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier, London, United Kingdom. Cap. 3: 19-29.
49. **Bickoff, E. M.; Kohler, G. O. & Smith, D. 1972.** Chemical Composition of Herbage. En: Hanson, C. H. *Alfalfa Science and Technology*. Agronomy Monograph N° 15. Ed. American Society of Agronomy. Madison, USA. Cap. 12: 247-282.
50. **Birch, L. C. 1948.** The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *The Journal of Animal Ecology*, 17(1): 15-26.

51. **Bishop, A. L. & Holtkamp, R. H. 1982.** The arthropod fauna of lucerne in the Hunter Valley, New South Wales. *General and Applied Entomology. The Journal of the Entomological Society of New South Wales*, 14: 21-32.
52. **Bizet Turovsky, J. A. J.; Sánchez Chopa, C. & Descamps, L. R. 2017** Comportamiento de pulgones en cultivares de alfalfa en la región del sudoeste bonaerense. *AgroUNS* 14(28): 9-11. Disponible en: [https://st02.uns.edu.ar/contenidos/documentos/1\\_AP\\_2707.pdf?v=1533739116](https://st02.uns.edu.ar/contenidos/documentos/1_AP_2707.pdf?v=1533739116)
53. **Blackman, R. L. 2017.** Aphids on the world's plants: an online identification and information guide. Disponible en: <http://www.aphidsonworldsplants.info>
54. **Blackman, R. L. & Eastop, V. F. 2000.** Aphids on the world's crops: an identification and information guide 2<sup>nd</sup> Ed. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, United Kingdom, 476 pp.
55. **Blackman, R. L. & Eastop, V. F. 2006.** Aphids on the world's herbaceous plants and shrubs, 2 volume set. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, United Kingdom, 1439 pp.
56. **Blackman, R. L. & Eastop, V. F. 2007.** Taxonomic Issues. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. Aphids as Crops Pest. Cabi. London, United Kingdom. Cap. 1:1-29.
57. **Blanchard, E. E. 1935.** Aphis miscellanea. Part II. *Physis*, 11: 366-383.
58. **Blanchard, E. E. 1939.** Estudio sistemático de los Afidoideos argentinos. *Physis*, 17(49): 857-1003.
59. **Blanchard, E. E. 1944.** Descripciones y anotaciones de Afidoideos argentinos. *Acta Zoológica Lilloana*, 2(1): 15-62.
60. **Bolton, J. L; Goplen, B.P. & Baenziger, H. 1972.** World Distribution and Historical Developments. En: Hanson, C. H. Alfalfa Science and Technology. Agronomy Monograph N° 15. Ed. American Society of Agronomy. Madison, USA. Cap. 1: 1-34.
61. **Bonnet, C. M. 1745.** Traite d'Insectologie au observations sur les Pucerons. Premiere Partie. Chez Durand, Paris, France, 232 pp.
62. **Bora, K. S. & Sharma, A. 2011.** Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: A review. *Pharmaceutical biology*, 49(2): 211-220.
63. **Bouton, J. H. 1996.** New uses for alfalfa and other "old" forage legumes. En: Janick, J. Progress in new crops. ASHS Press, Alexandria, USA. 251-259.
64. **Britton, N. F. 2003.** Essential mathematical biology. Springer Science & Business Media, USA, 335 pp.
65. **Brooker, M. I. H. 2000.** A new classification of the genus *Eucalyptus* L'Her. (Myrtaceae). *Australian Systematic Botany*, 13(1): 79-148.

66. **Brouwer, C. & Heibloem, M. 1986.** Irrigation water management: irrigation water needs. Training manual, 3. FAO, Rome, Italy. 74pp.
67. **Brundtland, G. H. 1987.** Informe Brundtland: Nuestro futuro común. Documentos Oficiales de la Asamblea General, cuadragésimo segundo período de sesiones, Suplemento N° 25 (A/42/25). Disponible en: <http://economia.mendoza.gov.ar/wp-content/uploads/sites/44/2017/02/N8718470.pdf>
68. **Buchanan, B. B.; Gruissem, W. & Jones, R. L. 2015.** Biochemistry & molecular biology of plants. 2<sup>nd</sup> Ed. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, United Kingdom, 1264 pp.
69. **Búfalo, J.; Rodrigues, T. M.; de Almeida, L. F. R.; dos Santos Tozin, L. R.; Ortiz Mayo Marques, M. & Fernandes Boaro, C. S. 2016.** PEG-induced osmotic stress in *Mentha x piperita* L.: structural features and metabolic responses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105: 174-184.
70. **Bula, R. J. & Massengale, M. A. 1972.** Environmental Physiology. En: Hanson, C. H. Alfalfa Science and Technology. Agronomy Monograph N° 15. Ed. American Society of Agronomy. Madison, USA. Cap. 8: 167-184.
71. **Burton, J. C. 1972.** Nodulation and symbiotic nitrogen fixation. En: Hanson, C. H. Alfalfa Science and Technology. Agronomy Monograph N° 15. Ed. American Society of Agronomy. Madison, USA. Cap.11: 229-246.
72. **Byng, J. W.; Chase, M. W.; Christenhusz, M. J. M.; Fay, M. F.; Judd, W. S.; Mabberley, D. J.; Sennikov, A. N.; Soltis, D. E.; Soltis, P. S. & Stevens, P. F. 2016.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181: 1–20.
73. **Cabrera, H. M.; Muñoz, O.; Zuñiga, G. E.; Corcuera, L. J. & Argandoña, V. H. 1995.** Changes in ferulic acid and lipid content in aphid-infested barley. *Phytochemistry*, 39(5): 1023-1026.
74. **Camarena Gutiérrez, G. 2009.** Señales en la interacción planta insecto. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15(1): 81-85.
75. **Casafe, 2017.** Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. Productos de la A-Z. 17<sup>ma</sup> Ed. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes, 1200 pp.
76. **Cardoza, Y. J.; Wang, S. F.; Reidy-Crofts, J. & Edwards, O. R. 2006.** Phloem alkaloid tolerance allows feeding on resistant *Lupinus angustifolius* by the aphid *Myzus persicae*. *Journal of Chemical Ecology*, 32(9): 1965-1976.
77. **Carson, Rachel. 1962.** Silent Spring. Houghton Mifflin Harcourt, Boston, USA, 416 pp.

78. **Castonguay, Y.; Nadeau, P.; Lechasseur, P. & Chouinard, L. 1995.** Differential accumulation of carbohydrates in alfalfa cultivars of contrasting winterhardiness. *Crop Science*, 35(2): 509-516.
79. **Castro, A. M.; Ramos, S.; Vasicek, A.; Worland, A.; Gimenez, D., Clúa, A. A. & Suarez, E. 2001.** Identification of wheat chromosomes involved with different types of resistance against greenbug (*Schizaphis graminum*, Rond.) and the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Mordvilko). *Euphytica*, 118(3): 321-330.
80. **Chaudhary, C. J. 2012.** Morphological and biochemical basis or resistance against aphid, *Therioaphis maculata* (Buckton) (Aphididae: Homoptera) infesting lucerne, *Medicago sativa* Linnaeus. Thesis of Master of Science in Agricultural Entomology. Department of Agricultural Entomology B. A. College of Agriculture. Anand Agricultural University. 130 pp
81. **Cheli, G.; Armendano, A. & González, A. 2006.** Preferencia alimentaria de arañas *Misumenops pallidus* (Araneae: Thomisidae) sobre potenciales insectos presa de cultivos de alfalfa. *Revista de Biología Tropical*, 54(2): 505-513.
82. **Choi, W. I.; Lee, E. H.; Choi, B. R.; Park, H. M. & Ahn, Y. J. 2003.** Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, 96(5): 1479-1484.
83. **Choi, W. I.; Lee, S. G.; Park, H. M. & Ahn, Y. J. 2004.** Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology*, 97(2): 553-558.
84. **Ciepiela, A. 1989.** Biochemical basis of winter wheat resistance to the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 51(3): 269-275.
85. **Ciepiela, A. P. & Sempruch, C. 1999.** Effect of L-3, 4-dihydroxyphenylalanine, ornithine and  $\gamma$ -aminobutyric acid on winter wheat resistance to grain aphid. *Journal of Applied Entomology*, 123(5): 285-288.
86. **Ciepiela, A. P.; Sempruch, C. & Kaszyński, W. 1994.** Participation of chosen nonprotein amino acids in constitutive resistance of winter triticale to grain aphid. *Polish Agricultural Annual. Series E-Plant Protection*, 24(1/2): 99-104.
87. **Cisneros, J. J. & Godfrey, L. D. 2001.** Midseason pest status of the cotton aphid (Homoptera: Aphididae) in California cotton: Is nitrogen a key factor? *Environmental Entomology*, 30(3): 501-510.
88. **Cockbain, A. J. & Costa, C. L. 1973.** Comparative transmission of bean leaf roll and pea enation mosaic viruses by aphids. *Annals of Applied Biology*, 73(2): 167-176.
89. **Cockbain, A. J. & Gibbs, A. J. 1973.** Host range and overwintering sources of bean leaf roll and pea enation mosaic viruses in England. *Annals of Applied Biology*, 73(2): 177-187.
90. **Cole, R. A. 1984.** Phenolic acids associated with the resistance of lettuce cultivars to the lettuce root aphid. *Annals of Applied Biology*, 105(1): 129-145.

91. **Cole, R. A. 1994a.** Isolation of a chitin-binding lectin, with insecticidal activity in chemically-defined synthetic diets, from two wild brassica species with resistance to cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 72(2): 181-187.
92. **Cole, R. A. 1994b.** Locating a resistance mechanism to the cabbage aphid in two wild *Brassic*as. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 71(1): 23-31.
93. **Cole, R. A. 1997a.** Comparison of feeding behaviour of two Brassica pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated Brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85(2): 135-143.
94. **Cole, R. A. 1997b.** The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85(2): 121-133.
95. **Collino, D.; Dardanelli, J. & De Luca, M. 2007.** Uso del agua y la radiación para producción de forraje. En: Basigalup, D. H. El cultivo de la alfalfa en Argentina. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 3: 45-65.
96. **Comerón, E. A. & Romero L. A. 2007.** Utilización de la alfalfa por vacas lecheras en pastoreo. En: Basigalup, D. H. El cultivo de la alfalfa en Argentina. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 14: 303-331.
97. **Cook, S. M.; Khan, Z. R. & Pickett, J. A. 2007.** The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annual Review of Entomology*, 52 (1): 375-400.
98. **Coppen, J. J. W. 2002.** *Eucalyptus*: the genus *Eucalyptus*. CRC Press, Taylor & Francis Group, London, United Kingdom, 430 pp.
99. **Cuellar, O. 1977.** Animal parthenogenesis. A new evolutionary ecological model is needed. *Science*, 197: 837-843.
100. **Cui, Y.; Xie, Q.; Hua, J.; Dang, K. A. I.; Zhou, J.; Liu, X.; Wang, G. & Bu, W. 2013.** Phylogenomics of Hemiptera (Insecta: Paraneoptera) based on mitochondrial genomes. *Systematic Entomology*, 38(1): 233-245.
101. **Cunningham, S. M.; Gana, J. A.; Volenec, J. J. & Teuber, L. R. 2001.** Winter hardiness, root physiology, and gene expression in successive fall dormancy selections from 'Mesilla' and 'CUF 101' alfalfa. *Crop Science*, 41(4): 1091-1098.
102. **Cunningham, S. M.; Volenec, J. J. & Teuber, L. R. 1998.** Plant survival and root and bud composition of alfalfa populations selected for contrasting fall dormancy. *Crop Science*, 38(4): 962-969.
103. **Dale, P. S.; Hayes, J. C. & Johannesson, J. 1976.** New records of plant pests in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 19(2): 265-269.
104. **Daniels, M.; Bale, J. S.; Newbury, H. J.; Lind, R. J. & Pritchard, J. 2009.** A sublethal dose of thiamethoxam causes a reduction in xylem feeding by the bird

cherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi*), which is associated with dehydration and reduced performance. *Journal of Insect Physiology*, 55(8): 758-765.

105. **de Fluiter, H. J. & Ankersmit, G. W. 1948.** Gegevens betreffende de aantasting van bonen (*Phaseolus vulgaris* L.) door de zwarte bonenluis (*Aphis (Doralis) fabae* Scop). *Tijdschrift over Plantenziekten*, 54(1): 1-13.
106. **de França, S. M.; Breda, M. O.; Barbosa, D. R.; Araujo, A. M. & Guedes, C. A. 2017.** The sublethal effects of insecticides in insects. En: Shields, V. D. *Biological Control of Pest and Vector Insects*. InTech, Rijeka, Croatia. Cap. 2: 23-39.
107. **de França, S. M.; Vargas de Oliveira, J. V.; Esteves Filho, A. B. & Moura de Oliveira, C. 2012.** Toxicity and repellency of essential oils to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) in *Phaseolus vulgaris* L. *Acta Amazonica*, 42(3): 381-386.
108. **de León, M. & Ustarroz, E. 2007.** Suplementación en pasturas de alfalfa para la producción de carne. En: Basigalup, D. H. *El cultivo de la alfalfa en Argentina*. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 15: 333-353.
109. **Dehghani-Samani, A.; Madreseh-Ghahfarokhi, S.; Dehghani-Samani, A. & Pirali-Kheirabadi, K. 2015.** Acaricidal and repellent activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Mesostigmata). *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 4(3): 81-84.
110. **Delfino, M. A. 1991.** Reconocimiento de los áfidos (Homoptera: Aphidoidea) encontrados en alfalfares (*Medicago sativa* L.) de la Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 66-67: 11-21.
111. **Delfino, M. A. 2005.** Inventario de las asociaciones áfido-planta en el Perú. *Ecología Aplicada*, 4(1-2): 143-148.
112. **Delfino, M. A. & Buffa, L. M. 1996.** Asociaciones hormigas-áfidos-plantas en la Argentina. *Revista Peruana de Entomología*, 39: 81-84.
113. **Delfino, M. A. & Buffa, L. M. 2008.** Áfidos en plantas ornamentales de Córdoba, Argentina (Hemiptera, Aphididae). *Neotropical Entomology*, 37(1): 74-80.
114. **Delfino, M. A.; Monelos, H. L.; Peri, P. L. & Buffa, L. M. 2007.** Áfidos (Hemiptera, Aphididae) de interés económico en la provincia de Santa Cruz. *Revista de Investigación Agropecuaria (RIA)*, 36(1): 147-154.
115. **Delgado, I. 2005.** La mielga (*Medicago sativa* L.): Origen, Caracterización y Valor Agronómico. *Pastos*, XXXV(2): 109-129.
116. **Denholm, I.; Horowitz, A. R.; Cahill, M. & Ishaaya, I. 1998.** Management of resistance to novel insecticides. En: Ishaaya, I. & Degheele, D. *Insecticides with novel modes of action. Mechanism and Application*. Springer Verlag Berlin Heidelberg GmbH. Germany. Cap. 12: 260-282.

117. **Dent, D. 2000.** Insect pest management, 2<sup>nd</sup> Ed. Cabi. Cambridge, United Kingdom, 410 pp.
118. **DePew, L. J. 1961.** Field tests with insecticides to control Spotted Alfalfa Aphid in southwestern Kansas, 1955-1960. *Journal of Economic Entomology*, 54(6): 1144-1147.
119. **Descamps, L. R. & Sánchez Chopa, C. 2011.** Population growth of *Rhopalosiphum padi* L. (Homoptera: Aphididae) on different cereal crops from the semiarid pampas of Argentina under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(3): 390-394.
120. **Dewar, A. M. 2007.** Chemical Control. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. *Aphids as Crops Pest*. Cabi. London, United Kingdom. Cap. 15: 391-422.
121. **Dewar, A. M.; Read, L. A.; Thornhill, W. A.; Smith, S. D. J. & Devonshire, A. L. 1992.** Effect of established and novel aphicides on resistant *Myzus persicae* (Sulz.) on sugar beet under field cages. *Crop Protection*, 11(1): 21-26.
122. **Di Sapio, O.; Campagna, M. N.; Rodriguez, M. V.; Martinez, M. L.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Cortadi, A. & Gattuso, M. 2012.** Parámetros micrográficos para la identificación de leño, corteza y hoja de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(2): 172-187.
123. **Diario Oficial de la Unión Europea. 2009.** Reglamento (CE) no 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo [notificada con el número C (2009) 7641]. L 294 (52): 12-13. European parliament and of the council 2009. Comisión *Medicago sativa* N° 258/97. Luxemburgo.
124. **Díaz Roselló, R. 1991.** Evolución del nitrógeno total en distintos sistemas agrícolas: resumen. INIA Serie Técnica, 23 pp.
125. **Díaz Zorita, D. & Gambaudo, S. 2007.** Fertilización y encalado en alfalfa. En: Basigalup, D. H. *El cultivo de la alfalfa en Argentina*. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 11: 227-246.
126. **Diehl, S. G. & Chatters, R. M. 1956.** Studies on the mechanics of feeding of the spotted alfalfa aphid on alfalfa. *Journal of Economic Entomology*, 49(5): 589-591.
127. **Digilio, M. C.; Mancini, E.; Voto, E. & De Feo, V. 2008.** Insecticide activity of Mediterranean essential oils. *Journal of Plant Interactions*, 3(1): 17-23.
128. **Dimitri, M. J. & Orfila, E. N. 1985.** Tratado de Morfología y Sistemática Vegetal. ACME, Buenos Aires, Argentina, 488 pp.
129. **Divya, T. C.; Katageri, I. S.; Jadhav, M. P.; Adiger, S.; Vamadevaiah, H. M. & Olekar, N. S. 2017.** Biochemical constituents imparting resistance to sucking pest aphid in cotton (*Gossypium* spp.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12): 2749-2757.

130. **Dixon, A. F. G. 1977.** Aphid ecology: life cycles, polymorphism, and population regulation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 8(1): 329-353.
131. **Dixon, A. F. G. 1998.** Aphid ecology. An optimization approach, 2<sup>nd</sup> Ed. Springer Science + Business Media, LL.C. United Kingdom. 300 pp.
132. **Dixon, A. G. O.; Bramel-Cox, P. J.; Reese, J. C. & Harvey, T. L. 1990.** Mechanisms of resistance and their interactions in twelve sources of resistance to biotype E greenbug (Homoptera: Aphididae) in sorghum. *Journal of Economic Entomology*, 83(1), 234-240.
133. **Doryanizadeh, N.; Moharramipour, S.; Hosseininaveh, V. & Mehrabadi, M. 2017.** Antixenotic resistance of eight *Cucumis* genotypes to melon aphid *Aphis gossypii* (Homiptera: Aphididae) and some associated plant traits. *Journal of Crop Protection*, 6(2): 207-214.
134. **Douglas, A. E. 1993.** The nutritional quality of phloem sap utilized by natural aphid populations. *Ecological Entomology*, 18(1): 31-38.
135. **Douglas, A. E. 2003.** The nutritional physiology of aphids. En: Simpson, S. J. *Advances in insect physiology*, 31. Elsevier, Kidlington, United Kingdom. Cap. 2: 73-140.
136. **Douglas, A. E. 2006.** Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *Journal of Experimental Botany*, 57(4): 747-754.
137. **Dreyer, D. L. & Campbell, B. C. 1984.** Association of the degree of methylation of intercellular pectin with plant resistance to aphids and with induction of aphid biotypes. *Experientia*, 40(2): 224-226.
138. **Dreyer, D. L. & Jones, K. C. 1981.** Feeding deterreny of flavonoids and related phenolics towards *Schizaphis graminum* and *Myzus persicae*: aphid feeding deterrents in wheat. *Phytochemistry*, 20(11): 2489-2493.
139. **Dreyer, D. L.; Jones, K. C.; Jurd, L. & Campbell, B. C. 1987.** Feeding deterreny of some 4-hydroxycoumarins and related compounds: relationship to host-plant resistance of alfalfa towards pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Journal of Chemical Ecology*, 13(4): 925-930.
140. **Dreyer, D. L.; Jones, K. C. & Molyneux, R. J. 1985.** Feeding deterreny of some pyrrolizidine, indolizidine, and quinolizidine alkaloids towards pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) and evidence for phloem transport of indolizidine alkaloid swainsonine. *Journal of Chemical Ecology*, 11(8): 1045-1051.
141. **Dreyer, D. L.; Reese, J. C. & Jones, K. C. 1981.** Aphid feeding deterrents in sorghum. Bioassay, isolation and characterization. *Journal of Chemical Ecology*, 7(2): 273-284.
142. **Du, L.; Ge, F.; Zhu, S. & Parajulee, M. N. 2004.** Effect of cotton cultivar on development and reproduction of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) and its predator *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Economic Entomology*, 97(4): 1278-1283.

143. **Dubey, N. K.; Shukla, R.; Kumar, A.; Singh, P. & Prakash, B. 2010.** Prospects of botanical pesticides in sustainable agriculture. *Current Science*, 98(4): 479-480.
144. **Duke, J. A. 1981.** Handbook of legumes of world economic importance. Plenum Press, New York, USA, 335 pp.
145. **Dutta, N. K.; Alam, S. N.; Mahmudunnabi, M.; Khatun, M. F. & Kwon, Y. J. 2016.** Efficacy of some new generation insecticides and a botanical against mustard aphid and their toxicity to coccinellid predators and foraging honeybees. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 41(4): 725-734.
146. **Ebadollahi, A.; Safaralizadeh, M. H. & Pourmirza, A. A. 2010a.** Fumigant toxicity of essential oils of *Eucalyptus globulus* Labill and *Lavandula stoechas* L., Grown in Iran, against the two Coleopteran Insect Pests; *Lasioderma serricorne* F. and *Rhyzopertha dominica* F. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 20(1): 1-5.
147. **Ebadollahi, A.; Safaralizadeh, M. H.; Pourmirza, A. A. & Ghosta, Y. 2010b.** Contact and fumigant toxicity of essential oils of *Lavandula stoechas* L. and *Eucalyptus globulus* Labill grown in Iran against *Lasioderma serricorne* F. *Biharean Biologist*, 4(1): 31-36.
148. **Ebadollahi, A.; Safaralizadeh, M. H.; Pourmirza, A. A. & Nouri-Ganbalani, G. 2010c.** Comparison of fumigant toxicity of *Eucalyptus globulus* Labill and *Lavandula stoechas* L. oils against different stages of *Tribolium castaneum* Herbst. *Indian Journal of Agricultural Research*, 44(1): 26-31.
149. **Edwards, O. R.; Ridsdill-Smith, T. J. & Berlandier, F. A. 2003.** Aphids do not avoid resistance in Australian lupin (*Lupinus angustifolius*, *L. luteus*) varieties. *Bulletin of Entomological Research*, 93(5): 403-411.
150. **Edwardson, J. R. & Christie, R. G. 2018.** CRC Handbook of viruses infecting legumes. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Ratón, USA, 505 pp.
151. **Ehler, L. E. 2006.** Integrated pest management (IPM): definition, historical development and implementation, and the other IPM. *Pest Management Science*, 62(9): 787-789.
152. **Elden, T. C. & McCaslin, M. 1997.** Potato leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) resistance in perennial glandular-haired alfalfa clones. *Journal of Economic Entomology*, 90(3): 842-847.
153. **Elliott, D. I. & Hodgson, C. J. 1996.** The distribution of the vetch aphid on bean stems in relation to stylet length and phloem depth. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 78(2): 175-180.
154. **Erdogan, P.; Yildirim, A. & Sever, B. 2012.** Investigations on the effects of five different plant extracts on the two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch (Arachnida: Tetranychidae). *Psyche: A Journal of Entomology*, 1-5.

155. **FAO. 1970.** Métodos recomendados para la detección y medición de la resistencia de plagas agrícolas a los plaguicidas. 4 - Método provisional para adultos del pulgón melocotonero (*Myzus persicae*). FAO, Boletín Fitosanitario, 18: 16-18.
156. **FAO. 1995.** Bosques, Árboles y Comunidades Rurales - Fase II - Documento de Trabajo: La Radio y Procesos Participativos de Desarrollo Sostenible en la Región Amazónica. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/x5600s/x5600s05.htm#TopOfPage>
157. **FAO. 2009.** Como alimentar el mundo en el 2050. Disponible en: [http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/synthesis\\_papers/C%C3%B3mo\\_alimentar\\_al\\_mundo\\_en\\_2050.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/synthesis_papers/C%C3%B3mo_alimentar_al_mundo_en_2050.pdf)
158. **FAO. 2016a.** El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Cambio climático, agricultura y seguridad alimentaria. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i6030s.pdf>
159. **FAO. 2016b.** Legumbres, semillas nutritivas para un futuro sostenible. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i5528s.pdf>
160. **Farghaly, S. F.; Torkey, H. M. & Abou-Yousef, H. M. 2009.** Natural extracts and their chemical constituents in relation to toxicity against whitefly (*Bemisia tabaci*) and aphid (*Aphis craccivora*). Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(4): 3217-3223.
161. **Farrell, J. A. K. 1977.** Plant resistance to insects and the selection of resistant lines. New Zealand Entomologist, 6(3): 244-261.
162. **Favret, C.; Blackman, R. L.; Miller, G. L. & Victor, B. 2016.** Catalog of the phylloxerids of the world (Hemiptera, Phylloxeridae). ZooKeys, (629): 83-101.
163. **Favret, C.; Havill, N. P.; Miller, G. L.; Sano, M. & Victor, B. 2015.** Catalog of the adelgids of the world (Hemiptera, Adelgidae). ZooKeys, (534): 35-54.
164. **Febvay, G.; Bonnin, J.; Rahbé, Y.; Bournoville, R.; Delrot, S. & Bonnemain, J. L. 1988.** Resistance of different lucerne cultivars to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: influence of phloem composition on aphid fecundity. Entomologia Experimentalis et Applicata, 48(2): 127-134.
165. **Ferguson, S.; Sorensen, E. L. & Horber, E. K. 1982.** Resistance to the spotted alfalfa aphid (Homoptera: Aphididae) in glandular-haired *Medicago* species. Environmental Entomology, 11(6): 1229-1232.
166. **Fleming, T. 2000.** PDR for herbal medicines 2<sup>nd</sup> Ed. Medical Economics Company, Inc. at Montvale, USA, 858 pp.
167. **Forján, H. J. & Manso, M. L. 2016.** Rotaciones y secuencias de cultivos en la región mixta cerealera del centro-sur bonaerense 30 años de experiencias. INTA. Disponible en: <https://inta.gob.ar/documentos/rotaciones-y-secuencias-de-cultivos-en-la-region-mixta-cerealera-del-centro-sur-bonaerense>

168. **Forbes, A. 1969.** The stylets of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). The Canadian Entomologist, 101:31-41.
169. **Foster, S. P.; Devine, G. & Devonshire, A. L. 2007.** Insecticide Resistance. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. Aphids as Crops Pest. Cabi. London, United Kingdom. Cap. 10: 261-285.
170. **Frayssinet, S. R.; Bizet Turovsky, J.; Descamps, L. R. & Sánchez Chopa, C. 2016.** Presencia del hongo entomopatógeno *Pandora neoaphidis* Humber en la región del Sudoeste Bonaerense, Argentina. Entomotropica, 31: 244-247.
171. **Frezzi, M. J. 1971.** Dos hongos entomopatógenos y tres insectos entomófagos, valiosos auxiliares en la Argentina, para el control biológico del “pulgón de la alfalfa” (*Acyrtosiphon pisum* Harris). IDIA Argentina, 291: 21-30.
172. **Fuentes Contreras, E. & Niemeyer, H. M. 1998.** DIMBOA glucoside, a wheat chemical defense, affects host acceptance and suitability of *Sitobion avenae* to the cereal aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi*. Journal of Chemical Ecology, 24(2): 371-381.
173. **Fuentes Contreras, E.; Muñoz, R. & Niemeyer, H. M. 1997.** Diversidad de áfidos (Hemiptera: Aphidoidea) en Chile. Revista Chilena de Historia Natural, 70: 531-542.
174. **Fuog, D.; Fergusson, S. J. & Flückiger, C. 1998.** Pymetrozine: a novel insecticide affecting aphids and whiteflies. En: Ishaaya, I. & Degheele, D. Insecticides with novel modes of action. Mechanism and Application. Springer Verlag Berlin Heidelberg GmbH. Germany. Cap. 3: 40-49.
175. **Furk, C. & Prior, R. N. B. 1975.** On the life cycle of *Pemphigus (Pemphiginus) populi* Courchet with a key to British species of *Pemphigus* Hartig (Homoptera: Aphidoidea). Journal of Entomology (B), 44(3): 265-280.
176. **Gabryś, B. & Tjallingii, W. F. 2002.** The role of sinigrin in host plant recognition by aphids during initial plant penetration. Entomologia Experimentalis et Applicata, 104(1): 89-93.
177. **Gabryś, B.; Tjallingii, W. F. & Van Beek, T. A. 1997.** Analysis of EPG recorded probing by cabbage aphid on host plant parts with different glucosinolate contents. Journal of Chemical Ecology, 23(7): 1661-1673.
178. **Gálvez, G. E. & Morales, F. J. 1989.** Aphid-transmitted viruses. En: Schwartz, H. F. & Pastor-Corrales, M. A. Bean production problems in the Tropics. 2<sup>nd</sup>. Ed. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. Cap. 15: 333-361.
179. **García, F. O. 2003.** Agricultura sustentable y materia orgánica del suelo: siembra directa, rotaciones y fertilidad. Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. INPOFOS. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.
180. **Garran, J. & Gibbs, A. 1982.** Studies on alfalfa mosaic virus and alfalfa aphids. Australian Journal of Agricultural Research, 33(4): 657-664.

181. **Gentile, A. G. & Stoner, A. K. 1968.** Resistance in *Lycopersicon* and *Solanum* species to the potato aphid. *Journal of Economic Entomology*, 61(5): 1152-1154.
182. **Gibson, R. W. 1971.** Glandular hairs providing resistance to aphids in certain wild potato species. *Annals of Applied Biology*, 68(2): 113-119.
183. **Gibson, R. W. 1976.** Glandular hairs are a possible means of limiting aphid damage to the potato crop. *Annals of Applied Biology*, 82(1): 143-146.
184. **Gibson, R. W. & Pickett, J. A. 1983.** Wild potato repels aphids by release of aphid alarm pheromone. *Nature* (302): 608-609.
185. **Girousse, C. & Bournoville, R. 1994.** Role of phloem sap quality and exudation characteristics on performance of pea aphid grown on lucerne genotypes. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 70(3): 227-235.
186. **Girvin, J.; Whitworth, R. J.; Rojas, L. M. A. & Smith, C. M. 2017.** Resistance of select winter wheat (*Triticum aestivum*) cultivars to *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 110(4): 1886-1889.
187. **Givovich, A. & Niemeyer, H. M. 1991.** Hydroxamic acids affecting barley yellow dwarf virus transmission by the aphid *Rhopalosiphum padi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 59(1): 79-85.
188. **Givovich, A. & Niemeyer, H. M. 1995.** Comparison of the effect of hydroxamic acids from wheat on five species of cereal aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 74(2): 115-119.
189. **Givovich, A.; Weibull, J. & Pettersson, J. 1988.** Cowpea aphid performance and behaviour on two resistant cowpea lines. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 49(3): 259-264.
190. **Giles, K. L.; Berberet, R. C.; Zarrabi, A. A. & Dillwith, J. W. 2002.** Influence of alfalfa cultivar on suitability of *Acyrtosiphon kondoi* (Homoptera: Aphididae) for survival and development of *Hippodamia convergens* and *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Economic Entomology*, 95(3): 552-557.
191. **Goffreda, J. C.; Mutschler, M. A.; Avé, D. A.; Tingey, W. M. & Steffens, J. C. 1989.** Aphid deterrence by glucose esters in glandular trichome exudate of the wild tomato, *Lycopersicon pennellii*. *Journal of Chemical Ecology*, 15(7): 2135-2147.
192. **Goławska, S. 2007.** Deterrence and toxicity of plant saponins for the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* Harris. *Journal of Chemical Ecology*, 33(8): 1598-1606.
193. **Goławska, S.; Leszczyński, B. & Oleszek, W. 2006.** Effect of low and high-saponin lines of alfalfa on pea aphid. *Journal of Insect Physiology*, 52(7): 737-743.
194. **Goławska, S. & Łukasik, I. 2009.** Acceptance of low-saponin lines of alfalfa with varied phenolic concentrations by pea aphid (Homoptera: Aphididae). *Biologia*, 64(2): 377-382.

195. **Goławska, S.; Łukasik, I.; Goławski, A.; Kapusta, I. & Janda, B. 2010.** Alfalfa (*Medicago sativa* L.) apigenin glycosides and their effect on the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). Polish Journal of Environmental Studies, 19(5): 913-919.
196. **Goławska, S., Łukasik, I., Kapusta, I. & Janda, B. 2012a.** Do the contents of luteolin, tricetin, and chrysoeriol glycosides in alfalfa (*Medicago sativa* L.) affect the behavior of pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*)? Polish Journal of Environmental Studies, 21(6): 1613-1619.
197. **Goławska, S.; Łukasik, I. & Leszczyński, B. 2008.** Effect of alfalfa saponins and flavonoids on pea aphid. Entomologia Experimentalis et Applicata, 128(1): 147-153.
198. **Goławska, S.; Łukasik, I.; Wójcicka, A. & Sytykiewicz, H. 2012b.** Relationship between saponin content in alfalfa and aphid development. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 54(2): 39-46.
199. **Gomes Santos, R.; Menezes, A. C. S.; Naves, P. L. F.; Gonçalves de Jesus, F.; da Silva Araújo, M.; Correa Bueno, O. & dos Santos Vieira, T. 2015.** Estudo fitoquímico, avaliação do potencial inseticida e citotóxico das folhas de *Machaerium opacum* Vogel (Fabaceae). In Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG Vol. 2, 10 pp.
200. **González, W. L.; Negritto, M. A.; Suárez, L. H. & Gianoli, E. 2008.** Induction of glandular and non-glandular trichomes by damage in leaves of *Madia sativa* under contrasting water regimes. Acta Oecologica, 33(1): 128-132.
201. **Gorski, R. & Tomczak, M. 2010.** Usefulness of natural essential oils in the control of foxglove aphid (*Aulacorthum solani* Kalt.) occurring on eggplant (*Solanum melongena* L.). Chemia I Inżynieria Ekologiczna S, 17(3): 345-349.
202. **Gort, J. A. & Perdiguier Brun, A. 2007.** Las plagas de la alfalfa y su control químico y biológico. Vida Rural, 246: 22-26.
203. **Gotlin Čuljak, T.; Grubišić, D.; Mešić, A. & Juran, I. 2012.** List of aphids (Homoptera: Aphidoidea) and their host plants in Croatia. Natura Croatica, 21(1): 191-221.
204. **Grados, J. & Ortiz, M. S. 2004.** Los áfidos (Homoptera: Aphididae) y sus hospederos en el monte ribereño del Río Rímac, Lima, Perú. Revista Peruana de Entomología, 44: 1-10.
205. **Grayer, R. J.; Kimmins, F. M.; Padgham, D. E.; Harborne, J. B. & Rao, D. R. 1992.** Condensed tannin levels and resistance of groundnuts (*Arachis hypogaea*) against *Aphis craccivora*. Phytochemistry, 31(11): 3795-3800.
206. **Grdiša, M.; Babić, S.; Periša, M.; Carović-Stanko, K.; Kolak, I.; Liber, Z.; Jug-Dujaković & Satovic, Z. 2013.** Chemical diversity of the natural populations of Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* (TREVIR.) SCH. BIP.) in Croatia. Chemistry & Biodiversity, 10(3): 460-472.
207. **Grdiša, M. & Gršić, K. 2013.** Botanical insecticides in plant protection. Agriculturae Conspectus Scientificus, 78(2): 85-93.

208. **Grove, A. R. & Carlson, G. E. 1972.** Morphology and Anatomy. En: Hanson, C. H. Alfalfa Science and Technology. Agronomy Monograph N° 15. Ed. American Society of Agronomy. Madison. Cap. 5: 103-122
209. **Guo, S. M.; Kamphuis, L. G.; Gao, L. L.; Klingler, J. P.; Lichtenzweig, J.; Edwards, O. & Singh, K. B. 2012.** Identification of distinct quantitative trait loci associated with defence against the closely related aphids *Acyrtosiphon pisum* and *A. kondoi* in *Medicago truncatula*. Journal of Experimental Botany, 63(10): 3913-3922.
210. **Gupta, A.; Sharma, S. & Naik, S. N. 2011.** Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. International Biodeterioration & Biodegradation, 65(5): 703-707.
211. **Haagenson, D. M.; Cunningham, S. M. & Volenec, J. J. 2003.** Root physiology of less fall dormant, winter hardy alfalfa selections. Crop Science, 43(4): 1441-1447.
212. **Haile, F. J.; Higley, L. G.; Ni, X. & Quisenberry, S. S. 1999.** Physiological and growth tolerance in wheat to Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) injury. Environmental Entomology, 28(5): 787-794.
213. **Han, J.; Choi, B. R.; Lee, S. G.; Il Kim, S. & Ahn, Y. J. 2010.** Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and-resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). Journal of Economic Entomology, 103(4): 1293-1298.
214. **Halfhill, J. E. 1982.** Host plant and temperature as related to survival and reproduction of an alfalfa aphid, *Macrosiphum creelii* Davis. Environmental Entomology, 11(5): 1100-1103.
215. **Hall, I. M. & Dunn, P. H. 1959.** The effect of certain insecticides and fungicides on fungi pathogenic to the spotted alfalfa aphid. Journal of Economic Entomology, 52(1): 28-29.
216. **Hardie, J.; Isaacs, R.; Pickett, J. A.; Wadhams, L. J. & Woodcock, C. M. 1994.** Methyl salicylate and (-)-(1R,5S)-myrtenal are plant-derived repellents for black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. (Homoptera: Aphididae). Journal of Chemical Ecology, 20(11): 2847-2855.
217. **Harley, R. M.; Atkins, S.; Budantsev, A. L.; Cantino, P. D.; Conn, B. J.; Grayer, R.; Harley, M. M.; de Kok, R.; Krestovskaja, T.; Morales, R.; Paton, A. J.; Ryding, O. & Upson, T. 2004.** Labiatae. En: Kubitzki, K. The families and genera of vascular plants, Vol VII. Flowering Plants Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae Including Avicenniaceae). Springer Verlag Berlin Heidelberg GmbH, Germany. 167-275.
218. **Harper, A. M. 1963.** Sugar-beet root aphid, *Pemphigus betae* Doane (Homoptera: Aphididae), in southern Alberta. The Canadian Entomologist, 95(8): 863-873.
219. **Harper, A. M. 1988.** Insects and Mites on Alfalfa in Alberta. Research Branch, Agriculture Canada. Technical Bulletin 1988-3E. Ottawa, Canada, 38 pp.

220. **Hassan, A. S.; Rafi, M. A.; Javed, H.; Zia, A.; Naeem, M.; Khan, I. A. & Bilal, H. 2010.** Aphidoidea (Homoptera) from the northern areas of Pakistan. *Sarhad Journal of Agricultural*, 26(4): 609-611.
221. **Havananda, T.; Brummer, E. C.; Maureira-Butler, I. J. & Doyle, J. J. 2010.** Relationships among diploid members of the *Medicago sativa* (Fabaceae) species complex based on chloroplast and mitochondrial DNA sequences. *Systematic Botany*, 35(1): 140-150.
222. **Havill, N. P. & Footitt, R. G. 2007.** Biology and evolution of Adelgidae. *Annual Review of Entomology*, 52: 325-349.
223. **He, C. G. & Zhang, X. G. 2006.** Field evaluation of lucerne (*Medicago sativa* L.) for resistance to aphids in northern China. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57(4): 471-475.
224. **Henry, T. J. 2009.** Biodiversity of Heteroptera. En: Footitt, R. G. & Adler, P. H. *Insect Biodiversity: Science and Society*. Blackwell Publishing Ltd. Chichester, United Kingdom. Cap. 10: 223-263.
225. **Hesler, L. S. & Dashiell, K. E. 2011.** Antixenosis to the soybean aphid in soybean lines. *The Open Entomology Journal*, 5: 39-44.
226. **Heuskin, S.; Lorge, S.; Lognay, G.; Wathelet, J. P.; Béra, F.; Leroy, P.; Haubruge, E. & Brostaux, Y. 2012.** A semiochemical slow-release formulation in a biological control approach to attract hoverflies. *Journal of Environment and Ecology*, 3(1): 72-85.
227. **Hewer, A.; Becker, A. & van Bel, A. J. 2011.** An aphid's Odyssey—the cortical quest for the vascular bundle. *Journal of Experimental Biology*, 214(22): 3868-3879.
228. **Hijano, E. H. & Basigalup, D. H. 1995.** El cultivo de la alfalfa en la República Argentina. En: Hijano, E. H. & Navarro, A. *La Alfalfa en la Argentina*. INTA, Subprograma Alfalfa. Enciclopedia Agro de Cuyo, Manual N° 11. San Juan, Argentina. Cap. 1: 11-18.
229. **Hikal, W. M.; Baeshen, R. S. & Said-Al Ahl, H. A. 2017.** Botanical insecticide as simple extractives for pest control. *Cogent Biology*, 3(1): 1-16.
230. **Hilje, L. & Saunders, J. L. 2008.** Manejo integrado de plagas en Mesoamérica: aportes conceptuales. Ed. Tecnológica de Costa Rica. Cartago, Costa Rica, 714 pp.
231. **Hille Ris Lambers, D. & van den Bosch, R. 1964.** On the genus *Therioaphis* Walker, 1870 with descriptions of new species (Homoptera, Aphididae). *Zoologische Verhandelingen*, 68(1): 2-47.
232. **Holman, J. 2009.** Host plant catalog of aphids: Palaearctic Region. Springer Science + Business Media, B.V. 1216 pp.

233. **Holt, J. & Birch, N. 1984.** Taxonomy, evolution and domestication of *Vicia* in relation to aphid resistance. *Annals of Applied Biology*, 105(3): 547-556.
234. **Hopkins, R. J.; Ekbom, B. & Henkow, L. 1998.** Glucosinolate content and susceptibility for insect attack of three populations of *Sinapis alba*. *Journal of Chemical Ecology*, 24(7): 1203-1216.
235. **Hori, M. 1999.** Antifeeding, settling inhibitory and toxic activities of labiate essential oils against the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, 34(1): 113-118.
236. **Hori, M. & Komatsu, H. 1997.** Repellency of rosemary oil and its components against the onion aphid, *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Homoptera, Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, 32(2): 303-310.
237. **Horvath, D. P.; Anderson, J. V.; Chao, W. S. & Foley, M. E. 2003.** Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. *Trends in Plant Science*, 8(11): 534-540.
238. **Hosseini, A. S. B.; Shahram, S.; Faramarz, A. & Mahmood, K. 2013.** Insecticidal and repellent effects of essential oils from Laurel, *Laurus nobilis* and Eucalyptus, *Eucalyptus camaldulensis* against cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*. *Biocontrol in Plant Protection*, 1(1): 1-11.
239. **Hosseini, A.; Hosseini, M.; Goldani, M.; Karimi, J. & Madadi, H. 2015.** Effect of nitrogen fertilizer on biological parameters of the *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae) and associated productivity losses in common globe amaranth. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17(6): 1517-1528.
240. **Hulting, F. L.; Orr, D. B. & Obrycki, J. J. 1990.** A computer program for calculation and statistical comparison of intrinsic rates of increase and associated life table parameters. *Florida Entomologist*, 73(4): 601-612.
241. **Huxley, T. H. 1858.** On the agamic reproduction and morphology of *Aphis* - Part 1. *Transactions of the Linnean Society*, 22: 193-219
242. **Ishaaya, I. & Horowitz, A. R. 1998.** Insecticides with novel modes of action: an overview. En: Ishaaya, I. & Degheele, D. *Insecticides with novel modes of action. Mechanism and Application.* Springer Verlag Berlin Heidelberg GmbH, Germany. Cap. 1: 1-24.
243. **Isman, M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8): 603-608.
244. **Isman, M. B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
245. **Isman, M. B. & Machial, C. M. 2006.** Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. En: Rai, M. & Carpinella, M. C. *Advances in Phytomedicine Vol. 3. Naturally occurring bioactive compounds.* Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. Cap. 2: 29-44.

246. **Itria, C. D. 1966.** Pulgones en alfalfa: Una amenaza para los cultivos del país. IDIA Argentina, 218: 51-54.
247. **Itria, C. D. & Tapia, E. A. 1970.** El pulgón (*Acyrtosiphon pisum* Harris) plaga muy dañina para la alfalfa en la República Argentina. IDIA Argentina, 275: 13-22.
248. **Jeyasankar, A. 2012.** Antifeedant, insecticidal and growth inhibitory activities of selected plant oils on black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae). Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2: S347-S351.
249. **Jiang, Y. & Miles, P.W. 1993.** Responses of a compatible lucerne variety to attack by spotted alfalfa aphid: changes in the redox balance in affected tissues. Entomologia Experimentalis et Applicata, 67: 263-274.
250. **Jimenez, H. O. 1987.** Selection, quantification, and heritability of tolerance to the spotted alfalfa aphid in alfalfa clones (Doctoral dissertation, Oklahoma State University). 85pp. Disponible en: <https://shareok.org/bitstream/handle/11244/14326/Thesis-1987D-J61s.pdf?sequence=1>
251. **Jimenez, H. O.; Caddel, J. L. & Berberet, R. C. 1988.** Selection and characterization of tolerance to the spotted alfalfa aphid (Homoptera: Aphididae) in alfalfa. Journal of Economic Entomology, 81(6): 1768-1774.
252. **Johnson, B. 1953.** The injurious effects of the hooked epidermal hairs of french beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on *Aphis craccivora* Koch. Bulletin of Entomological Research, 44(04): 779-788.
253. **Johnson, K. J.; Sorensen, E. L. & Horber, E. K. 1980a.** Resistance in glandular-haired annual *Medicago* species to feeding by adult alfalfa weevils (*Hypera postica*). Environmental Entomology, 9(1): 133-136.
254. **Johnson, K. J.; Sorensen, E. L. & Horber, E. K. 1980b.** Resistance of glandular-haired *Medicago* species to oviposition by alfalfa weevils (*Hypera postica*). Environmental Entomology, 9(2): 241-244.
255. **Kadyrbekov, R. Kh & Karimova, D. B. 2011.** Aphids (Homoptera: Aphidoidea) of Almaty town (Republic of Kazakhstan). Entomological studies in Russia and neighboring regions, 27-28(12): 115-125.
256. **Kain, W. M. & Biggs, D. R. 1980.** Effect of pea aphid and bluegreen lucerne aphid (*Acyrtosiphon* spp.) on coumestrol levels in herbage of lucerne (*Medicago sativa*). New Zealand Journal of Agricultural Research, 23(4): 563-568.
257. **Kamphuis, L. G.; Gao, L. & Singh, K. B. 2012.** Identification and characterization of resistance to cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch) in *Medicago truncatula*. BioMed Central Plant Biology, 12(1): 101-112.
258. **Kamphuis, L. G.; Lichtenzweig, J.; Peng, K.; Guo, S. M.; Klingler, J. P.; Siddique, K. H. M.; Gao, L. L. & Singh, K. B. 2013.** Characterization and genetic dissection of resistance to spotted alfalfa aphid (*Therioaphis trifolii*) in *Medicago truncatula*. Journal of Experimental Botany, 64(16): 5157-5172.

259. **Kanvil, S.; Powell, G. & Turnbull, C. 2014.** Pea aphid biotype performance on diverse *Medicago* host genotypes indicates highly specific virulence and resistance functions. *Bulletin of Entomological Research*, 104(6): 689-701.
260. **Kassimi, A. & El Watik, L. 2012.** Comparison the effect insecticide of the oils of six plant extracts on the aphids in alfalfa green. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 2(8): 85-91.
261. **Kassimi, A.; El Watik, L. & Moumni, M. 2016.** Insecticidal action of Malyphos and the essential oil of oregano on the aphid. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 6(10): 124-127.
262. **Karamaouna, F.; Kimbaris, A.; Michaelakis, A.; Papachristos, D.; Polissiou, M.; Papatsakona, P. & Tsora, E. 2013.** Insecticidal activity of plant essential oils against the vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Journal of Insect Science*, 13(1): 1-13.
263. **Karley, A. J.; Douglas, A. E. & Parker, W. E. 2002.** Amino acid composition and nutritional quality of potato leaf phloem sap for aphids. *Journal of Experimental Biology*, 205(19): 3009-3018.
264. **Katis, N. I.; Tsitsipis, J. A.; Stevens, M. & Powell, G. 2007.** Transmission of plant viruses. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. *Aphids as Crops Pest*. Cabi. London, United Kingdom. Cap. 14: 353-390.
265. **Kaufmann, L.; Schürmann, F.; Yiallourous, M.; Harrewijn, P. & Kayser, H. 2004.** The serotonergic system is involved in feeding inhibition by pymetrozine. Comparative studies on a locust (*Locusta migratoria*) and an aphid (*Myzus persicae*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology*, 138(4): 469-483.
266. **Kazemi, M. H. & van Emden, H. F. 1992.** Partial antibiosis to *Rhopalosiphum padi* in wheat and some phytochemical correlations. *Annals of Applied Biology*, 121(1): 1-9.
267. **Kemal, A.; Louw, S. M. & Swart, W. J. 2005.** Components and mechanisms of resistance in selected field pea *Pisum sativum* lines to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae). *Pest Management Journal of Ethiopia*, 9: 17-27.
268. **Kellouche, A.; Ait-Aider, F.; Labdaoui, K.; Moula, D.; Ouendi, K.; Hamadi, N.; Ouramdane, A.; Frerot, B. & Mellouk, M. 2010.** Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). *International Journal of Integrative Biology*, 10(2): 86-89.
269. **Khan, M. M. H.; Kundu, R. & Alam, M. Z. 2000.** Impact of trichome density on the infestation of *Aphis gossypii* Glover and incidence of virus disease in ashgourd [*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.]. *International Journal of Pest Management*, 46(3): 201-204.

270. **Khan, I. A. & Abourashed, E. A. 2010.** Leung's encyclopedia of common natural ingredients: used in food, drugs and cosmetics. 3<sup>rd</sup> Ed. John Wiley & Sons Ltd. Hoboken, USA, 810 pp.
271. **Khan, Z. R. & Pickett, J. A. 2008.** Push-pull strategy for insect pest management. En: Capinera, J. L. Encyclopedia of Entomology 2<sup>nd</sup> Ed. Springer Science + Business Media, Dordrecht, The Netherlands. 3074-3082.
272. **Khani, M.; Muhamad Awang, R. & Omar, D. 2012.** Insecticidal effects of peppermint and black pepper essential oils against rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. and rice moth, *Corcyra cephalonica* (St.). Journal of Medicinal Plants, 11(43): 97-110.
273. **Khanikor, B. & Bora, D. 2011.** Toxicity of essential oil compounds against *Exorista sorbillans* (Diptera: Tachinidae), a parasitoid of silkworm. African Journal of Biotechnology, 10(85): 19807-19815.
274. **Kim, J. R.; Haribalan, P.; Son, B. K. & Ahn, Y. J. 2012.** Fumigant toxicity of plant essential oils against *Camptomyia corticalis* (Diptera: Cecidomyiidae). Journal of Economic Entomology, 105(4): 1329-1334.
275. **Kim, J. R.; Ji, C. W.; Seo, B. Y.; Park, C. G.; Lee, K. S. & Lee, S. G. 2013.** Toxicity of plant essential oils and their spray formulations against the citrus flatid planthopper *Metcalfa pruinosa* Say (Hemiptera: Flatidae). The Korean Journal of Pesticide Science, 17(4): 419-427.
276. **Kim, S. I.; Chae, S. H.; Youn, H. S.; Yeon, S. H. & Ahn, Y. J. 2011.** Contact and fumigant toxicity of plant essential oils and efficacy of spray formulations containing the oils against B-and Q-biotypes of *Bemisia tabaci*. Pest Management Science, 67(9): 1093-1099.
277. **Kinney, K. & Peairs, F. B. 2011.** Aphids in alfalfa. Service in action N° 5.531: 1-3.
278. **Klingauf, F. A. 1987.** Host plant finding and acceptance. En: Minks, A. K. & Harrewijn, P. Aphids: their biology, natural enemies and control, Volume 2A. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. Cap. 4-2: 209-223.
279. **Klingler, J.; Creasy, R.; Gao, L.; Nair, R. M.; Suazo Calix, A; Spafford Jacob, H.; Edwards, O. E. & Singh, K. B. 2005.** Aphid resistance in *Medicago truncatula* involves antixenosis and phloem-specific, inducible antibiosis, and maps to a single locus flanked by NBS-LRR resistance gene analogs. Plant Physiology, 137(4): 1445-1455.
280. **Klingler, J. P.; Nair, R. M.; Edwards, O. R. & Singh, K. B. 2009.** A single gene, *AIN*, in *Medicago truncatula* mediates a hypersensitive response to both bluegreen aphid and pea aphid, but confers resistance only to bluegreen aphid. Journal of Experimental Botany, 60(14): 4115-4127.
281. **Kloster, A. M. & Zaniboni, C. M. 2007.** Manejo y utilización de pasturas de alfalfa en producción de carne. En: Basigalup, D. H. El cultivo de la alfalfa en Argentina. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 13: 277-301.

282. **Koch, K. G.; Chapman, K.; Louis, J.; Heng-Moss, T. & Sarath, G. 2016.** Plant tolerance: a unique approach to control hemipteran pests. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1-12.
283. **Koenen, E. J. M.; de Vos, J. M.; Atchison, G. W.; Simon, M. F.; Schrire, B. D.; de Souza, E. R.; de Queiroz, L.P. & Hughes, C. E. 2013.** Exploring the tempo of species diversification in legumes. *South African Journal of Botany*, 89: 19-30.
284. **Kogan, M. 1975.** Plant resistance in pest management. En: Metcalf, R. L. & Luckmann, W. H. *Introduction to Insect Pest Management* 3<sup>rd</sup> Ed. John Wiley & Sons Ltd. Cap. 3: 73-118.
285. **Kogan, M. & Ortman, E. F. 1978.** Antixenosis—a new term proposed to define Painter's “nonpreference” modality of resistance. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 24(2): 175-176.
286. **Kreitner, G. L. & Sorensen, E. L. 1979a.** Glandular Trichomes on *Medicago* Species. *Crop Science*, 19(3): 380-384.
287. **Kreitner, G. L. & Sorensen, E. L. 1979b.** Glandular Secretory System of Alfalfa Species. *Crop Science*, 19(4): 499-502.
288. **Lal, D. & Raj, D. V. 2012.** Efficacy of application of four vegetable oils as grain protectant against the growth and development of *Callosobruchus maculatus* and on its damage. *Advances in Bioresearch*, 3(2): 55-59.
289. **Landolt, P. J.; Hofstetter, R. W. & Biddick, L. L. 1999.** Plant essential oils as arrestants and repellents for neonate larvae of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 28(6): 954-960.
290. **Lapointe, S. L. & Tingey, W. M. 1984.** Feeding response of the green peach aphid (Homoptera: Aphididae) to potato glandular trichomes. *Journal of Economic Entomology*, 77(2): 386-389.
291. **Lapointe, S. L. & Tingey, W. M. 1986.** Glandular trichomes of *Solanum neocardenasii* confer resistance to green peach aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 79(5): 1264-1268.
292. **Lawrence, B. M. 2007.** Mint: the genus *Mentha*. *Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles*, Vol. 44. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Ratón, USA, 544 pp.
293. **Le Roux, V.; Dugravot, S.; Brunissen, L.; Vincent, C.; Pelletier, Y. & Giordanengo, P. 2010.** Antixenosis phloem-based resistance to aphids: is it the rule? *Ecological Entomology*, 35(4): 407-416.
294. **Leclant, F.; Alliot, B. & Signoret, P. A. 1973.** Transmission et epidemiologie de la maladie e enations de la luzerne (LEV): Premiers resultats. *Annales de Phytopathologie*, 5(4): 441-445.

295. **Lee, B. H.; Choi, W. S.; Lee, S. E. & Park, B. S. 2001.** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*, 20(4): 317-320.
296. **Lee, B. H.; Lee, S. E.; Annis, P. C.; Pratt, S. J.; Park, B. S. & Tumaalii, F. 2002.** Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 5(2): 237-240.
297. **Lee, S. E.; Choi, W. S.; Lee, H. S. & Park, B. S. 2000.** Cross-resistance of a chlorpyrifos-methyl resistant strain of *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Cucujidae) to fumigant toxicity of essential oil extracted from *Eucalyptus globulus* and its major monoterpene, 1, 8-cineole. *Journal of Stored Products Research*, 36(4): 383-389.
298. **Lesins K. A. & Gillies C. B. 1972.** Taxonomy and Cytogenetics of *Medicago*. En: Hanson, C. H. *Alfalfa Science and Technology*. Agronomy Monograph N° 15. Ed. American Society of Agronomy. Madison, USA. Cap. 3: 53-86.
299. **Lesins, K. A. & Lesins, I. 1979.** Genus *Medicago* (Leguminosae): a taxogenetic study. Ed. Dr. W. Junk bv Publishers. The Hague, The Netherlands, 228 pp.
300. **Leszczyński, B.; Warchoń, J. & Niraz, S. 1985.** The influence of phenolic compounds on the preference of winter wheat cultivars by cereal aphids. *Insect Science and Its Application*, 6(2): 157-158.
301. **Leszczyński, B.; Wright, L. C. & Bakowski, T. 1989.** Effect of secondary plant substances on winter wheat resistance to grain aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 52(2): 135-139.
302. **Levin, D. A. 1973.** The role of trichomes in plant defense. *The Quarterly Review of Biology*, 48(1): 3-15.
303. **Li, B.; Cantino, P. D.; Olmstead, R. G.; Bramley, G. L. C.; Xiang, C. L.; Ma, Z. H.; Tan, Y. H. & Zhang, D. X. 2016.** A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its subfamilial classification. *Scientific Reports*, (6: 34343): 1-18.
304. **Liu, S.; Vijayendran, D.; Carrillo-Tripp, J.; Miller, W. A. & Bonning, B. C. 2014.** Analysis of new aphid lethal paralysis virus (ALPV) isolates suggests evolution of two ALPV species. *Journal of General Virology*, 95(12): 2809-2819.
305. **Liu, S.; Vijayendran, D.; Chen Y. & Bonning, B. C. 2016a.** *Aphis glycines* virus 2, a novel insect virus with a unique genome structure. *Viruses*, 8(315): 17 pp.
306. **Liu, Y. H.; Kang, Z. W.; Guo, Y.; Zhu, G. S.; Shah, M. M. R.; Song, Y.; Fan, Y. L.; Jing, X. & Liu, T. X. 2016b.** Nitrogen hurdle of host alternation for a polyphagous aphid and the associated changes of endosymbionts. *Scientific Reports*, (6: 24781): 1-8.
307. **Lloverás, J. 1999.** El cultivo de la alfalfa y su relación con el medio ambiente. *Pastos*, XXIX(2): 145-167.

308. **Long, B. J.; Dunn, G. M.; Bowman, J. S. & Routley, D. G. 1977.** Relationship of hydroxamic acid content in corn and resistance to the corn leaf aphid. *Crop Science*, 17(1): 55-58.
309. **Loper, G. M. 1968.** Effect of aphid infestation on the coumestrol content of alfalfa varieties differing in aphid resistance. *Crop Science*, 8(1): 104-106.
310. **Lowe, A. D. 1966.** Aphids trapped at three sites in Canterbury, New Zealand, over four years, with flight patterns for nine main species. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 9(3): 771-807.
311. **Lowe, H. J. B.; Murphy, G. J. P. & Parker, M. L. 1985.** Non-glaucousness, a probable aphid-resistance character of wheat. *Annals of Applied Biology*, 106(3): 555-560.
312. **LPWG, Legume Phylogeny Working Group. 2013.** Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon*, 62(2): 217-248.
313. **Lu, H.; Yang, P.; Xu, Y.; Luo, L.; Zhu, J.; Cui, N.; Kang, L. & Cui, F. 2016.** Performances of survival, feeding behavior, and gene expression in aphids reveal their different fitness to host alteration. *Scientific Reports*, (6:19344): 1-11.
314. **Luna, A. P. 1977.** Diferenciación de las dos especies principales de pulgones que dañan a la alfalfa en la Argentina. Programa Alfalfa INTA/FAO ARG 75/006, Hoja Informativa, Año 2, 2: I-II. INTA, Castelar, Argentina.
315. **Mac Lean, P. S. & Byers, R. A. 1983.** Ovipositional preferences of the alfalfa blotch leafminer (Diptera: Agromyzidae) among some simple and glandular-haired *Medicago* species. *Environmental Entomology*, 12(4): 1083-1086.
316. **Madhusudhan, V. V. & Miles, P. W. 1998.** Mobility of salivary components as a possible reason for differences in the responses of alfalfa to the spotted alfalfa aphid and pea aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86(1): 25-39.
317. **Maia, A. de H. N.; Luiz, A. J. B. & Campanhola, C. 2000.** Statistical inference on associated fertility life table parameters using Jackknife technique: computational aspects. *Journal of Economic Entomology*, 93(2): 511-518.
318. **Majada Guijo, J. P.; López Scollo, G. A.; Oliveira Neves, L. & Carvalho Araujo, C. 2012.** *Eucalyptus globulus* Labill. En: Pemán García, J; Navarro Cerrillo, R.; Nicolás Peragón, J. L., Prada Sáez, M. A. & Serrada Hierro, R. Producción y manejo de semillas y plantas forestales. Tomos I y II. Organismo Autónomo Parques Nacionales. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid, España, 1018 pp.
319. **Manfrino, R. G.; Salto, C. E. & Zumoffen, L. 2011.** Estudio de las asociaciones áfidos-entomófagos sobre *Foeniculum vulgare* (Umbelliferae) y *Conyza bonariensis* (Asteraceae) en la región central de Santa Fe, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 70(1-2): 99-109.

320. **Manfrino, R. G.; Zumoffen, L.; Salto, C. E. & López Lastra, C. C. 2014.** Natural occurrence of entomophthoroid fungi of aphid pests on *Medicago sativa* L. in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(1): 49-52.
321. **Mann, R. S. & Kaufman, P. E. 2012.** Natural product pesticides: their development, delivery and use against insect vectors. *Mini-reviews in Organic Chemistry*, 9(2): 185-202.
322. **Mansour, F.; Ravid, U. & Putievsky, E. 1986.** Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Phytoparasitica*, 14(2): 137-142.
323. **Mareggiani, G.; Russo, S. & Rocca, M. 2008.** *Eucalyptus globulus* (Mirtaceae) essential oil: efficacy against *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), an agricultural pest. *Revista Latinoamericana de Química*, 36(1): 16-21.
324. **Marimuthu, M. & Smith, C. M. 2012.** Barley tolerance of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotype 2 herbivory involves expression of defense response and developmental genes. *Plant Signaling & Behavior*, 7(3): 382-391.
325. **Martos, L.; Oliveira Froemming Galan, A. T.; de Souza, L. A. & Mourão, K. S. M. 2017.** The flower anatomy of five species of Myrteae and its contribution to the taxonomy of Myrtaceae. *Acta Botanica Brasilica*, 31(1): 42-50.
326. **Martyn, E. J. & Miller, L. W. 1963.** A check list of the aphids of Tasmania and their recorded host plants. *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania*, 97: 53-62.
327. **Matile, P. 1984.** Das toxische kompartment der pflanzenzelle. *Naturwissenschaften*, 71(1): 18-24.
328. **Mauchline, A. L.; Osborne, J. L.; Martin, A. P.; Poppy, G. M. & Powell, W. 2005.** The effects of non-host plant essential oil volatiles on the behaviour of the pollen beetle *Meligethes aeneus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 114(3): 181-188.
329. **Maxted, N. & Bennett, S. J. 2001.** Plant genetic resources of legumes in the Mediterranean. *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture* (39). Ed Springer Science + Business Media, B.V. Berlín, Alemania, 380 pp.
330. **Maxwell, F. G. & Painter, R. H. 1962a.** Auxin content of extracts of certain tolerant and susceptible host plants of *Toxoptera graminum*, *Macrosiphum pisi*, and *Therioaphis maculata* and relation to host plant resistance. *Journal of Economic Entomology*, 55(1): 46-56.
331. **Maxwell, F. G. & Painter, R. H. 1962b.** Auxins in honeydew of *Toxoptera graminum*, *Therioaphis maculata*, and *Macrosiphum pisi*, and their relation to degree of tolerance in host plants. *Annals of the Entomological Society of America*, 55(2): 229-233.
332. **Maxwell, F. G. & Painter, R. H. 1962c.** Plant growth hormones in ether extracts of the greenbug, *Toxoptera graminum*, and the pea aphid, *Macrosiphum pisi*, fed

- on selected tolerant and susceptible host plants. *Journal of Economic Entomology*, 55(1): 57-62.
333. **Mazahery-Laghab, H.; Yazdi-Samadi, B.; Bagheri, M. & Bagheri, A. R. 2011.** Alfalfa (*Medicago sativa* L.) shoot saponins: identification and bio-activity by the assessment of aphid feeding. *British journal of nutrition*, 105(1): 62-70.
  334. **Mazur, W. M.; Duke, J. A.; Wähälä, K.; Rasku, S. & Adlercreutz, H. 1998.** Isoflavonoids and lignans in legumes: nutritional and health aspects in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9(4): 193-200.
  335. **Mazzuferi, V.; Maidana, A.; Avalos, S.; Fichetti P. & Carreras, J. 2009.** Los pulgones (Hemiptera: Aphididae) presentes en genotipos diferentes de garbanzo. Resúmenes XXXII Congreso Argentino de Horticultura. Salta, Argentina. 358 pp.
  336. **Mazzuferi, V. E.; Maidana, A.; Fichetti, P.; Hansen, L. G. & Avalos, D. S. 2011.** Abundancia y riqueza específica de pulgones (Hemiptera: Aphididae) y sus parasitoides en diferentes genotipos y estados fenológicos del garbanzo. *Agriscientia*, XXVIII(2): 99-108.
  337. **McKay, D. L. & Blumberg, J. B. 2006.** A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research*, 20(8): 619-633.
  338. **McKenzie, J. S.; Paquin R. & Duke, S. H. 1988.** Cold and Heat Tolerance. En: Hanson, A. A.; Barnes, D. K.; Hill, R. R.; Heichel, G. H.; Hunt, O. J.; Leath, K. T.; Marten, G. C. & Tesar, M. B. *Alfalfa and Alfalfa Improvement*. Agronomy Monograph N° 29. Ed. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. Madison, USA. Cap. 8: 259-302.
  339. **McMurtry, J. A. 1962.** Resistance of alfalfa to spotted alfalfa aphid in relation to environmental factors. *Hilgardia*, 32(12): 501-539.
  340. **Medina, R. F.; Nachappa, P. & Tamborindeguy, C. 2011.** Differences in bacterial diversity of host-associated populations of *Phylloxera notabilis* Pergande (Hemiptera: Phylloxeridae) in pecan and water hickory. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(4): 761-771.
  341. **Mehrpourvar, M.; Zytynska, S. E. & Weisser, W. W. 2013.** Multiple cues for winged morph production in an aphid metacommunity. *PLoS ONE*, 8(3): e58323.
  342. **Meyer, J. S.; Ingersoll, C. G.; McDonald, L. L. & Boyce, M. S. 1986.** Estimating uncertainty in population growth rates: jackknife vs. bootstrap techniques. *Ecology*, 67(5): 1156-1166.
  343. **Mitchell, C.; Brennan, R. M.; Graham, J. & Karley, A. J. 2016.** Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1-8.
  344. **Mier Durante, M. P.; Footitt, R.; von Dohlen, C. D. & Ortego, J. 2012.** First American records of *Aphis intybi* (Hemiptera: Aphididae) with notes on two other related adventive species in Argentina. *Florida Entomologist*, 95(4): 1154-1162.

345. **Miles, P. W. 1999.** Aphid saliva. *Biological Reviews*, 74(1): 41-85.
346. **Miles, P. W. & Oertli, J. J. 1993.** The significance of antioxidants in the aphid–plant interaction: the redox hypothesis. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 67: 275-283.
347. **Milošević, D.; Milenković, S.; Perić, P. & Stamenković, S. 2014.** The effects of monitoring the abundance and species composition of aphids as virus vectors on seed potato production in Serbia. *Journal Pesticides and Phytomedicine*, 29(1): 9-19.
348. **Mirmohammadi, S.; Allahyari, H.; Nematollahi, M. R. & Saboori, A. 2009.** Effect of host plant on biology and life table parameters of *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae). *Annals of the Entomological Society of America*, 102(3): 450-455.
349. **Miyazaki, M. 1971.** A revision of the tribe Macrosiphini of Japan (Homoptera: Aphididae, Aphidinae). *Insecta Matsumurana*, 34(1): 1-247.
350. **Mizukoshi, T. & Kakizaki, M. 1995.** Influence of trichomes on kidney bean leaves to the development of the foxglove aphid, *Aulacorthum solani* (Homoptera: Aphididae). *Annual Report of the Society of Plant Protection of North Japan*, 46: 142-146.
351. **Moëricke, V. 1955.** Über die Lebensgewohnheiten der geflügelten Blattläuse (Aphidina) unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens beim Landen. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 37(1): 29-91.
352. **Moëricke, V. 1969.** Host-plant specific colour behaviour by *Hyalopterus pruni* (Aphididae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 12: 524-534.
353. **Moghaddam, M. & Mehdizadeh, L. 2017.** Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. En: Grumezescu, A. & Holban, A. M. *Soft Chemistry and Food Fermentation Vol 3*. Elsevier, London, United Kingdom. Cap. 13: 379-419.
354. **Moharramipour, S.; Tsumuki, H.; Sato, K.; Murata, S. & Kanehisa, K. 1997.** Effects of leaf color, epicuticular wax amount and gramine content in barley hybrids on cereal aphid populations. *Applied Entomology and Zoology*, 32(1): 1-8.
355. **Momen, F. M.; Amer, S. A. A. & Refaat, A. M. 2001.** Influence of mint and peppermint on *Tetranychus urticae* and some predacious mites of the family Phytoseiidae (Acari: Tetranychidae: Phytoseiidae). *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 36(1-2): 143-153.
356. **Moon, H. K.; Smets, E. & Huysmans, S. 2010.** Phylogeny of tribe Mentheae (Lamiaceae): The story of molecules and micromorphological characters. *Taxon*, 59(4): 1065-1076.
357. **Mossi, A. J.; Astolfi, V.; Kubiak, G.; Lerin, L.; Zanella, C.; Toniazzo, G.; de Oliveira, D.; Treichel, H.; Devilla, I. A.; Cansian, R. & Restello, R. 2010.**

- Insecticidal and repellency activity of essential oil of *Eucalyptus* sp. against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(2): 273-277.
358. **Mostafavi, R.; Henning, J. A.; Gardea-Torresday, J. & Ray, I. M. 1996.** Variation in aphid alarm pheromone content among glandular and eglandular-haired *Medicago* accessions. *Journal of Chemical Ecology*, 22(9): 1629-1638.
359. **Murcia-Meseguer, A.; Alves, T. J. S.; Budia, F.; Ortiz, A. & Medina, P. 2018.** Insecticidal toxicity of thirteen commercial plant essential oils against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Phytoparasitica*, 46(2): 233-245.
360. **Murray, A. P.; Frontera, M. A.; Tomas, M. A. & Mulet, M. C. 2005.** Gas chromatography-mass spectrometry study of the essential oils of *Schinus longifolia* (Lindl.) sp. sp., *Schinus fasciculata* (Griseb.) IM Johnst., and *Schinus areira* L. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60(1-2): 25-29.
361. **Mustaparta, H. 1975a.** Behavioral responses of the pine weevil, *Hylobius abietis* L. (Col.: Curculionidae) to odors activating different groups of receptor cells. *Journal of Comparative Physiology*, 102: 57-63.
362. **Mustaparta, H. 1975b.** Responses of single olfactory cells in the pine weevil *Hylobius abietis* L. (Col.: Curculionidae). *Journal of Comparative Physiology*, 97: 271-290.
363. **Nattudurai, G.; Paulraj, M. G. & Ignacimuthu, S. 2012.** Fumigant toxicity of volatile synthetic compounds and natural oils against red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of King Saud University Science*, 24(2): 153-159.
364. **Nault, B. A.; Shah, D. A.; Dillard, H. R. & McFaul, A. C. 2004.** Seasonal and spatial dynamics of alate aphid dispersal in snap bean fields in proximity to alfalfa and implications for virus management. *Environmental Entomology*, 33(6): 1593-1601.
365. **Neal, J. J.; Tingey, W. M. & Steffens, J. C. 1990.** Sucrose esters of carboxylic acids in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* deter settling and probing by green peach aphid. *Journal of Chemical Ecology*, 16(2): 487-497.
366. **Ng, J. C. K. & Perry, K. L. 2004.** Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular Plant Pathology*, 5(5): 505-511.
367. **Niemeyer, H. M.; Pesel, E.; Copaja, S. V.; Bravo, H. R.; Franke, S. & Francke, W. 1989.** Changes in hydroxamic acid levels of wheat plants induced by aphid feeding. *Phytochemistry*, 28(2): 447-449.
368. **Nieto Nafría, J. M. 1999.** Filogenia y posición taxonómica de los "homópteros" y de sus principales grupos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina*, 26: 421-426.

369. **Nieto Nafría, J. M.; Delfino, M. A. & Mier Durante, M. P. 1994.** La afidofauna de la Argentina, su conocimiento en 1992. Secretariado de Publicaciones, Universidad de León. León, España, 235 pp.
370. **Nieto Nafría, J. M.; Fuentes Contreras, E.; Castro Colmenero, M.; Aldea Piera, M.; Ortego, J. & Mier Durante, M. P. 2016.** Catálogo de los áfidos (Hemiptera, Aphididae) de Chile, con plantas hospedadoras y distribuciones regional y provincial. *Graellsia*, 72(2): 1-50.
371. **Nieto Nafria, J. M.; Mier Durante, M. P. & Remaudière, G. 1997.** Les noms des taxa du groupe-famille chez les Aphididae [Hemiptera]. *Revue française d'entomologie*, 19(3-4): 77-92.
372. **Nieto Nafría, J. M. & Mier Durante, M. P. 1998.** Hemiptera. Aphididae I. Fauna Ibérica. Vol 11. Ramos, M.A. *et al.* (Eds). Museo Nacional de Ciencias Naturales & Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. 424 pp.
373. **Nieto Nafría, J. M. & Mier Durante, M. P. 2005.** Hemiptera. Aphididae III. Fauna Ibérica. Vol 28. Ramos, M.A. *et al.* (Eds). Museo Nacional de Ciencias Naturales & Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. 364 pp.
374. **Niraz, S.; Leszczyński, B.; Ciepiela, A.; Urbańska, A. & Warchol, J. 1985.** Biochemical aspects of winter wheat resistance to aphids. *International Journal of Tropical Insect Science*, 6(3): 253-257.
375. **Nováková, E.; Hypša, V.; Klein, J.; Footitt, R. G.; von Dohlen, C. D. & Moran, N. A. 2013.** Reconstructing the phylogeny of aphids (Hemiptera: Aphididae) using DNA of the obligate symbiont *Buchnera aphidicola*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 68(1): 42-54.
376. **Odorizzi, A.; Basigalup, D.; Arolfo, V. & Balzarini, M. 2008.** Análisis de la variabilidad de caracteres de raíz en poblaciones de alfalfa (*Medicago sativa* L.) con alto número de raíces laterales. *Agriscientia*, 25(2): 65-73.
377. **Ofuya, T. I. & Okuku, I. E. 1994.** Insecticidal effect of some plant extracts on the cowpea aphid *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 67(6): 127-129.
378. **Ölmez Bayhan, S.; Ulusoy, M. R. & Toros, S. 2003.** Determination of Aphididae (Homoptera) fauna of Diyarbakir province of Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 27(4): 253-268.
379. **Ortego, J. 1991.** Presencia y actividad de áfidos vectores de PVY en dos localidades productoras de tubérculo-semilla de papa en Malargüe, Mendoza, Argentina. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 4(1): 86-102.
380. **Ortego, J. 1997.** Pulgones de la Patagonia Argentina con la descripción de *Aphis intrusa* sp. n. (Homoptera: Aphididae). *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 102(1): 59-80.

381. **Ortego, J.; Paravano, A. S. & Imwinkelried, J. M. 2002.** Actualización de los registros afidológicos (Homoptera, Aphidoidea) de la provincia de Santa Fe, Argentina. *Revista FAVE - Ciencias Agrarias*, 1(1): 47-55.
382. **Ortego, J. & Mier Durante, M. P. 2003.** *Acyrtosiphon loti* (Hemiptera: Aphididae) hallado sobre alfalfa en la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 62(1-2): 32-34.
383. **Oulebsir-Mohandkaci, H.; Ait Kaki, S. & Doumandji-Mitiche, B. 2015.** Essential Oils of two Algerian aromatic plants *Thymus vulgaris* and *Eucalyptus globulus* as Bio-insecticides against aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Wulfenia Journal*, 22(2): 185-197.
384. **Ouvrard, D.; Campbell, B. C.; Bourgoïn, T. & Chan, K. L. 2000.** 18S rRNA secondary structure and phylogenetic position of Peloridiidae (Insecta, Hemiptera). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16(3): 403-417.
385. **Owen, R. 1849.** On Parthenogenesis; or, The Successive Production of Procreating Individuals from a Single Ovum: A Discourse Introductory to the Hunterian Lectures on Generation and Development, for the Year 1849, Delivered at the Royal College of Surgeons of England. London, 76 pp.
386. **Özgökçe, M. S.; Chi, H.; Athhan, R. & Kara, H. 2018.** Demography and population projection of *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae) on five pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Phytoparasitica*, 1-15.
387. **Painter, R. H. 1951.** Insect resistance in crop plants. The Macmillan Company New York, USA, 492 pp.
388. **Painter, R. H. 1958.** Resistance of plants to insects. *Annual Review of Entomology*, 3(1): 267-290.
389. **Papendick, R. I.; Elliot, L. F. & Power J. F. 1987.** Alternative production systems to reduce nitrates in ground water. *American Journal of Alternative Agriculture*, 2(1): 19-24.
390. **Pandey, A.; Chattopadhyay, P.; Banerjee, S.; Pakshirajan, K. & Singh, L. 2012.** Antitermitic activity of plant essential oils and their major constituents against termite *Odontotermes assamensis* Holmgren (Isoptera: Termitidae) of North East India. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 75: 63-67.
391. **Pandir, D. & Baş, H. 2016.** Compositional analysis and toxicity of four plant essential oils to different stages of Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 40(2): 185-195.
392. **Park, Y. L. & Tak, J. H. 2016.** Essential oils for arthropod pest management in agricultural production systems. En: Preedy, V. R. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier, London, United Kingdom. Cap. 6: 61-70.
393. **Pavela, R. & Benelli, G. 2016.** Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12): 1000-1007.

394. **Pecetti, L.; Tava, A.; Romani, M.; De Benedetto, M. G. & Corsi, P. 2006.** Variety and environment effects on the dynamics of saponins in lucerne (*Medicago sativa* L.). *European Journal of Agronomy*, 25(3): 187-192.
395. **Pedersen, M. W.; Barnes, D. K.; Sorensen, E. L.; Griffin, G. D.; Nielson, M. W.; Hill Jr., R. R.; Frosheiser, F. I.; Sonoda, R. M.; Hanson, C. H.; Hunt, O. J.; Peaden, J. H.; Elgin Jr., J. H.; Devine, T. E.; Anderson, M. J.; Goplen, B. P.; Elling L. J. & Peaden, R. N. 1976.** Effects of Low and High Saponin Selection in Alfalfa on Agronomic and Pest Resistance Traits and the Interrelationship of these Traits. *Crop Science*, 16(2): 193-199.
396. **Pedersen, M. W.; Sorensen, E. L. & Anderson, M. J. 1975.** A comparison of pea aphid-resistant and susceptible alfalfas, for field performance, saponin concentration, digestibility, and insect resistance. *Crop Science*, 15(2): 254-256.
397. **Pedigo, L. P. 1989.** *Entomology and Pest Management*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, USA, 646 pp.
398. **Peng, L.; Zhao, Y.; Wang, H.; Song, C.; Shangguan, X.; Ma, Y.; Zhu, L. & He, G. 2017.** Functional study of cytochrome P450 enzymes from the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) to analyze its adaptation to BPH-resistant rice. *Frontiers in Physiology*, 8: 1-16.
399. **Perrucci, S. 1995.** Acaricidal activity of some essential oils and their constituents against *Tyrophagus longior*, a mite of stored food. *Journal of Food Protection*, 58(5): 560-563.
400. **Peschiutta, M. L.; Pizzolitto, R. P.; Ordano, M. A.; Zaio, Y. P. & Zygadlo, J. A. 2017.** Laboratory evaluation of insecticidal activity of plant essential oils against the vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Vitis*, 56: 79-83
401. **Peter, A. J.; Shanower, T. G. & Romeis, J. 1995.** The role of plant trichomes in insect resistance: a selective review. *Phytophaga*, 7: 41-64.
402. **Petersen Rock, K.; Thelemann, R. T.; Jung, H. J. G.; Tschirner, U. W.; Sheaffer, C. C. & Johnson, G. A. 2009.** Variation due to growth environment in alfalfa yield, cellulosic ethanol traits, and paper pulp characteristics. *Bioenergy Research*, 2(3): 79-89.
403. **Peterson, R. K. D. & Higley, L.G. 2001.** Illuminating the black box: the relationship between injury and yield. En: Peterson, R. K. D. & Higley, L.G. *Biotic Stress and Yield Loss*. CRC Press, Boca Raton, USA. Cap. 1: 9–20.
404. **Petrović, O. 1998.** Check-list of aphids (Homoptera: Aphididae) in Serbia. *Acta Entomologica Serbica*, 3(1/2): 9-42.
405. **Pettersson, J.; Pickett, J. A.; Pye, B. J.; Quiroz, A.; Smart, L. E.; Wadhams, L. J. & Woodcock, C. M. 1994.** Winter host component reduces colonization by bird-cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera, Aphididae), and other aphids in cereal fields. *Journal of Chemical Ecology*, 20(10): 2565-2574.

406. **Pettersson, J.; Tjallingii, W. & Hardie J. 2007.** Host-plant selection and feeding. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. *Aphids as Crops Pest*. Cabi. London, United Kingdom. Cap. 4: 87-113.
407. **Philogène, B. J. R.; Regnault-Roger, C. & Vincent, C. 2004.** Productos fitosanitarios insecticidas de origen vegetal: promesas de ayer y de hoy. En: Regnault Roger, C.; Philogène, B. J. R. & Vincent, C. *Biopesticidas de origen vegetal*. Ediciones MundiPrensa, Madrid, España. Cap. 1: 1-18.
408. **Pickett, J. A.; Wadhams, L. J.; Woodcock, C. M. & Hardie, J. 1992.** The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology*, 37(1): 67-90.
409. **Pimentel, D. & Wheeler, A. G. Jr. 1973.** Species and diversity of arthropods in the alfalfa community. *Environmental Entomology*, 2(4): 659–668.
410. **Podsiadlowski, L. 2016.** Phylogeny of the aphids. En: Vilcinskis, A. *Biology and Ecology of Aphids*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Ratón, USA. Cap. 1: 1-13.
411. **Pollard, D. G. 1973.** Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera, Aphidoidea): a review. *Bulletin of Entomological Research*, 62(4): 631-714.
412. **Powell, G. & Hardie, J. 2000.** Host-selection behaviour by genetically identical aphids with different plant preferences. *Physiological Entomology*, 25(1): 54-62.
413. **Powell, G. & Hardie, J. 2002.** Xylem ingestion by winged aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104: 103-108.
414. **Powell, G.; Maniar, S. P.; Pickett, J. A. & Hardie, J. 1999.** Aphid responses to non-host epicuticular lipids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91(2): 115-123.
415. **Prado, E. C. 1997.** Aphid-plant interactions at phloem level, a behavioural study. Wageningen Agricultural University. Wageningen, The Netherlands, 111 pp.
416. **Prado, E. C. & Tjallingii, W. F. 1994.** Aphid activities during sieve element punctures. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 72(2): 157-165.
417. **Prieto, A.; Auró de Ocampo, A.; Fernández, A. & Pérez, M. B. 2005.** El empleo de medicina natural en el control de enfermedades de organismos acuáticos y potencialidades de uso en Cuba y México. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 8(1): 38-49.
418. **Putnam, D.; Russelle, M.; Orloff, S.; Kuhn, J.; Fitzhugh, L.; Godfrey, L.; Kiess, A. & Long, R. 2001.** Alfalfa, Wildlife and the Environment. The importance and Benefits of Alfalfa in the 21st Century. California Alfalfa and Forage Association, Novato, USA, 23 pp. Disponible en: <http://agric.ucdavis.edu/files/242006.pdf>
419. **Quednau, F. W. 2003.** Atlas of the Drepanosiphine aphids of the world. Part II: Panaphidini Oestlund, 1923 – Panaphidina Oestlund, 1923 (Hemiptera, Aphididae: Callaphidinae). *American Entomological Institut*, 72, 301 pp.

420. **Quintana, F. J. 1972.** Ensayo de control químico del pulgón de la alfalfa *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hom. Aphid.). IDIA Argentina. Suplemento 28: 205-210.
421. **Quintanilla, R. H. 1976.** Pulgones. Características morfológicas y biológicas. Especies de mayor importancia agrícola. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina, 45 pp.
422. **Quiros, C. F. & Bauchan, G. R. 1988.** The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* complex. En: Hanson, A. A.; Barnes, D. K.; Hill, R. R.; Heichel, G. H.; Hunt, O. J.; Leath, K. T.; Marten, G. C. & Tesar, M. B. Alfalfa and Alfalfa Improvement. Agronomy Monograph N° 29. Ed. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. Madison, USA. Cap 3: 93-124.
423. **Quisenberry, S. S. & Ni, X. 2007.** Feeding Injury. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. Aphids as Crops Pest. Cabi. London, United Kingdom. Cap. 13: 331-352.
424. **Racca, R. W. & González, N. 2007.** Nutrición nitrogenada de la alfalfa e impacto de la fijación biológica del nitrógeno. En: Basigalup, D. H. El cultivo de la alfalfa en Argentina. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 4: 69-79.
425. **Rahbé, Y. & Febvay, G. 1993.** Protein toxicity to aphids: an in vitro test on *Acyrtosiphon pisum*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 67(2): 149-160.
426. **Rahbé, Y.; Sauvion, N.; Febvay, G.; Peumans, W. J. & Gatehouse, A. M. 1995.** Toxicity of lectins and processing of ingested proteins in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 76(2): 143-155.
427. **Rahman, A. M. & Parvin, M. I. A. 2014.** Study of medicinal uses on Fabaceae family at Rajshahi, Bangladesh. Research in Plant Sciences, 2(1): 6-8.
428. **Raja, N.; Albert, S.; Ignacimuthu, S. & Dorn, S. 2001.** Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. Journal of Stored Products Research, 37(2): 127-132.
429. **Raja, R. R. 2012.** Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: an overview. Research Journal of Medicinal Plant, 6(3): 203-213.
430. **Rakhshani, H.; Ebadi, R. & Mohammadi, A. A. 2009.** Population dynamics of alfalfa aphids and their natural enemies, Isfahan, Iran. Journal of Agricultural Science and Technology, 11: 505-520.
431. **Ramírez, C. C.; Caballero, P. P. & Niemeyer, H. M. 1999.** Effect of previous exposure to hydroxamic acids in probing behavior of aphid *Sitobion fragariae* on wheat seedlings. Journal of Chemical Ecology, 25(4): 771-779
432. **Ramírez Rubio, A.; Zamora Pérez, M. & Rosell Pardo, R. 2009.** Beneficios y efectos de la rotación de cultivos en el mejoramiento de propiedades del medio edáfico. Revista Científica Equipo Federal del Trabajo, 52.

433. **Ranger, C. M.; Backus, E. A.; Winter, R. E. K.; Rottinghaus, G. E.; Ellersieck, M. R. & Johnson, D. W. 2004.** Glandular trichome extracts from *Medicago sativa* deter settling by the potato leafhopper *Empoasca fabae*. *Journal of Chemical Ecology*, 30(5): 927-943.
434. **Ranger, C. M. & Hower, A. A. 2001.** Glandular morphology from a perennial alfalfa clone resistant to the potato leafhopper. *Crop Science*, 41(5): 1427-1434.
435. **Reese, J. C.; Schwenke, J. R.; Lamont, P. S. & Zehr, D. D. 1994.** Importance and quantification of plant tolerance in crop pest management programs for aphids: greenbug resistance in sorghum. *Journal of Agricultural Entomology*, 11(3): 255-270.
436. **Regnault Roger, C. 2012.** Botanicals in Pest Management. En: Abrol, D. P. & Shankar, U. *Integrated Pest Management: Principles and Practice*. Cabi. Cambridge, United Kingdom. Cap. 6: 119-132.f.a
437. **Regnault Roger, C. & Hamraoui, A. 1994.** Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection*, 13(8): 624-628.
438. **Remaudière, G.; Autrique, A.; Eastop, V. F.; Starý, P.; Aymonin, G.; Kafurera, J. & Dedonder, R. 1985.** Ecologie des aphides du Burundi. Dans Remaudière, G. (Ed.). *Contribution à l'écologie des aphides africains (64)*. Organisation des Nations Unies pour L'alimentation et L'agriculture. FAO, Rome, Italie, 214 pp.
439. **Remaudière, G. & Remaudière, M. 1997.** Catalogue des Aphididae du monde/of the world's Aphididae. Homoptera Aphidoidea. Ed. INRA Editions (Techniques et Pratiques). Paris, France, 475 pp.
440. **Renkema, J. M.; Wright, D.; Buitenhuis, R. & Hallett, R. H. 2016.** Plant essential oils and potassium metabisulfite as repellents for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Scientific Reports*, (6:21432): 1-10.
441. **Reyes Guzmán, R.; Borboa Flores, J.; Cinco Moroyoqui, F. J.; Rosas Burgos, E. C.; Osuna Amarillas, P. S.; Wong Corral, F. J.; Ortego Nieblas, M. M. & León Lara, J. D. 2012.** Actividad insecticida de aceites esenciales de dos especies de *Eucalyptus* sobre *Rhyzopertha dominica* y su efecto en enzimas digestivas de progenies. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 18(3): 385-394.
442. **Richards, W. R. 1969.** A review of the Holarctic genus *Roepkea* with descriptions of four new Nearctic species (Homoptera: Aphididae). *The Canadian Entomologist*, 101(11): 1121-1162.
443. **Richards, W. R. 1976.** A host index for species of Aphidoidea described during 1935 to 1969. *The Canadian Entomologist*, 108(5): 499-550.

444. **Ríos, J. L. 2016.** Essential oils: What they are and how the terms are used and defined. En: Preedy, V. R. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Elsevier, London, United Kingdom. Cap. 1: 3-10.
445. **Ripka, G. 2008.** Checklist of the Aphidoidea and Phylloxeroidea of Hungary (Hemiptera: Sternorrhyncha). *Folia Entomologica Hungarica*, 69: 19-157.
446. **Rizvi, S. A. H.; Ling, S.; Tian, F.; Xie, F. & Zeng, X. 2018.** Toxicity and enzyme inhibition activities of the essential oil and dominant constituents derived from *Artemisia absinthium* L. against adult Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Industrial Crops and Products*, 121(1): 468-475.
447. **Roberts, J. J. & Foster, J. E. 1983.** Effect of leaf pubescence in wheat on the bird cherry oat aphid (Homoptera: Aphidae). *Journal of Economic Entomology*, 76(6): 1320-1322.
448. **Robertson, G. W.; Griffiths, D. W.; Birch, A. N. E.; Jones, A. T.; McNicol, J. W. & Hall, J. E. 1991.** Further evidence that resistance in raspberry to the virus vector aphid, *Amphorophora idaei*, is related to the chemical composition of the leaf surface. *Annals of Applied Biology*, 119(3): 443-449.
449. **Rodrigues, S. R.; Ceccon, G.; de Oliveira Junior, O.; Abot, A. R.; Nogueira, G. A. de L. & Correa, A. M. 2012.** Preferência do pulgão preto *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae) por genótipos de feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae). *Bioscience Journal*, 28(5): 678-686.
450. **Rodrigues, S. R.; de Oliveira Junior, O.; Ceccon, G.; Correa, A. M. & Abot, A. R. 2010.** Preferência de *Aphis craccivora* por genótipos de feijão-caupi de porte prostrado, em Aquidauana, MS. *Ceres*, 57(6): 751-756.
451. **Rodríguez, N. & Spada, M. C. 2007.** Morfología de la alfalfa. En: Basigalup, D. H. El cultivo de la alfalfa en Argentina. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 2: 27-44.
452. **Romero, F. 2004.** Manejo integrado de plagas: las bases, los conceptos, su mercantilización. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México, 103 pp.
453. **Rossanigo, R.; Spada, M. C. & Bruno, O. 1995.** Evaluación de cultivares de alfalfa y panorama varietal en la Argentina. En: Hijano, E. H. & Navarro, A. La Alfalfa en la Argentina. INTA, Subprograma Alfalfa. Enciclopedia Agro de Cuyo, Manual N° 11. San Juan, Argentina. Cap. 4: 63-78.
454. **Roumagnac, P.; Granier, M.; Bernardo, P.; Deshoux, M.; Ferdinand, R.; Galzi, S.; Fernández, E.; Julián, C.; Abt, I.; Filloux, D.; Mesléard, F.; Varsani, A.; Blanc, S.; Martin, D. P. & Peterschmitt, M. 2015.** Alfalfa leaf curl virus: An aphid-transmitted geminivirus. *Journal of Virology*, 89(18): 9683-9688.
455. **Ryalls, J. M. W.; Moore, B. D.; Riegler, M.; Gherlenda, A. N. & Johnson, S. N. 2014.** Amino acid-mediated impacts of elevated carbon dioxide and simulated root herbivory on aphids are neutralized by increased air temperatures. *Journal of Experimental Botany*, 66(2): 613-623.

456. **Ryan, M. F. 2002.** Insect Chemoreception. Fundamental and Applied. Kluwer Academic Publishers, London, United Kingdom, 342 pp.
457. **Sadasivam, S. & Thayumanavan, B. 2003.** Molecular Host Plant Resistance to Pests. Marcel Dekker, New York, USA, 496 pp.
458. **Sadeghi, A.; Van Damme, E. J. M. & Smagghe, G. 2009.** Evaluation of the susceptibility of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, to a selection of novel biorational insecticides using an artificial diet. *Journal of Insect Science*, 9(65): 1-8.
459. **Said-Al Ahl, H. A.; Hikal, W. M. & Tkachenko, K. G. 2017.** Essential oils with potential as insecticidal agents: a review. *International Journal of Environmental Planning and Management*, 3(4): 23-33.
460. **Sampson, B. J.; Tabanca, N.; Kirimer, N. E.; Demirci, B.; Baser, K. H. C.; Khan, I. A.; Spiers, J. M. & Wedge, D. E. 2005.** Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). *Pest Management Science*, 61(11): 1122-1128.
461. **Santiago de Santiago, A.; Rodríguez Maciel, J. C.; Bravo Mojica, H., Villegas Monter, Á. & Romero Nápoles, J. 2005.** Producción de inflorescencias y tallos florales de piretro (*Tanacetum coccineum*) en Montecillo, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(3): 279-285.
462. **Sardiña, C.; Diez, M. & Vankeirbilck, I. 2015.** Evaluación de materiales de alfalfa (*Medicago sativa* L.). Memoria técnica. EEA General Villegas. 2013-2014: 102-106.
463. **Sathe, T. V.; Gophane, A. & Shendage, N. 2015.** Colour attractivity and occurrence of some cell sap sucking pests on crop plants. *Biolife*, 3(2): 540-546.
464. **Sayyah, M.; Khodaparast, A.; Yazdi, A. & Sardari, S. 2011.** Screening of the anticonvulsant activity of some plants from Fabaceae family in experimental seizure models in mice. *DARU*, 19(4): 301-305.
465. **Schoonhoven, L. M. & Derksen-Koppers, I. 1976.** Effects of some allelochemicals on food uptake and survival of a polyphagous aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 19(1): 52-56.
466. **Schoonhoven, L. M.; Jermy, T. & van Loon, J. J. A. 1998.** Insect – Plant – Biology. From physiology to evolution. Springer Science + Business Media, B.V. 412 pp.
467. **Shade, R. E., Dosekocil, M. J. & Maxon, N. P. 1979.** Potato Leafhopper Resistance in Glandular-Haired Alfalfa Species. *Crop Science*, 19(2): 287-289.
468. **Shade, R. E. & Kitch, L. W. 1983.** Pea aphid (Homoptera: Aphididae) biology on glandular-haired *Medicago* species. *Environmental Entomology*, 12(1): 237-240.

469. **Shade, R. E.; Thompson, T. E. & Campbell, W. R. 1975.** An alfalfa weevil larval resistance mechanism detected in *Medicago*. *Journal of Economic Entomology*, 68(3): 399-404.
470. **Shambaugh, G. F.; Frazier, J. L.; Castell, A. E. M. & Coons, L. B. 1978.** Antennal sensilla of seventeen aphid species (Homoptera: Aphidinae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 7(5-6): 389-404.
471. **Sharaby, A. & El-Nojiban, A. 2015.** Evaluation of some plant essential oils against the black cutworm *Agrotis ipsilon*. *Global Journal of Advanced Research*, 2(4): 701-711.
472. **Sharaby, A.; Montasser, S. A.; Mahmoud, Y. A. & Ibrahim, S. A. 2012.** Natural plant essential oils for controlling the grasshopper (*Heteracris littoralis*) and their pathological effects on the alimentary canal. *Ecologia Balkanica*, 4(1): 39-52.
473. **Shaaya, E. & Rafaeli, A. 2007.** Essential oils as biorational insecticides—potency and mode of action. En: Ishaaya, I.; Nauen, R. & Horowitz, A. R. *Insecticides design using advanced technologies*. Springer Science+Business Media. Dordrecht, The Netherlands. Cap. 11: 249-261.
474. **Shaaya, E.; Ravid, U.; Paster, N.; Juven, B.; Zisman, U. & Pissarev, V. 1991.** Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *Journal of Chemical Ecology*, 17(3): 499-504.
475. **Shepherd, T.; Robertson, G. W.; Griffiths, D. W. & Birch, A. N. E. 1999.** Epicuticular wax composition in relation to aphid infestation and resistance in red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Phytochemistry*, 52(7): 1239-1254.
476. **Shinoda, T. 1993.** Callose reaction induced in melon leaves by feeding of melon aphid, *Aphis gossypii* Glover, as possible aphid-resistant factor. *Journal of Japanese Applied Animal Entomological Society*, 37(3): 145-152.
477. **Shipunov, A. 2018.** *Systema Angiospermarum*. Disponible en: <http://herba.msu.ru/shipunov/ang/current/syang.pdf>
478. **Short, E. & George, A. 2013.** *A primer of botanical Latin with vocabulary*. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom, 339 pp.
479. **Simmonds, M. S. 2001.** Importance of flavonoids in insect–plant interactions: feeding and oviposition. *Phytochemistry*, 56(3): 245-252.
480. **Simmons, A. T.; Gurr, G. M.; McGrath, D.; Nicol, H. I. & Martin, P. M. 2003.** Trichomes of *Lycopersicon* spp. and their effect on *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Australian Journal of Entomology*, 42(4): 373-378.
481. **Simmons, A. T.; McGrath, D. & Gurr, G. M. 2005.** Trichome characteristics of F 1 *Lycopersicon esculentum* × *L. cheesmanii* f. *minor* and *L. esculentum* × *L. pennellii* hybrids and effects on *Myzus persicae*. *Euphytica*, 144(3): 313-320.

482. **Simpson, S. J.; Abisgold, J. D. & Douglas, A. E. 1995.** Response of the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) to variation in dietary levels of sugar and amino acids: the significance of amino acid quality. *Journal of Insect Physiology*, 41(1): 71-75.
483. **Singh, D. 2014.** *Advances in Plant Biopesticides*. Springer Science + Business Media, India, 407 pp.
484. **Singh, D.; Siddiqui, M. S. & Sharma, S. 1989.** Reproduction retardant and fumigant properties in essential oils against rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat. *Journal of Economic Entomology*, 82(3): 727-732.
485. **Singh, R. & Singh, G. 2017.** Updated checklist of host plants of Calaphidinae (Aphididae: Hemiptera) in India. *International Journal of Contemporary Research and Review*, 8(2): 20171-20190.
486. **Singh, R.; Singh, G.; Singh, K. & Sharma, A. 2016.** Biodiversity of Aphids (Insecta: Homoptera: Aphididae) Infesting Legumes (Angiospermae: Fabales: Fabaceae) in India. *International Journal of Research Studies in Zoology*, 2(1): 30-44.
487. **Singh, R.; Upadhyay, B. S.; Singh, D. & Chaudhary, H. C. 1999.** Aphids (Homoptera: Aphididae) and their parasitoids in north-eastern Uttar Pradesh. *Journal of Aphidology*, 13: 49-62.
488. **Small, E. 2011.** *Alfalfa and relatives: evolution and classification of Medicago*. NRC Research Press. Ottawa, Canada, 727 pp.
489. **Smith, B. E.; Richards, R. L. & Newton, W. E. 2013.** *Catalysts for nitrogen fixation: nitrogenases, relevant chemical models and commercial processes*. Vol. 1. Springer Science + Business Media, B.V. 340 pp.
490. **Smith, C. M. 2005.** *Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches*. Springer Science + Business Media, B.V. Dordrecht, The Netherlands, 423 pp.
491. **Snelling, R. O. 1941.** Resistance of plants to insect attack. *The Botanical Review*, 7(10): 543-586.
492. **Soil Survey Staff, 1999.** *Soil Taxonomy; a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys*, 2<sup>nd</sup> Ed. USDA, Washington, USA, 886 pp.
493. **Song, N.; Liang, A. P. & Bu, C. P. 2012.** A molecular phylogeny of Hemiptera inferred from mitochondrial genome sequences. *PLoS ONE*, 7(11): e48778.
494. **Sorensen, J. T.; Campbell, B. C.; Gill, R. J. & Steffen-Campbell, J. D. 1995.** Non-monophyly of Auchenorrhyncha (Homoptera), based upon 18S rDNA phylogeny: eco-evolutionary and cladistic implications within pre-Heteropteroidea Hemiptera (S. L.) and a proposal for new monophyletic suborders. *The Pan-Pacific Entomologist*, 71(1): 31-60.
495. **Soroka, J. & Otani, J. 2011.** *Arthropods of Legume Forage Crops*. En: Floate, K. D. *Arthropods of Canadian Grasslands (Volume 2): Inhabitants of a Changing Landscape*. Biological Survey of Canada. Ottawa. Canada. Cap. 10: 239-264.

496. **Soto, P. O.; Jahn, E. B.; Maldonado, I. I. & Rodríguez, N. S. 2000.** Recuperación de una pradera de alfalfa (*Medicago sativa* L.) mediante fertilización en diferentes condiciones de nivel freático en el suelo. *Agricultura Técnica*, 60(3): 236-250.
497. **Southwood, T. R. E. & Henderson, P. A. 2000.** *Ecological methods*, 3<sup>rd</sup> Ed. Blackwell Science Ltd. London, United Kingdom, 575 pp.
498. **Spada, M. C. 2007.** Evaluación de cultivares y panorama varietal. En: Basigalup, D. H. *El cultivo de la alfalfa en Argentina*. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. Cap. 7: 131-151.
499. **Spiller, N. J.; Koenders, L. & Tjallingii, W. F. 1990.** Xylem ingestion by aphids—a strategy for maintaining water balance. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 55(2): 101-104.
500. **Srivastava, P. N.; Lambein, F. & Auclair, J. L. 1988.** Nonprotein amino acid-aphid interaction: Phagostimulatory effects and survival of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 48(2): 109-115.
501. **Stanford, E. H. 1951.** Tetrasomic Inheritance in Alfalfa 1. *Agronomy Journal*, 43(5): 222-225.
502. **Stanford, E. H.; Clement, W. M. & Bingham, E. T. 1972.** Cytology and evolution of the *Medicago sativa-falcata* complex. En: Hanson, C. H. *Alfalfa Science and Technology*. Agronomy Monograph N° 15. Ed. American Society of Agronomy. Madison, USA. Cap. 4: 87-101.
503. **Starks, K. J. & Weibel, D. E. 1981.** Resistance in bloomless and sparse-bloom sorghum to greenbugs. *Environmental Entomology*, 10(6): 963-965.
504. **Starý, P.; Rodríguez, F. & Remaudière, G. 1994.** Asociación planta-áfido-parasitoide (Hom., Aphidoidea; Hym., Aphidiidae), en la zona central de Chile. *Agricultura Técnica*, 54(1): 46-53.
505. **Stekolshchikov, A. V. & Novgorodova, T. A. 2015.** A preliminary review of aphid fauna (Homoptera, Aphidoidea) of the Altai Republic. *Euroasian Entomological Journal*, 14(2): 171-187.
506. **Stochmal, A. & Oleszek, W. 2007.** Seasonal and structural changes of flavones in alfalfa (*Medicago sativa*) aerial parts. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5(2): 170-174.
507. **Stochmal, A.; Piacente, S.; Pizza, C.; De Riccardis, F.; Leitz, R. & Oleszek, W. 2001a.** Alfalfa (*Medicago sativa* L.) flavonoids. 1. Apigenin and luteolin glycosides from aerial parts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2): 753-758.
508. **Stochmal, A.; Simonet, A. M.; Macias, F. A. & Oleszek, W. 2001b.** Alfalfa (*Medicago sativa* L.) flavonoids. 2. Tricin and chrysoeriol glycosides from aerial parts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11): 5310-5314.

509. **Stoner, K. A. 1992.** Density of imported cabbageworms (Lepidoptera: Pieridae), cabbage aphids (Homoptera: Aphididae), and flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) on glossy and trichome-bearing lines of *Brassica oleracea*. *Journal of Economic Entomology*, 85(3): 1023-1030.
510. **Stratakos, A. C. & Koidis, A. 2016.** Methods for extracting essential oils. En: Preedy, V. R. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier, London, United Kingdom. Cap. 4: 31-38.
511. **Suehiro, A. 1960.** Insects and other arthropods from Midway Atoll. *Proceedings, Hawaiian Entomological Society*, XVII(2): 289-298.
512. **Sulistyo, A. & Inayati, A. 2016.** Mechanisms of antixenosis, antibiosis, and tolerance of fourteen soybean genotypes in response to whiteflies (*Bemisia tabaci*). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 17(2): 447-453.
513. **Summers, C. G. 1998.** Integrated pest management in forage alfalfa. *Integrated Pest Management Reviews*, 3: 127-154.
514. **Summers, C. G; Godfrey, L. D. & Natwick, E. T. 2008.** Managing insect in alfalfa. En: Summers, C. G. & Putnam, D. H. *Irrigated alfalfa management for Mediterranean and desert zones (Vol. 3512)*. University of California Agriculture and Natural Resources Publications 8295. Cap. 9: 168-188.
515. **Suttie, J. M. 2003.** Conservación de heno y paja para pequeños productores y en condiciones pastoriles. Colección FAO: Producción y protección vegetal N° 29. Roma, Italia, 322 pp. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/007/x7660s/x7660s00.htm>
516. **Szpeiner, A. 2008.** Aphididae (Hemiptera) en plantas ornamentales de Córdoba (Argentina). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 67(1-2): 49-56.
517. **Tafolla Arellano, J. C.; Báez Sañudo, R. & Tiznado Hernández, M. E. 2018.** The cuticle as a key factor in the quality of horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 232: 145-152.
518. **Tagu, D.; Calevro, F.; Colella, S.; Gabaldón, T. & Sugio, A. 2016.** Functional and evolutionary genomics in aphids. En: Vilcinskis, A. *Biology and Ecology of Aphids*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Ratón. Cap. 3: 52-88.
519. **Taiz, L. & Zeiger, E. 2002.** *Plant Physiology* 3<sup>rd</sup> Ed. Sinauer Associates, Sunderland, USA, 690 pp.
520. **Tang, L.; Sun, Y. Y.; Zhang, Q. P.; Zhou, Y.; Zhang, N. & Zhang, Z. X. 2013.** Fumigant activity of eight plant essential oils against workers of red imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *Sociobiology*, 60(1): 35-40.
521. **Tapia, E. A. 1969.** Pulgones (Homoptera) en alfalfares argentinos. Instituto de Patología Vegetal (CNIA). INTA, Hoja Informativa N° 37.
522. **Tapia, E. A. 1972.** Pulgones hallados en los distintos cultivos de la provincia de La Pampa. IDIA Argentina, Suplemento 28. *Jornada Fitosanitaria 1971*:151-157.

523. **Tapia, E. A. 1975.** Clave para determinar a los principales pulgones que atacan los cultivos de importancia económica en la Argentina. IDIA Argentina, 328-330: 34-51.
524. **Tava, A.; Odoardi, M. & Oleszek, W. 1999.** Seasonal changes of saponin content in five alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars. Agricultura Mediterranea, 129(2/3): 111-116.
525. **Tayoub, G.; Abu Alnaser, A. & Ghanem, I. 2012.** Toxicity of two essential oils from *Eucalyptus globulus* Labill and *Origanum syriacum* L. on larvae of khapra beetle. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 2(2): 240-245.
526. **Teixeira, M. L.; Cardoso, M. D. G.; Figueiredo, A. C. S.; Moraes, J. C.; Assis, F. A.; de Andrade, J.; Nelson, D. L.; de Souza Gomes, M.; Aparecida de Souza, J. & Marques de Albuquerque, L. R. 2014.** Essential oils from *Lippia origanoides* Kunth. and *Mentha spicata* L.: chemical composition, insecticidal and antioxidant activities. American Journal of Plant Sciences, 5(9): 1181-1190.
527. **Tesfaye, M.; Silverstein, K. A. T.; Bucciarelli, B.; Samac, D. A. & Vance, C. P. 2006.** The Affymetrix *Medicago* GeneChip® array is applicable for transcript analysis of alfalfa (*Medicago sativa*). Functional Plant Biology, 33(8): 783-788.
528. **Thomas, M. & Waage, J. 1996.** Integration of biological control and host plant resistance breeding. A scientific and literature review. Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation, Wageningen, The Netherlands, 99 pp.
529. **Thompson, G. A. & Goggin, F. L. 2006.** Transcriptomics and functional genomics of plant defence induction by phloem-feeding insects. Journal of Experimental Botany, 57(4): 755-766.
530. **Thompson, K. F. 1963.** Resistance to the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) in Brassica plants. Nature, 198(4876): 209.
531. **Thornhill, A. H. & Crisp, M. D. 2012.** Phylogenetic assessment of pollen characters in Myrtaceae. Australian Systematic Botany, 25(3): 171-187.
532. **Tiffin, P. 2000.** Mechanisms of tolerance to herbivore damage: what do we know? Evolutionary Ecology, 14(4-6): 523-536.
533. **Tjallingii W. F. 1994.** Sieve element acceptance by aphids. European Journal Entomology, 91(1):47-52.
534. **Tjallingii, W. F. 2006.** Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. Journal of Experimental Botany, 57(4): 739-745.
535. **Tjallingii, W. F. & Hogen Esch, T. 1993.** Fine structure of aphid stylet routes in plant tissues in correlation with EPG signals. Physiological Entomology, 18(3): 317-328.
536. **Toenshoff, E. R.; Gruber, D. & Horn, M. 2012.** Co-evolution and symbiont replacement shaped the symbiosis between adelgids (Hemiptera: Adelgidae) and their bacterial symbionts. Environmental Microbiology, 14(5): 1284-1295.

537. **Tomova, B. S.; Waterhouse, J. S. & Doberski, J. 2005.** The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(1): 153-159.
538. **Tripathi, A. K.; Upadhyay, S.; Bhuiyan, M. & Bhattacharya, P. R. 2009.** A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 1(5): 52-63.
539. **Trivedi, A.; Nayak, N. & Kumar, J. 2018.** Recent advances and review on use of botanicals from medicinal and aromatic plants in stored grain pest management. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(3): 295-300.
540. **Trongtokit, Y.; Rongsriyam, Y.; Komalamisra, N. & Apiwathnasorn, C. 2005.** Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*, 19(4): 303-309.
541. **Tsumuki, H.; Kanehisa, K. & Kawada, K. 1989.** Leaf surface wax as a possible resistance factor of barley to cereal aphids. *Applied Entomology and Zoology*, 24(3): 295-301.
542. **Turek, C. & Stintzing, F. C. 2013.** Stability of essential oils: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(1): 40-53.
543. **Tutin, T. G.; Heywood, V. H.; Burges, N. A.; Moore, D. M.; Valentine, D. H., Walters, S. M. & Webb, D. A. 1996.** *Flora Europaea* vol 2: Rosaceae-Umbelliferae. Ed. Press Syndicate of the University of Cambridge. Cambridge, United Kingdom, 469 pp.
544. **Uritu, C. M.; Mihai, C. T.; Stanciu, G. D.; Dodi, G.; Alexa Stratulat, T.; Luca, A.; Leon Constantin, M. M.; Stefanescu, R.; Bild, V.; Melnic, S. & Tamba, B. I. 2018.** Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: a review. *Pain Research and Management*, 2018: 1-44.
545. **USDA. 2016.** *Crop Production 2015 Summary*. Washington, USA, 100 pp.
546. **Valles, S. M.; Bell, S. & Firth, A. E. 2014.** *Solenopsis invicta* virus 3: mapping of structural proteins, ribosomal frameshifting, and similarities to *Acyrtosiphon pisum* virus and *Kelp fly* virus. *PLoS ONE*, 9(3): e93497.
547. **van den Bosch, R. 1978.** *The Pesticide Conspiracy*. Doubleday & Company, New York, USA, 226 pp.
548. **van den Heuvel, J. F. J. M.; Hummelen, H.; Verbeek, M.; Dullemans, A. M. & van der Wilk, F. 1997.** Characteristics of *Acyrtosiphon pisum* virus, a newly identified virus infecting the pea aphid. *Journal of Invertebrate Pathology*, 70(3): 169-176.
549. **van Emden, H. F. 2007.** Host-plant resistance. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. *Aphids as Crops Pest*. Cabi. London, United Kingdom. Cap. 17: 447-468.

550. **van Giessen, W. A.; Fescemyer, H. W.; Burrows, P. M.; Peterson, J. K. & Barnett, O. W. 1994.** Quantification of electroantennogram responses of the primary rhinaria of *Acyrtosiphon pisum* (Harris) to C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> primary alcohols and aldehydes. *Journal of Chemical Ecology*, 20(4): 909-927.
551. **van Rijn, P. C.; Mollema, C. & Steenhuis-Broers, G. M. 1995.** Comparative life history studies of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. *Bulletin of Entomological Research*, 85(2): 285-297.
552. **Veerisetty, V. & Brakke, M. K. 1977.** Alfalfa latent virus, a naturally occurring carlavirus in alfalfa. *Phytopathology*, 67(10): 1202-1206.
553. **Vieira, D. L.; de Souza, G. M. M.; de Oliveira, R.; de Oliveira Barbosa, V.; de Luna Batista, J. & Pereira, W. E. 2013.** Aplicação de óleos comerciais no controle ovicida de *Aleurocanthus woglumi* Asbhy. *Bioscience Journal*, 29(5): 1126-1129.
554. **Vieira, M. M. 2013.** Pragas Agrícolas, ornamentais e florestais para as quais se admite o uso de produtos fitofarmacêuticos em Portugal. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia*, 227(13): 213-256.
555. **Vieira, P. C.; Mafezoli, J. & Biavatti, M. W. 2001.** Inseticidas de origem vegetal. En: Ferreira, J. T. B.; Correa, A. G. & Vieira, P. C. *Produtos Naturais no controle de insetos*. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil. 23-46.
556. **Vilca, K. & Reyes, E. 1999.** Identificación de áfidos (Homoptera: Aphididae) y sus parasitoides en el Callejón de Huaylas, Ancash, Perú. *Revista Peruana de Entomología*, 41: 57-60.
557. **Vilca Mallqui, K. & Vergara Cobián, C. 2011.** Los áfidos (Hemiptera: Aphididae) en el Callejón de Huaylas-Ancash, Perú. *Ecología Aplicada*, 10 (2): 93-98.
558. **Villaverde, J.; Jaime, A. P. & Martín, G. O. 2009.** Principales insectos perjudiciales y benéficos presentes en el cultivo de la alfalfa (*Medicago sativa* L.) en Trancas, Tucumán. *Avances en la Producción Vegetal y Animal del NOA 2007-2009*. 525-532.
559. **Vincini, A. M.; López A. N. & Sisti, D. 1984.** El “pulgón manchado de la alfalfa” (Monell, 1882) (Homoptera: Aphididae) nueva plaga para los alfalfares argentinos. *Boletín Técnico de la Experimental Regional Agropecuaria del INTA de Balcarce*, 94: 1-7.
560. **Völkl, W.; Mackauer, M.; Pell, J. K & Brodeur, J. 2007.** Predators, Parasitoids and Pathogens. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. *Aphids as Crops Pest*. Cabi. London, United Kingdom. Cap. 8: 187-233.
561. **Völlinger, M. 1995.** Studies of the probability of development of resistance of *Plutella xylostella* to neem products. En: Schmutterer, H. *The Neem Tree Azadirachta indica A. Juss. and Other Meliaceous Plants: Source of Unique Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes*. VCH Verlagsgesellschaft mbH. Weinheim Federal Republic of Germany. Cap. 4.3: 477-483.

562. **von Dohlen, C. D. & Moran, N. A. 1995.** Molecular phylogeny of the Homoptera: A Paraphyletic Taxon. *Journal of Molecular Evolution*, 41(2): 211-223.
563. **Wang, C.; Ma, B. L.; Han, J.; Wang, Y.; Gao, Y.; Hu, X. & Zhang, C. 2008.** Photoperiod effect on phytochrome and abscisic acid in alfalfa varieties differing in fall dormancy. *Journal of Plant Nutrition*, 31(7): 1257-1269.
564. **Wang, K.; Tang, L.; Zhang, N.; Zhou, Y.; Li, W.; Li, H.; Cheng, D. & Zhang, Z. 2014.** Repellent and fumigant activities of *Eucalyptus globulus* and *Artemisia carvifolia* essential oils against *Solenopsis invicta*. *Bulletin of Insectology*, 67(2): 207-211.
565. **Wang, Y.; Sheng, L.; Zhang, H.; Du, X.; An, C.; Xia, X.; Chen, F; Jiang, J. & Chen, S. 2017.** *CmMYB19* over-expression improves aphid tolerance in Chrysanthemum by promoting lignin synthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(619): 1-13.
566. **Weathersbee III, A. A. & Hardee, D. D. 1994.** Abundance of cotton aphids (Homoptera: Aphididae) and associated biological control agents on six cotton cultivars. *Journal of Economic Entomology*, 87(1): 258-265.
567. **Weathersbee III, A. A.; Hardee, D. D. & Meredith Jr, W. R. 1995.** Differences in yield response to cotton aphids (Homoptera: Aphididae) between smooth-leaf and hairy-leaf isogenic cotton lines. *Journal of Economic Entomology*, 88(3): 749-754.
568. **Wei, H.; Zhikuan, J. & Qingfang, H. 2007.** Effects of herbivore stress by *Aphis medicaginis* Koch on the Malondialdehyde contents and the activities of protective enzymes in different alfalfa varieties. *Acta Ecologica Sinica*, 27(6): 2177-2183.
569. **Wensler, R. J. 1977.** The fine structure of distal receptors on the labium of the aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera). *Cell and Tissue Research*, 181(3): 409-422.
570. **Wensler, R. J. D. 1962.** Mode of host selection by an aphid. *Nature*, 195(4843): 830-861.
571. **Wensler, R. J. & Filshie, B. K. 1969.** Gustatory sense organs in the food canal of aphids. *Journal of Morphology*, 129(4): 473-491.
572. **Webster, B.; Bruce, T.; Dufour, S.; Birkemeyer, C.; Birkett, M.; Hardie, J. & Pickett, J. 2008.** Identification of volatile compounds used in host location by the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Journal of Chemical Ecology*, 34(9): 1153-1161.
573. **Webster, J. A.; Inayatullah, C.; Hamissou, M. & Mirkes, K. A. 1994.** Leaf pubescence effects in wheat on yellow sugarcane aphids and greenbugs (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 87(1): 231-240.
574. **Weibull, J. 1994.** Glutamic acid content of phloem sap is not a good predictor of plant resistance to *Rhopalosiphum padi*. *Phytochemistry*, 35(3): 601-602.

575. **White, G. B. 2006.** Terminology of insect repellents. En: Debboum, M.; Frances, S. P. & Strickman, D. Insect repellents: principles, methods and uses. CRC Press, Boca Raton, USA. Cap. 2: 31-46.
576. **White, C. & Eigenbrode, S. D. 2000.** Effects of surface wax variation in *Pisum sativum* on herbivorous and entomophagous insects in the field. Environmental Entomology, 29(4): 773-780.
577. **Wilson, J. & Close, R. C. 1973.** Subterranean clover red leaf virus and other legume viruses in Canterbury. New Zealand Journal of Agricultural Research, 16(3): 305-310.
578. **Wilson, M. C. & Davis, R. L. 1952.** Insect Problems that Develop on Alfalfa Following Treatment with Certain Insecticides. The Ohio Journal of Science, 52(6): 343-348.
579. **Wilson, P. G. 2011.** Myrtaceae. En: Kubitzki, K. The families and genera of vascular plants, Vol X. Flowering Plants. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. Ed. Springer Science & Business Media, Berlin, Germany. 212-271.
580. **Wilson, P. G.; O'Brien, M. M.; Heslewood, M. M. & Quinn, C. J. 2005.** Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a *matK* phylogeny. Plant Systematics and Evolution, 251(1): 3-19.
581. **Wink, M.; Hartmann, T.; Witte, L. & Rheinheimer, J. 1982.** Interrelationship between quinolizidine alkaloid producing legumes and infesting insects: exploitation of the alkaloid-containing phloem sap of *Cytisus scoparius* by the broom aphid *Aphis cytisorum*. Zeitschrift für Naturforschung C, 37(11-12): 1081-1086.
582. **Wójcicka, A. 2016.** Effect of epicuticular waxes from triticale on the feeding behaviour and mortality of the grain aphid, *Sitobion avenae* (Fabricius) (Hemiptera: Aphididae). Journal of Plant Protection Research, 56(1): 39-44.
583. **Wojciechowski, M. F.; Lavin, M. & Sanderson, M. J. 2004.** A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *matK* gene resolves many well-supported subclades within the family. American Journal of Botany, 91(11): 1846-1862.
584. **Wratten, S. D.; Gurr, G. M.; Tylianakis, J. M. & Robinson, K. A. 2007.** Cultural Control. En: van Emden, H. F. & Harrington, R. Aphids as Crops Pest. Cabi. London, United Kingdom. Cap.16: 423-445.
585. **Wysocki, M. 1996.** Problems and trends of agricultural entomology at the end of the 2<sup>nd</sup> millennium. In Proceedings of the XX International Congress of Entomology, 39-44.
586. **Yazdgerdian, A. R.; Akhtar, Y. & Isman, M. B. 2015.** Insecticidal effects of essential oils against woolly beech aphid, *Phyllaphis fagi* (Hemiptera: Aphididae) and rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Entomology and Zoology Studies, 3(3): 211-217.

587. **Yi, C. G.; Choi, B. R.; Park, H. M.; Park, C. G. & Ahn, Y. J. 2006.** Fumigant toxicity of plant essential oils to *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) and *Orius strigicollis* (Heteroptera: Anthocoridae). *Journal of Economic Entomology*, 99(5): 1733-1738.
588. **Yu, S. J. 1987.** Microsomal oxidation of allelochemicals in generalist (*Spodoptera frugiperda*) and semispecialist (*Anticarsia gemmatalis*) insect. *Journal of Chemical Ecology*, 13(3): 423-436.
589. **Yuegao, H. & Cash, D. 2009.** Global status and development trends of alfalfa. En: Cash, D. *Alfalfa management guide for Ningxia. Developing modern and sustainable alfalfa production systems in the Ningxia Hui Autonomous Region.* Beijing, People's Republic of China. Cap. 1: 1-14.
590. **Zhang, S.; Shi, Y.; Cheng, N.; Du, H.; Fan, W. & Wang, C. 2015.** De novo characterization of fall dormant and nondormant alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf transcriptome and identification of candidate genes related to fall dormancy. *PLoS ONE*, 10(3): e0122170.
591. **Zumoffen, L.; Salto, C. E. & Signorini, M. 2010.** Alfalfa (*Medicago sativa* L.) como reservorio de insectos entomófagos. *Revista FAVE - Ciencias Agrarias*, 9(1-2): 73-82.
592. **Zumoffen, L.; Rodríguez, M.; Gerding, M.; Salto, C. E. & Salvo, A. 2015.** Plantas, áfidos y parasitoides: interacciones tróficas en agroecosistemas de la provincia de Santa Fe, Argentina y clave para la identificación de los Aphidiinae y Aphelinidae (Hymenoptera) conocidos de la región. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 74(3-4): 133-144.
593. **Zunino, M. P.; Areco, V. A. & Zygadlo, J. A. 2012.** Insecticidal activity of three essential oils against two new important soybean pests: *Sternechus pinguis* (Fabricius) and *Rhyssomatus subtilis* Fiedler (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(3): 269-277.
594. **Zúñiga, E. S. & Aguilera, A. P. 1989.** Presencia del pulgón manchado *Therioaphis trifolii* (Monell) (Homoptera: Aphididae) en Chile; características y generalidades sobre su control. *Agricultura Técnica*, 49(2): 164-168.
595. **Zuparko, R. L. & Dahlsten, D. L. 1994.** Host plant resistance and biological control for linden aphids. *Journal of Arboriculture*, 20(5): 278-281.
596. **Zwölfer, H. 1958.** Zur Systematik, Biologie und Ökologie unterirdisch lebender Aphiden (Homoptera, Aphidoidea) (Anoeciinae, Tetraneurini, Pemphigini und Fordinae). *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 40(4): 528-575.
597. **Zytynska, S. E. & Weisser, W. 2016.** The effect of plant within-species variation on aphid ecology. En: Vilcinskas, A. *Biology and Ecology of Aphids.* CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Ratón, USA. Cap. 8: 152-170.