



**MAÍZIFICANDO  
CONCIENCIA**  
XII CONGRESO NACIONAL DE MAÍZ

Eje

# Protección del cultivo

8, 9 y 10 de Noviembre  
Pergamino, BA  
UNNOBA



Secretaría de Agricultura,  
Ganadería y Pesca  
Ministerio de Economía  
Argentina

20  
22





# EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA Y COMPORTAMIENTO ALIMENTICIO DEL PLANTHOPPER DELPHACODES KUSCHELI FRENTE A DIFERENTES HÍBRIDOS DE MAÍZ

**Andrada N.L.<sup>1,2</sup>; Carpane P.D.<sup>3</sup>; Catalano M.I.<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> Centro de BioInvestigaciones (Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires-CICBA), Pergamino, Buenos Aires, Argentina E-mail: [Nicolasandrada59@gmail.com](mailto:Nicolasandrada59@gmail.com)/[nlandrada@comunidad.unnoba.edu.ar](mailto:nlandrada@comunidad.unnoba.edu.ar)

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones y Transferencias del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (CITNOBA-CONICET), Pergamino, Buenos Aires, Argentina E-mail: [mariainescatalano@gmail.com](mailto:mariainescatalano@gmail.com)

<sup>3</sup> Bayer CropScience, Fontezuela, Buenos Aires, Argentina E-mail: [pablo.carpane@bayer.com](mailto:pablo.carpane@bayer.com)

## RESISTANCE EVALUATION AND FEEDING BEHAVIOR OF THE PLANTHOPPER *Delphacodes kuscheli* AGAINST DIFFERENT MAIZE HYBRIDS.

### Abstract

Maize is one of the most important crops in the world. In this sense, corn surveillance is a very important field. The planthopper *Delphacodes kuscheli*, is the main vector of the Mal de Rio Cuarto virus, an important corn disease in Argentina. This work aimed to determine the insect preference between four different maize hybrids and the probing behavior in two contrasting hybrids. Non-inoculative adult females had access to hybrids DK390, DK670, DK79-10, and DK72-10 for the preference part, and DK670, DK72-10, and oat were used for the probing behavior experiments. Here we showed that *D. kuscheli* had a preference for DK72-10 over other hybrids. The test of probing behavior demonstrated that *D. kuscheli* had problems attaining phloem ingestion, constituting a mechanism of plant resistance to this insect species. These results are useful information to characterize maize hybrids resistance to *D. kuscheli* and consequently to Mal de Rio Cuarto disease.

### Palabras claves

*Delphacodes kuscheli*, maíz, preferencia, resistencia, mal de Río Cuarto

### Keywords

*Delphacodes kuscheli*, maize, preference, resistance, mal de Rio cuarto



## Introducción

El maíz (*Zea mays*) es uno de los cereales de mayor importancia a nivel mundial, en particular en el continente americano con una producción anual de cinco millones de toneladas (Dowswell et al., 2019; Paliwal, 2001). En Argentina, la producción maicera ocupa el primer o segundo lugar dependiendo de las campañas (BCR, 2020; Storti, 2019). Aproximadamente el 80 % de esta producción se concentra en las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe, aunque también es relevante en Santiago del Estero, Entre Ríos, La Pampa y Chaco. Para mejorar el rendimiento de maíz se han obtenido híbridos adaptados a diferentes condiciones ambientales o resistentes a determinadas enfermedades o plagas.

Los insectos son actores relevantes en el cultivo del maíz (Hellmich et al., 2008), de hecho, muchas especies son plagas de este cultivo y reducen el rendimiento a través de daños mecánicos por alimentación u oviposición, pero principalmente al ser vectores de patógenos. Dentro de los insectos vectores, *Delphacodes kuscheli* Fennah (Hemiptera: Delphacidae) es una de las especies más relevantes al ser el principal vector del virus causal del Mal de Río Cuarto (Grilli & Estallo, 2006; Virla & Lenicov, 2000), causando grandes pérdidas económicas en la producción de maíz (Costamagna et al., 2005). La infección por el virus de Mal de Río Cuarto causa un desbalance hormonal y acumulación de azúcares en las hojas en la planta, produciendo acortamiento de nudos, disminución de la producción de granos y generando una proliferación tumoral en las nervaduras (Llauger et al., 2021).

La mayor parte de la selección para obtener híbridos resistentes (Ellis, 1996) a enfermedades se realiza bajo infestaciones naturales, lo que no permite distinguir si los mecanismos de resistencia operan contra el insecto vector o hacia el virus. Como el virus de Mal de Río Cuarto es transmitido durante la alimentación de *D. kuscheli*, es necesario comprender el rol que cumple este insecto en la determinación de resistencia por parte del cultivo. Los mecanismos de resistencia hacia insectos fueron descritos primeramente por Painter (1951). En antixenosis se denota la presencia de factores morfológicos o químicos del huésped (planta) que reducen la aceptación por parte de los insectos, resultando en su salida para buscar una planta hospedante alternativa (Smith et al., 1993). El término antibiosis se define como la influencia negativa del huésped sobre el crecimiento y desarrollo de los insectos (Sharma et al., 2005). Estos mecanismos de preferencia (antixenosis) y sobrevivencia (antibiosis) se han estudiado para *Nilaparvata lugens* en arroz (Smith et al., 1993), *Dalbulus maidis* en maíz (Carpane, 2007; Oleszczuk et al., 2020) y *D. kuscheli* en líneas de maíz y cultivares de avena (Costamagna et al., 2005). En el presente trabajo se propuso estudiar la resistencia de diferentes genotipos de maíz hacia el insecto vector *D. kuscheli*. Para ello se realizaron estudios de preferencia, supervivencia y comportamiento alimentario de este insecto.

## Materiales y Métodos

### **Mantenimiento de la población de *Delphacodes kuscheli***

Los ejemplares de *D. kuscheli* sanos (no portadores de MRCV), se obtuvieron a partir de una colonia establecida en el Centro de Bioinvestigaciones (UNNOBA-CICBA). Estos se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura (25°C), humedad relativa (70-80%) y fotoperiodo (16:8 hs. de luz-oscuridad), en jaulas de varillas de aluminio cubiertas con tela de malla fina, alimentándose de plantas de avena.



### **Preferencia (Antixenosis) en distintos híbridos de maíz**

Se utilizaron 4 híbridos de maíz (DK670, DK72-10, DK79-10, DK390), siendo los dos primeros seleccionados en la región endémica de Mal de Río Cuarto y los otros en regiones sin presencia de esta enfermedad. Se evaluó la preferencia en los estadios fenológicos V1, V2 y V4. Para ello se colocó una planta de cada híbrido bajo una campana, en la que se liberaron 6 hembras adultas. Se registró la cantidad de insectos posados en cada híbrido a las 1, 6, 24, 30 y 48 horas. Cada campana se consideró una repetición, se efectuaron 16 repeticiones.

### **Supervivencia (Antibiosis) en distintos híbridos de maíz**

El material biológico utilizado fue igual al descrito para los experimentos de preferencia. Se colocaron cuatro hembras adultas en cada planta en estadio fenológico V1 y se registró el número de insectos vivos a los 1, 2, 3, 4 y 5 días. Cada jaula individual conteniendo una planta de uno de los 4 híbridos se consideró como una repetición.

### **Comportamiento alimenticio**

Dos híbridos de maíz fueron utilizados en este experimento: DK670 y DK72-10, debido a que difirieron en los ensayos mencionados arriba. Se usó avena como control. El comportamiento alimenticio de *D. kuscheli* se evaluó utilizando la técnica de EPG (Electrical Penetration Graph), usando el equipo Giga-8dd EPG-DC (EPG Systems, Wageningen, The Netherlands). Este equipo permite evaluar el comportamiento alimenticio de ocho insectos en simultáneo. Se utilizaron hembras adultas que fueron anestesiadas colocándolas en tubos de vidrio mantenidos en hielo por 30 minutos. Los insectos inmovilizados de esta forma se colocaron sobre una placa de Petri para unir su escutelo a un hilo de oro de 2-3 centímetros de largo y 18  $\mu\text{m}$  de diámetro con pintura de plata conductiva, bajo lupa estereoscópica. El otro extremo del hilo de oro se pegó, a través de un cable de cobre, a un clavo posicionado dentro de cada cabezal del equipo. Por otro lado, un electrodo de cobre de 2 mm de diámetro se colocó en la tierra de la maceta que contiene la planta. Las plantas se colocaron dentro de la jaula de Faraday y se utilizó un tubo de cartón para plegar la hoja y así facilitar la alimentación del insecto. Las corridas de EPG se realizaron durante 20 horas a 25 °C y humedad relativa del 70 %. Las ondas generadas se identificaron visualmente y se clasificaron con el programa Stylet+, relacionándose las ondas con las siguientes actividades durante la alimentación: np (sin actividad), C (actividad en mesófilo), E1 (salivación en floema), E2 (ingestión de floema) y G (ingestión de xilema). Las secuencias de ondas se guardaron como archivos ANA en Stylet+, calculándose diversas variables de comportamiento alimenticio según Giordanengo (2014).

### **Diseño experimental y análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se usó el módulo de modelos lineales generalizados mixtos en software Infostat (Di Rienzo et al., 2020) ajustado por el paquete nnet con lenguaje R (R core team, 2018). En el ensayo de preferencia, el diseño estadístico fue en bloques completamente aleatorizados (DBCA). Las variables evaluadas fueron el número de insectos posados en cada híbrido a lo largo del tiempo. Los efectos fijos fueron el híbrido, el momento desde el inicio del ensayo y su interacción. En el ensayo de supervivencia, el diseño estadístico utilizado fue completamente aleatorizado (DCA). La variable evaluada fue el número máximo de días en que se observaron insectos vivos en cada híbrido. En el ensayo de comportamiento alimenticio se utilizó la distribución de Poisson para conteos y Gamma para duraciones según la variable evaluada.



## Resultados

### Preferencia en los distintos híbridos de maíz

En el ensayo de preferencia en distintos híbridos de maíz (Figura 1A) se obtuvieron diferencias significativas en el efecto híbrido ( $p < 0.0001$ ), como su interacción con el efecto de momento desde el inicio del ensayo ( $p < 0.001$ ), pero no del momento de liberación ( $p = 0.9488$ ). El efecto del híbrido se observó que la preferencia mantenía la siguiente secuencia (de mayor a menor preferencia) DK72-10 > DK79-10 > DK390 > DK670. El efecto de la interacción de los híbridos y momento muestra diferencias significativas con respecto al híbrido DK79-10 respecto a los demás, disminuyendo su preferencia a medida que transcurre el ensayo hasta su finalización.

### Supervivencia en los distintos híbridos de maíz

Hubo diferencias significativas ( $p < 0.0001$ ) en relación a la cantidad de días en que se observaron insectos vivos (Figura 1B). Los insectos sobrevivieron en promedio 3.9 días sobre DK72-10, mientras que en los demás híbridos se observó una menor supervivencia, sin diferencias estadísticas entre ellos.

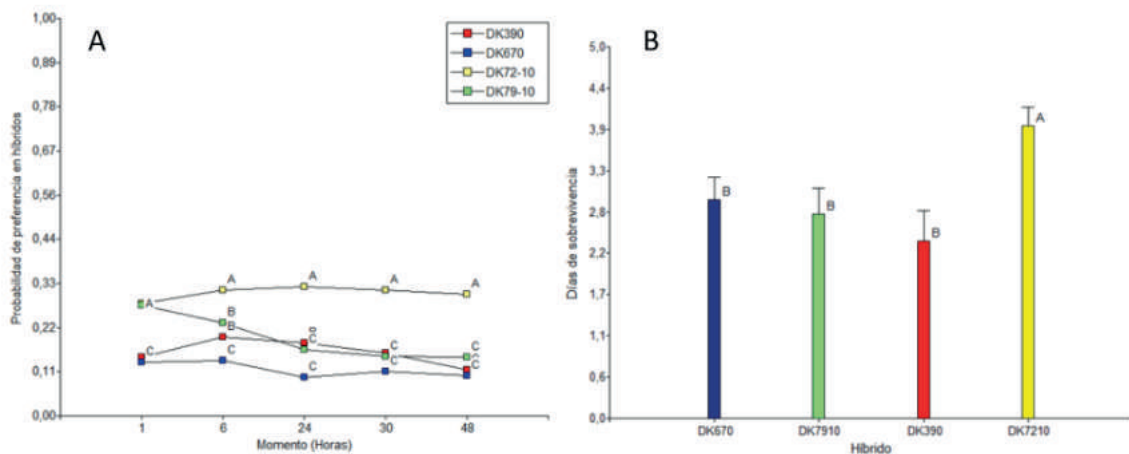


Figura 1A: Preferencia (probabilidad de tener insectos posados) en distintos híbridos a lo largo del tiempo. B: Supervivencia (días) de insectos en distintos híbridos. Los valores que comparten la misma letra no son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia de 5%.

### Comportamiento alimenticio

En base a los datos previos se escogieron los híbridos DK670 y DK72-10 (de comportamiento contrastante, a pesar de ser ambos seleccionados en la región endémica de Mal de Río Cuarto) para los experimentos de preferencia alimenticia de *D. kuscheli*. Los ensayos de EPG mostraron las mismas ondas identificadas en estudios anteriores (Figura 2) y se clasificaron en ingestión de floema, ingestión de xilema, salivación en floema y actividad en mesófilo.

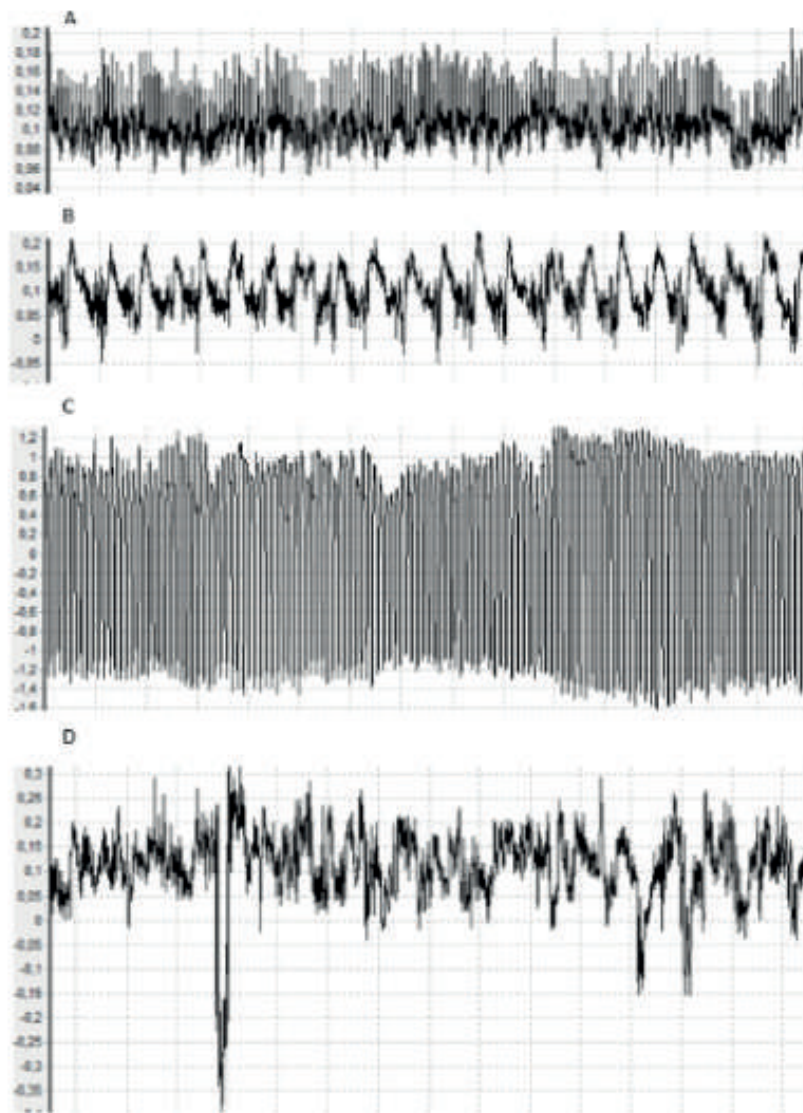


Figura 2. Muestras de ondas representativas obtenidas en ensayos de EPG. A: ingestión de floema. B: salivación en floema. C: ingestión de xilema. D: inserción de estiletes en mesófilo.

La Figura 3 y la Tabla 1 muestran variables del comportamiento alimenticio de *D. kuscheli*, observándose diferencias significativas entre genotipos. Ambos híbridos de maíz fueron menos aceptados para la alimentación que avena, siendo esta tendencia más marcada en DK670 que en DK72-10. En comparación a los otros genotipos, se infiere que DK670 mostró resistencia basada en epidermis-mesófilo al tener un menor tiempo total de alimentación, mayor cantidad de períodos de alimentación antes de conectar floema y más períodos breves de alimentación (Tabla 1). Adicionalmente, se infiere la presencia de resistencia en floema, ya que no hubo ingestión de floema en este híbrido (Figura 3).

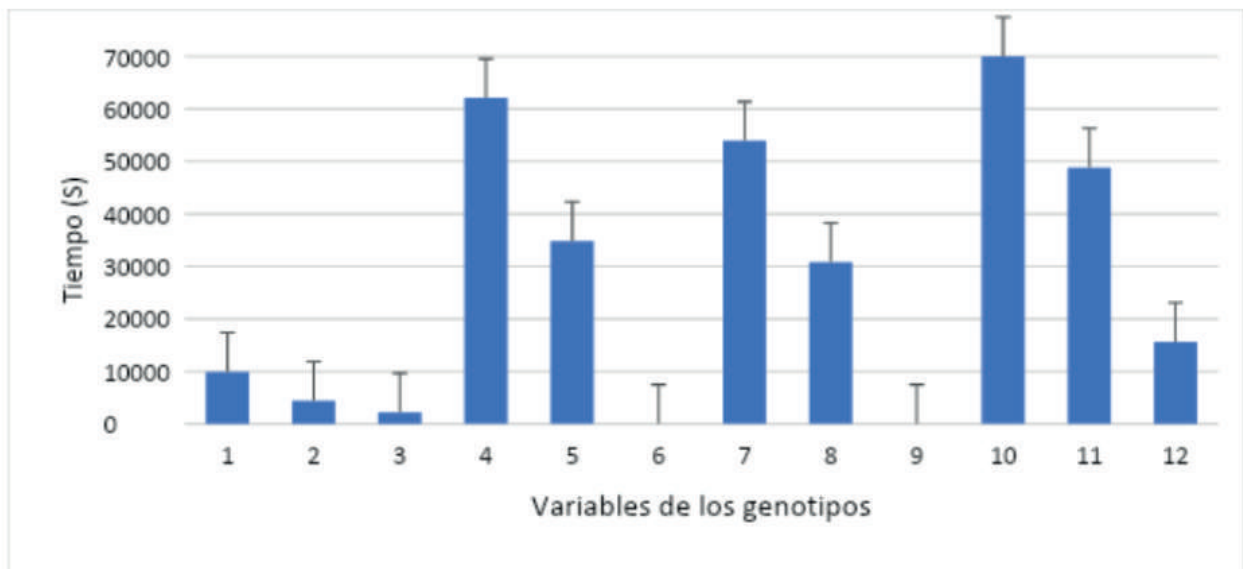


Figura 3: Variables de comportamiento alimenticio en cada genotipo evaluado. S\_E1: Tiempo total de salivación en floema. S\_E12: Duración del tiempo de salivación más el tiempo de ingestión en floema. S\_E2: Tiempo total de ingestión en floema. S\_Pr: tiempo total de alimentación.

Por su parte, DK72-10 mostró un comportamiento intermedio entre DK670 (el más resistente) y la avena (el huésped más preferido de los incluidos en este ensayo). Esto se manifestó en el tiempo total de alimentación y el tiempo de ingestión en floema (Figura 3).

Variable	Avena			DK72-10			DK670		
n_bPr	0,5	0,5	B	3,0	0,8	A	2,3	0,5	A
n_C	6,4	1,2	B	12,9	1,7	A	6,0	0,9	B
n_G	2,8	0,9	A	3,7	1,2	A	1,2	0,5	B
n_E1	19,4	0,9	A	11,3	2,9	B	3,2	0,9	C
n_Pr_1E	1,1	0,2	C	3,3	3,0	B	12,3	2,7	A

Tabla 1. Variables de comportamiento alimenticio (Número de períodos, medias +/- error estándar) en cada genotipo. n\_bPr: períodos breves de alimentación. n\_C: alimentación en mesófilo. n\_G: ingestión en xilema. n\_E1: salivación en floema. n\_Pr\_1E: eventos antes del primer evento en floema. Genotipos que comparten letra en cada variable no difirieron estadísticamente ( $p=0.05$ ).

## Discusión

Los resultados obtenidos en los ensayos con los híbridos evaluados corroboran que existe antixenosis y antibiosis hacia los insectos, lo que redujo su preferencia y supervivencia en relación al híbrido DK72-10. De igual modo, trabajos realizados en trigo en *D. kuscheli* (Brentassi et al., 2007) y el pulgón *Sipha maydis* (Saldúa, 2011) encontraron antixenosis y antibiosis en algunos genotipos evaluados. En base a los resultados obtenidos en este trabajo, el orden de resistencia hacia los híbridos por antibiosis frente a *D. kuscheli* se definió como: DK390=DK79-10=DK670>DK72-10 y por antixenosis fue de DK670=DK390=DK79-10>DK72-10, concordando que el híbrido DK72-10 fue el más susceptible al insecto en ambos parámetros evaluados.

Con respecto al comportamiento alimenticio de *D. kuscheli*, se confirmó que la avena es más





preferida que el maíz (Brentassi et al., 2019), y además que *D. kuscheli* pudo alimentarse en DK72-10, no así en DK670. Estos resultados coinciden ya que, según los valores obtenidos, la mejor calidad de la planta es para la avena y la menor calidad es para el híbrido DK670. Esto sugeriría que la inoculación del patógeno MRCV no sería exitosa en este híbrido. Futuras pruebas con insectos inoculativos podrían corroborar esta hipótesis, aunque los resultados de este trabajo son de por sí una herramienta inicial valiosa para identificar genotipos resistentes a *D. kuscheli* y consecuentemente a la virosis del Mal de Río Cuarto.



## Referencias bibliográficas

- BCR. (2020). Producción y destino del maíz 2019/20 en Argentina. Revista Chacra. <https://www.revistachacra.com.ar/nota/32944-produccion-y-destino-del-maiz-2019-20-en-argentina/>
- Brentassi, M. E., Machado-Assefh, C. R., y Alvarez, A. E. (2019). The probing behaviour of the planthopper *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae) on two alternating hosts, maize and oat. *Austral Entomology*, 58(3), 666–674.
- Carpane, P. D. (2007). Host Resistance and Diversity of *Spiroplasma kunkelii* as Components of Corn Stunt Disease. <https://shareok.org/handle/11244/6730>
- Costamagna, A. C., de Remes Lenicov, A. M. M., y Zanelli, M. (2005). Maize and oat antixenosis and antibiosis against *Delphacodes kuscheli* (Homoptera: Delphacidae), vector of “Mal de Rio Cuarto” of maize in Argentina. *Journal of Economic Entomology*, 98(4), 1374–1381.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F, Balzarini M.G, Gonzalez L, Tablada M, y Robledo C.W. (2020). Infostat (No. 2020).
- Dowswell, C. R., Paliwal, R. L., y Cantrell, R. P. (2019). Maize in the Third World. In *Maize in the Third World*. CRC Press.
- Ellis, P. R. (1996). Host plant resistance to insects By N. Panda and G.S. Khush. (Wallingford: CAB International, 1995). *Bulletin of Entomological Research*, 86(3), 315–315.
- Giordanengo, P. (2014). EPG-Calc: A PHP-based script to calculate electrical penetration graph (EPG) parameters. *Arthropod-Plant Interactions*, 8(2), 163–169.
- Grilli, M. P., y Gorla, D. E. (2002). Variación geográfica de la abundancia poblacional de *Delphacodes kuscheli* (Fennah) en la región central de Argentina. *Ecología Austral*, 12(2), 187–195.
- Hellmich, R. L., Albajes, R., Bergvinson, D., Prasifka, J. R., Wang, Z.-Y., y Weiss, M. J. (2008). The Present and Future Role of Insect-Resistant Genetically Modified Maize in IPM. Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops within IPM Programs, 119–158. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8373-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8373-0_5)
- Oleszczuk, J. D., Catalano, M. I., Dalaisón, L., di Rienzo, J. A., de la Paz Giménez Pecci, M., y Carpane, P. (2020). Characterization of components of resistance to Corn Stunt disease. *PLOS ONE*, 15(10), e0234454. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0234454>
- Painter, R. H. (1951). Insect Resistance in Crop Plants. *Soil Science*, 72(6), 481.
- Paliwal, R. (2001). El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. Fao. <https://doi.org/Deposito de Documentos de la FAO>.
- Remes Lenicov, A., Paradell, S., y Catalano, M. (2006). Hemípteros auquenorrincos asociados al cultivo de sorgo en la Argentina (INSECTA-HEMIPTERA). *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, ISSN 1669-2314, Vol. 35, No. 2, 2006, 35.
- Sharma, H. C., Stevenson, P. C. S. and Gowda, C. L. L. (2005). *Heliothis/Helicoverpa* Management: Emerging Trends and Prospects for Future Research. *Heliothis/Helicoverpa Management*, 465–474. <https://doi.org/10.1201/9781482280340-26>
- Smith, C., Khan, Z., y Pathak, M. (1993). Techniques for evaluating insect resistance in crop plants.
- Storti, L. (2019). Elaborado con la información disponible a enero de 2019-AÑO 4-Nº 41. [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sspmicro\\_cadenas\\_de\\_valor\\_maiz.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sspmicro_cadenas_de_valor_maiz.pdf)
- Virla, E. G., y Lenicov, A. M. M. D. R. (2000). Presencia del vector Mal de Rio *Delphacodes kuscheli*. In *Acta Zoológica Lilloana*.