

# Aspectos ecológicos y moleculares de la interacción entre áfidos y sus plantas hospederas

Ecological and molecular aspects of the interaction between aphids  
and their host plants

HERMANN M. NIEMEYER

Laboratorio de Química Ecológica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,  
Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

## RESUMEN

Los metabolitos secundarios de plantas pueden actuar sobre los insectos como alomonas (compuestos defensivos) o como kairomonas (compuestos utilizados por el insecto para encontrar su planta hospedera). En este trabajo se discuten ejemplos de ambas clases de compuestos, con énfasis en el papel que juegan los ácidos hidroxámicos de los cereales en la resistencia a los áfidos. Estos compuestos son tóxicos para los áfidos e inhiben su alimentación, previniendo así la transmisión de virus. Se discuten interpretaciones moleculares de la toxicidad de los ácidos hidroxámicos.

**Palabras claves:** Afidos, trigo, ácidos hidroxámicos, resistencia, metabolitos secundarios.

## ABSTRACT

Secondary metabolites from plants may act on insects as allomonas (defensive compounds) or as kairomones (compounds used by insects in host finding). In this paper, examples of both classes of compounds involved in aphid-plant interactions are discussed. Emphasis is given to the role of hydroxamic acids in cereals as resistance factors towards aphids. These compounds are deleterious to aphids through direct toxicity and feeding deterrence, and may prevent virus transmission. Molecular interpretations of the toxicity of hydroxamic acids are discussed.

**Key words:** Aphids, wheat, hydroxamic acids, resistance, secondary metabolites.

## INTRODUCCION

Las plantas, ya sea en comunidades naturales o agrícolas, son visitadas, normalmente, por muchas especies de insectos herbívoros. Sin embargo, sólo una pequeña fracción de estos visitantes llega a establecer asociaciones tróficas duraderas con ellas.

Entre las barreras existentes en las plantas capaces de impedir estas asociaciones se encuentran algunas características morfológicas como tricomas, ceras, cutículas y espinas. Otros factores en las plantas que tienden a impedir las asociaciones tróficas duraderas con insectos es la desaparición espacial o temporal del eventual hospedero, y la producción por parte de él de los llamados metabolitos secundarios.

Los metabolitos secundarios (alcaloides, terpenoides, flavonoides, taninos, ácidos

hidroxámicos, etc.) son compuestos de distribución limitada entre los vegetales y frecuentemente de escaso valor para su sobrevivencia fuera del contexto ecológico. En contraste, los metabolitos primarios (carbohidratos, aminoácidos, bases púricas y pirimidínicas, etc.) son ubicuos y cumplen papeles vitales en todos los organismos.

En tanto la naturaleza de los metabolitos primarios es bastante uniforme, la diversidad de metabolitos secundarios es enorme. La función fisiológica de estos últimos es en gran medida desconocida. Su función ecológica, en cambio, es ampliamente reconocida. En el contexto de la teoría de la coevolución de plantas e insectos fitófagos, los compuestos secundarios cumplirían primariamente funciones de defensa, en cuyo caso se les denomina *alomonas*. La adaptación de herbívoros especialistas habría resultado no sólo de

la evolución de mecanismos de detoxificación de alomonas o comportamiento destinado a evitarlas, sino también de mecanismos que las convierten en *cairomonas*, o sustancias claves utilizadas por el insecto para encontrar a la planta hospedera o para ovipositar. En consecuencia, muchos metabolitos secundarios actúan como alomonas para la mayor parte de los herbívoros simpátricos, y como cairomonas para unos pocos oligófagos asociados con la planta que produce el compuesto.

Los ejemplos de compuestos aleloquímicos que serán comentados más adelante provienen del subconjunto de las interacciones entre plantas y áfidos (Homoptera: Aphididae).

#### *Modo de alimentación de los áfidos*

Los áfidos tienen un modo particular de encontrar su planta hospedera y de alimentarse (Fig. 1). La llegada a un área con hospederos potenciales es un evento azaroso en el que la influencia del viento es de primordial importancia. En el entorno inmediato de plantas potencialmente hospederas, la orientación visual y la olfativa jugarían un papel más importante.

A su llegada a la planta, los áfidos utilizan los estiletos de su aparato bucal para penetrar en los tejidos, en forma intra o intercelular, dependiendo de la naturaleza de la planta hospedera y del áfido o biotipo de áfido en cuestión, en

búsqueda de su lugar más frecuente de alimentación, el floema (Pollard 1973).

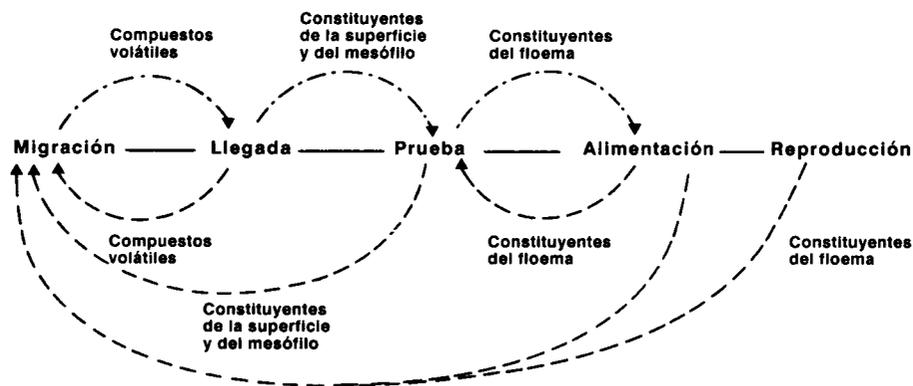
Durante esta búsqueda, el áfido secreta por el canal de salivación dos tipos de saliva: una que se endurece formando una vaina que acusa el paso del aparato bucal por el tejido vegetal, y otra, más acuosa, que contiene numerosas enzimas que contribuyen al proceso de búsqueda del floema y a la transformación del material ingerido (Miles 1978, 1990). La ingesta recorre el canal alimenticio pasando por el órgano epifaríngeo, en cuyas papilas se localiza el sentido del gusto (Wensler & Filshie 1969, McLean & Kinsey 1985).

Una vez que el áfido logra encontrar el floema, y siempre que no detecte compuestos tóxicos en él, se reproduce, con una fecundidad que depende del valor nutricional del fluido floemático, medido por la composición y la concentración de la mezcla de aminoácidos presentes (Weibull 1988, Wiktelius *et al.* 1990).

#### *Interacciones planta-áfido: papel de los metabolitos secundarios*

La Tabla 1 muestra algunos casos extraídos de la literatura en los que están involucrados metabolitos secundarios en interacciones entre plantas y áfidos.

Los glucósidos cianogénicos producidos por el género *Prunus*, hospedero primario del áfido *Rhopalosiphum padi*, actúan como cairomonas hacia las hembras aladas



**Fig. 1:** Conducta alimentaria de un áfido, respecto de los metabolitos secundarios en una planta potencialmente hospedera.

Feeding behavior of an aphid in relation to the secondary metabolites in a potential host plant.

TABLA 1

Clases de metabolitos secundarios de plantas involucrados en interacciones  
áfido-planta

Classes of plant secondary metabolites involved in aphid-plant interactions.

Compuestos	Planta	Afido	Referencia
<b>CAIROMONAS</b>			
Glucósidos cianogénicos	<i>Prunus</i>	<i>Rhopalosiphum padi</i>	Pettersson 1971, Leather 1986
Glucosinolatos	<i>Brassica</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	Pettersson 1973, Wensler 1962
Glicósidos cardíacos	Asclepiadaceae	<i>Lipaphis erysimi</i>	Gill & Bakhetia 1985
Alcaloides quinolizidínicos	<i>Cytisus</i>	<i>Aphis nerii</i>	Rothschild <i>et al.</i> , 1970
	<i>Cytisus</i>	<i>Acyrtosiphon spartii</i>	Smith 1966
	<i>Lupinus</i>	<i>Aphis cytisorum</i>	Wink <i>et al.</i> , 1982
		<i>Macrosiphum albifrons</i>	Wink & Romer 1986
<b>ALOMONAS</b>			
Alcanos	<i>Vicia</i>	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Klingauf <i>et al.</i> , 1978
Dicetonas	<i>Triticum</i>	<i>Sitobion avenae</i>	Lowe <i>et al.</i> , 1985
Fenoles	<i>Vicia, Beta</i>	<i>Aphis fabae</i>	Jordens-Röttger 1979
Florizina	<i>Malus</i>	<i>Aphis pomi</i>	Montgomery & Arn 1974
Alcaloides	<i>Nicotiana</i>	<i>Rhopalosiphum maidis</i>	Abernathy & Thurston 1969
2-Tridecanona	<i>Lycopersicon</i>	<i>Aphis gossypii</i>	Williams <i>et al.</i> , 1980
E-β-Farneseno	<i>Solanum</i>	<i>Myzus persicae</i>	Lapointe & Tingey 1986, Avé <i>et al.</i> , 1987
Alcaloides quinolizidínicos	<i>Lupinus</i>	<i>A. pisum</i>	Wegorek & Krzymanska 1971
Alcaloides indólicos	<i>Hordeum</i>	<i>Schizaphis graminum, R. padi</i>	Zúñiga <i>et al.</i> , 1988
Compuestos fenólicos	<i>Malus</i>	<i>Eriosoma lanigerum</i>	Sen Gupta & Miles 1975
	<i>Rosa</i>	<i>Macrosiphum rosae</i>	Miles 1985
	<i>Populus</i>	<i>Pemphigus betae</i>	Zucker 1982
Cumarinas	<i>Vicia</i>	<i>Aphis craccivora</i>	Mansour <i>et al.</i> , 1982
Ácidos hidroxámicos	Gramineae	<i>Metopolophium dirhodum,</i> <i>S. graminum, S. avenae,</i> <i>R. padi, R. maidis</i>	Niemeyer 1988a, Leszczynski <i>et al.</i> , 1989

que los utilizan para encontrar la planta donde ovipositarán (Pettersson 1970, Leather 1986). Un caso similar es el de los glucosinolatos presentes en el género *Brassica* con respecto al áfido *Brevicoryne brassicae* (Wensler 1962, Pettersson 1973).

Los alcaloides quinolizidínicos producidos por algunas leguminosas juegan un doble papel. Como cairomonas, beneficiarían al áfido *Aphis cytisorum*, especie monófaga que se alimenta exclusivamente de la leguminosa *Cytisus scoparius*, proveyéndolo de un mecanismo de defensa contra algunos de sus predadores, ya que los alcaloides ingeridos por el áfido son tóxicos para aquéllos. La capacidad del áfido de incorporar los alcaloides es, sin embargo, limitada, y se alimenta preferentemente de aquellas plantas con niveles

intermedios de alcaloides (Wink *et al.* 1982). Como alomonas, confieren a la planta resistencia contra áfidos polífagos. Es el caso de especies del género *Lupinus*, ricas en alcaloides, que no son infestadas por el áfido *Acyrtosiphon pisum* (Wegorek & Krzymanska 1971).

El áfido *Aphis nerii* se alimenta exclusivamente de plantas de la familia Asclepiadaceae, caracterizadas por la producción de glucósidos cardíacos. Estos compuestos, altamente tóxicos para la mayor parte de los animales, proveen al áfido de un mecanismo de defensa contra algunos de sus predadores habituales (Botha *et al.* 1977).

Entre las alomonas nombradas en la Tabla 1 se encuentra el E-β-farneseno, producido por los tricomas glandulares de especies silvestres del género *Solanum*

(Lapointe & Tingey 1986, Avé *et al.* 1987). Este compuesto es producido también por el áfido *Myzus persicae*, que lo utiliza como feromona de alarma, es decir, como medio de advertencia a sus conoespecíficos de la presencia de peligros. Constituye así una excelente defensa de la planta contra el áfido, ya que altera su comportamiento (Gibson & Pickett 1983).

Otros compuestos de plantas que han sido relacionados con su resistencia a áfidos son algunos componentes de la cera epicuticular, tales como la 2-tridecanona (Williams *et al.* 1980), y algunos alcanos (Klingauf *et al.* 1978), alcoholes (Dillwith & Berberet, 1990) y dicetonas (Lowe *et al.* 1985), y componentes internos tales como alcaloides indólicos (Zúñiga *et al.* 1988), cumarinas (Mansour *et al.* 1982), compuestos fenólicos (Sen Gupta & Miles 1975, Miles 1985, Zucker 1982) y ácidos hidroxámicos (Niemeyer 1988a).

#### *Los áfidos como plagas de cultivos*

Un factor importante que determina la capacidad de los áfidos de convertirse en plaga, es su modo de reproducción, que incluye viviparí y partenogénesis telotóquica, condiciones que permiten crecimiento exponencial de la población.

Los áfidos provocan daño en las plantas, pues son capaces de inocular toxinas a través de la saliva, debilitan a la planta al succionar nutrientes de ella, y su excreta azucarada, llamada mielecilla, representa un excelente medio de cultivo para hongos fitopatógenos (Schepers 1989). Adicionalmente, los áfidos son frecuentemente portadores de virus, que inoculan en la planta, ya sea durante el contacto con su aparato bucal o durante la ingestión del líquido floemático.

Uno de los cultivos de mayor importancia en Chile y en el mundo es el trigo. Las pérdidas causadas por áfidos hicieron crisis en los cultivos de trigo en Chile en los años 70, pero han disminuido considerablemente en los últimos años, debido, en parte, a programas de control biológico por eficientes parasitoides y predadores de áfidos que han logrado reducir notablemente las

poblaciones de éstos (Zúñiga 1985, Gerding *et al.* 1989b).

Si bien es cierto que las poblaciones actuales de áfidos no provocan un daño directo significativo, la transmisión de virus, en especial del virus del enanismo amarillo de la cebada (VEAC), sigue siendo un problema potencial (Gerding *et al.* 1989a).

Los metabolitos secundarios de plantas, cuando actúan como factores defensivos, pueden ser en principio manipulados por fitomejoradores para generar plantas con barreras químicas contra la colonización por áfidos. Estas barreras naturales representarían alternativas ecológicamente inofensivas y económicas al uso de pesticidas sintéticos. Este enfoque depende de que la participación del metabolito secundario en cuestión sea demostrada, que la interacción insecto-planta sea comprendida a nivel molecular, y que exista germoplasma adecuado para incorporar o aumentar, en variedades agrónomicamente aceptables, los niveles del metabolito en cuestión. Además, si el problema del fitomejoramiento se enfoca desde el punto de vista de la bioingeniería, se deben conocer los genes involucrados en la acumulación (biosíntesis *vs.* degradación) de las alomonas específicas y la fisiología génica asociada.

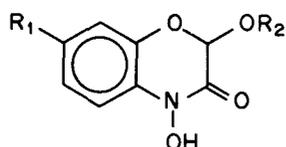
#### *Los ácidos hidroxámicos en las interacciones entre trigo y áfidos*

Uno de los ejemplos mejor descritos de metabolitos secundarios de plantas involucrados en interacciones áfido-planta son los ácidos hidroxámicos (Hx) (Niemeyer 1988a) (Fig. 2). Los compuestos son acumulados por la planta como glucósidos, que sufren hidrólisis por endoglucosidasas cuando el tejido vegetal es dañado (Hofman & Hofmanová 1969).

Los ácidos hidroxámicos fueron descubiertos hace más de tres décadas en relación con enfermedades fúngicas del centeno (Virtanen & Hietala 1960). Más tarde fueron encontrados en el maíz y asociados a la resistencia de éste hacia el taladrador europeo del maíz, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Estos estudios dieron

origen a programas de fitomejoramiento, que condujeron a cultivares de maíz con niveles altos de ácidos hidroxámicos que

eran resistentes a la alimentación foliar de la primera generación del taladrador (Grombacher *et al.* 1989, Guthrie *et al.* 1986).



R<sub>1</sub> = H, CH<sub>3</sub>O  
 R<sub>2</sub> = H, glucosilo  
 DIMBOA: R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>O, R<sub>2</sub> = H  
 DIBOA: R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H

Fig. 2: Principales ácidos hidroxámicos (Hx) de las gramíneas. DIMBOA = 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona.

Main hydroxamic acids (Hx) in the Gramineae. DIMBOA = 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one.

El primer trabajo que relacionó los niveles de ácidos hidroxámicos con la resistencia a áfidos se refirió al áfido *Rhopalosiphum maidis* (Long *et al.* 1977). Se describieron correlaciones inversas entre las poblaciones de áfidos y los niveles de ácidos hidroxámicos en las plantas, en condiciones tanto de invernadero como de campo (Beck *et al.* 1983). Trabajos realizados durante la última década, que correlacionan el desempeño de áfidos en cereales y en gramíneas silvestres con los niveles de ácidos hidroxámicos en la planta, han corroborado las proposiciones anteriores. La Figura 3 resume las correlaciones obtenidas.

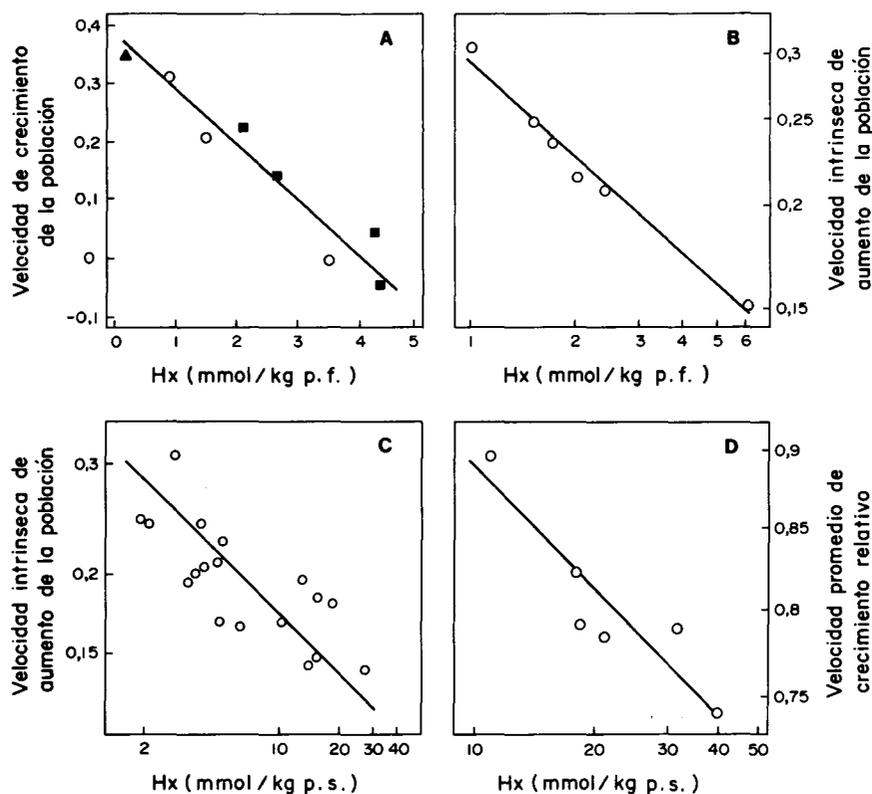


Fig. 3: Efecto de la concentración de ácidos hidroxámicos en plantas de gramíneas sobre el crecimiento poblacional de distintas especies de áfidos (A = *Metopolophium dirhodum*, B = *Sitobion avenae* y C = *S. avenae*) o el aumento de peso de áfidos individuales (D = *S. avenae*). A: ▲ = cebada; o = trigo; ■ = centeno). Las referencias se encuentran en el texto.

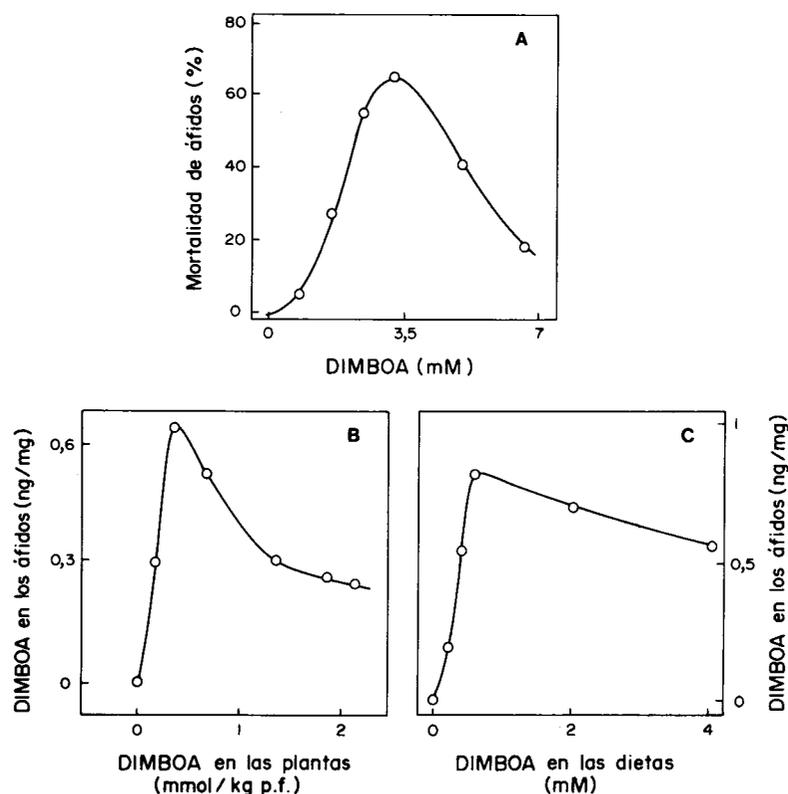
Effect of hydroxamic acid concentrations in graminaceous plants on the population growth of different aphid species (A = *Metopolophium dirhodum*, B = *Sitobion avenae* and C = *S. avenae*) or on weight increase of individual aphids (D = *S. avenae*). A: ▲ = barley; o = wheat; ■ = rye). References are found in the text.

nidas con diversos áfidos utilizando parámetros basados en la longevidad y capacidad reproductora de los áfidos, tales como la velocidad de crecimiento poblacional (Argandoña *et al.* 1980, Corcuera *et al.* 1982) y la velocidad intrínseca de crecimiento natural,  $r_m$  (Bohidar *et al.* 1986, Thackray *et al.* 1990a), o basados en el aumento de peso de los áfidos, como la velocidad promedio de crecimiento relativo (Thackray *et al.* 1990b). Dos de estas correlaciones incluyen taxa tan diferentes como cebada, centeno y trigo (Fig. 3A) o trigos tetraploides y hexaploides como *Triticum durum*, *T. polonicum*, *T. dicoccum* y *T. aestivum* (Fig. 3B).

La incorporación de la 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona (DIMBOA), el principal ácido hidroxámico presente en extractos de trigo y maíz, en hojas desprendidas de plantas de cebada que no contenían originalmente Hx, y la deter-

minación del desempeño de *Metopolophium dirhodum* en ellas, condujo a una correlación lineal similar (Argandoña *et al.* 1980). Más aún, la sobrevivencia de *M. dirhodum*, *R. maidis* y *Schizaphis graminum* alimentados con dietas artificiales disminuyó en la medida que la concentración de DIMBOA en la dieta aumentó (Corcuera *et al.* 1982). Este conjunto de pruebas dio credibilidad a la hipótesis de que los Hx eran efectivamente los agentes responsables de las correlaciones de la Figura 3.

Cuando individuos de *S. graminum* fueron alimentados por un corto tiempo en dietas con concentraciones diferentes de DIMBOA y luego trasladados a una dieta sin DIMBOA, se obtuvo una curva bifásica de mortalidad en función de la concentración de DIMBOA en la solución inicial (Fig. 4A) (Argandoña *et al.* 1983). Estos resultados sugirieron que a



**Fig. 4:** Efecto de la concentración de DIMBOA en dietas (A, C) o en plántulas de trigo (B) sobre distintos parámetros determinados en áfidos que se alimentaron en ellas.

Effect of DIMBOA concentration in diets (A, C) or in wheat seedlings (B) on different aphid parameters.

concentraciones relativamente bajas de DIMBOA en la dieta, el compuesto era ingerido inadvertidamente por los áfidos causándoles efectos tóxicos, en tanto que a concentraciones mayores el compuesto era percibido y rechazado. Eventualmente, a concentraciones altas de DIMBOA los áfidos morirían por inanición. El DIMBOA exhibiría, entonces, un efecto antialimentario. Otros experimentos dieron apoyo a esta hipótesis. Las curvas de mortalidad como función del tiempo para dietas con concentraciones altas de DIMBOA y para ausencia de dieta resultaron comparables (Argandoña *et al.* 1983). Por otra parte, cuando se alimentó *Sitobion avenae* en plantas de trigo y en dietas con contenidos diferentes de DIMBOA, se encontraron curvas de concentración de DIMBOA en los áfidos, en función de la concentración de Hx en las plantas o en las dietas, similares a la anterior (figuras 4B y 4C) (Niemeyer *et al.* 1989). El efecto antialimentario también se reflejó en la preferencia del áfido *R. padi* por los cultivares con contenidos más bajos de DIMBOA (Givovich & Niemeyer 1991).

Una manera de estudiar en forma más fina la naturaleza de la acción antialimentaria de un metabolito secundario contra áfidos, es a través de los gráficos de electropenetración.

Cuando un áfido prueba en el tejido vegetal la presencia de saliva y savia vegetal, ambas eléctricamente conductoras, hace posible incluir al áfido dentro de un circuito eléctrico. El sistema consiste en dos electrodos, uno adherido al dorso del áfido y otro introducido en el sustrato donde crece la planta; un sistema intercalado de generación de potencial, y otro de amplificación y registro de la señal generada. El sistema permite conocer con bastante exactitud y confiabilidad la actividad alimentaria desarrollada por el áfido (Tjallingi, 1990). Se logran distinguir, entre otras, las siguientes actividades: contacto de los estiletes con la epidermis de la planta, trabajo mecánico de los estiletes en los tejidos vegetales, producción de la vaina salivaria, producción de saliva acuosa dentro de los elementos cribosos, ingestión pasiva desde elementos cribosos e ingestión activa desde el xilema.

Los gráficos de electropenetración realizados con el áfido *R. padi* mostraron que un menor número de áfidos llegaba al floema dentro de un período de tiempo determinado, y en un mayor tiempo (Figura 5A) cuando estaban sobre un cultivar de trigo con alto contenido de Hx que cuando estaban en uno con bajo contenido. Por otra parte, en los cultivares con alto contenido de Hx se ob-

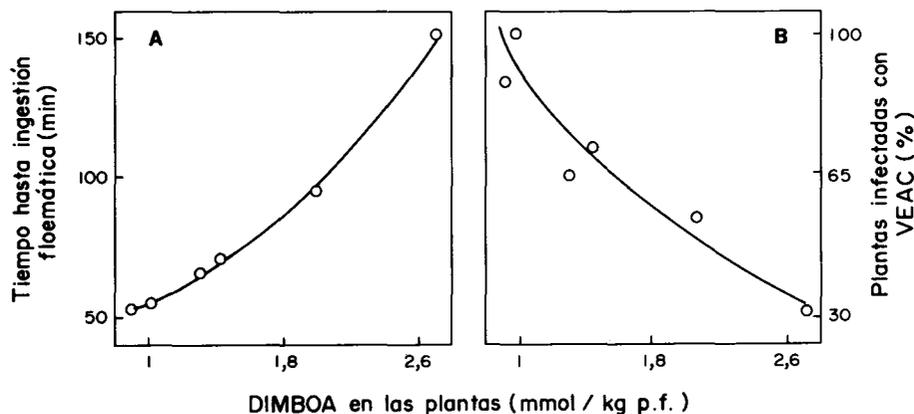


Fig. 5: Efecto de la concentración de DIMBOA en plantas de trigo sobre los tiempos transcurridos hasta la observación de ingestión floemática por el áfido *R. padi* (A) y el porcentaje de plantas infectadas con virus del enanismo amarillo de la cebada por áfidos portadores de virus (B).

Effect of DIMBOA concentration in wheat seedlings on time elapsed until phloem feeding by the aphid *R. padi* was observed (A) and on the percentage of plants infected by viruliferous aphids with barley yellow dwarf virus (B).

servó mayor ingestión xilemática que en los con bajo contenido de Hx, consecuencia probablemente de la incapacidad del áfido para llegar a su lugar habitual de alimentación (Givovich & Niemeyer 1991). Otros parámetros no experimentaron variación significativa en relación con la concentración de Hx en la planta. Los datos sugirieron que el áfido percibe la presencia de Hx en el camino hacia el floema. Se mostró, además, que el tiempo que el áfido permanece alimentándose en el floema era independiente del nivel de Hx determinado en la planta total. El efecto tóxico del DIMBOA se debería, entonces, a su ingestión antes de llegar al floema, o al efecto acumulativo de concentraciones bajas de Hx en el floema, incapaces de ejercer una acción antialimentaria.

El efecto antialimentario del DIMBOA abre la posibilidad de que los niveles de Hx en la planta guarden relación con la facilidad con que los áfidos logren transmitir enfermedades virales, pues se ha demostrado que para que ocurra la transmisión de virus el áfido debe permanecer alimentándose en la planta por períodos mayores que un cierto umbral (Scheller & Shukle, 1986). Cuando se alimentaron áfidos portadores de virus en plántulas de trigo con diferentes niveles de Hx, la infección viral se manifestó en menor proporción en aquellos cultivares con

mayores concentraciones de Hx (Fig. 5B) (Givovich & Niemeyer 1991). Más aún, en un estudio de campo con 17 líneas de trigo, se encontró menos infección en las 6 líneas con niveles más altos de Hx y susceptibilidad al virus en las 9 líneas siguientes con niveles menores. Las 2 líneas con niveles más bajos de Hx se escaparon de esta tendencia resultando resistentes, probablemente como consecuencia de una interacción virus-planta que impedía el establecimiento o la replicación del virus (Givovich & Niemeyer 1991).

La búsqueda de condiciones adecuadas para la manipulación de los Hx y de la interpretación molecular de su actividad biológica ha conducido a estudios detallados de sus propiedades químicas. La base de la reactividad química del DIMBOA es el equilibrio rápido en solución entre la forma hemiacetálica cíclica (predominante) y la forma aldólica de cadena abierta (Copaia *et al.* 1986). Estas moléculas poseen grupos funcionales altamente reactivos hacia nucleófilos (Figura 6). Es así como los tioles redujeron al átomo de nitrógeno produciendo una lactama (Pérez & Niemeyer 1985) y se adicionaron al grupo aldehído del aldol formando hemiacetales (Atkinson *et al.* 1991), y las aminas formaron bases de Schiff, tanto con dicho grupo aldehído como con el grupo carbonílico hidroxámico en el aldol (Pérez & Niemeyer 1989b).

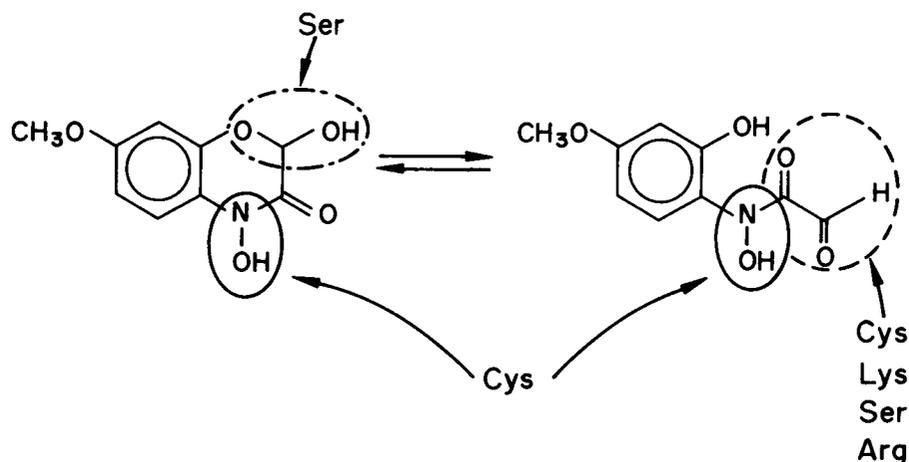


Fig. 6: Reacciones del DIMBOA con nucleófilos.  
Reactions of DIMBOA with nucleophiles.

Esta reactividad se manifestó también cuando los nucleófilos estaban incorporados en enzimas. Es así como la papaína, una enzima proteolítica que posee un residuo de cisteína altamente reactivo en el sitio catalítico, fue inactivada por el DIMBOA por reacción de dicho residuo con el átomo de nitrógeno del DIMBOA (Pérez & Niemeyer 1989a), y la  $\alpha$ -quimotripsina, una enzima proteolítica con una serina hiperreactiva en el sitio activo, fue inactivada por el DIMBOA por reacción del aldol con dicho residuo y probablemente también con residuos de cisteína y lisina en otras regiones de la enzima (Cuevas *et al.* 1990).

Estos estudios con nucleófilos modelos constituyen la base para la interpretación del efecto del DIMBOA sobre enzimas de áfidos. Las acetilcolinesterasas son enzimas claves en la transmisión de impulsos nerviosos y constituyen los blancos de los insecticidas de tipo organofosforado y carbamato (Hoover 1980), ya que la serina esencial de su sitio activo es modificada al efectuar desplazamientos nucleofílicos sobre los grupos fosforilo y carbonilo, respectivamente, de dichos insecticidas. Además, las colinesterasas de áfidos poseen un residuo de cisteína importante para la catálisis fuera del sitio activo (Zahavi *et al.* 1972, Manulis *et al.* 1981, Brestkin *et al.* 1985).

Una acetilcolinesterasa aislada de *R. padi* mostró un pH óptimo de 7 y fue inhibida por reactivos de tioles, al igual que las acetilcolinesterasas de otros áfidos. La enzima fue inactivada por el DIMBOA, probablemente por su reacción con los residuos de cisteína y la serina del sitio activo con el átomo de nitrógeno y la función hemiacetalica del DIMBOA. Esta inactivación daría cuenta en parte de los efectos tóxicos del DIMBOA (Cuevas & Niemeyer, datos no publicados).

Los ácidos hidroxámicos aparecen como características deseables de incorporar en programas de fitomejoramiento de cereales. Un rastreo de diferentes taxa dentro de la familia Gramineae (Zúñiga *et al.* 1983, Niemeyer 1988b, Thackray *et al.* 1990a, Barria *et al.* 1991) mostró variaciones de concentración de ácidos

hidroxámicos en trigos cultivados entre 1 y 10 mmoles/kg tejido fresco a la edad de mayor acumulación de ellos en la planta (Copaja *et al.* 1991b). Gramíneas silvestres hibridables con trigo presentan valores de hasta 44 mmoles/kg tejido fresco (Copaja *et al.* 1991a).

#### *Algunas ideas para investigaciones futuras*

Dos componentes importantes del control integrado de plagas en un cultivo son la resistencia natural de la planta hospedera y el control biológico por medio de enemigos naturales del insecto plaga. Los datos disponibles sugieren la conveniencia de producir cultivares de trigo con concentraciones elevadas de ácidos hidroxámicos con el objeto de aumentar la resistencia contra áfidos. El estudio de los efectos de un aumento de las concentraciones de ácidos hidroxámicos en una planta de trigo sobre las poblaciones de los principales parasitoides y depredadores de los áfidos de los cereales, es indispensable para asegurar la compatibilidad entre aumento de la resistencia natural de la planta hospedera y el control biológico.

La producción de cultivares de trigo que acumulen concentraciones mayores de ácidos hidroxámicos hasta etapas más avanzadas del desarrollo de la planta puede lograrse por programas de cruzamiento y selección clásicos, o por los métodos de la bioingeniería. Para implementar los primeros, es necesario buscar entre el trigo y especies afines aquel germoplasma que resulte efectivo para la transmisión de esas características. Para implementar los segundos, es necesario conocer en mayor profundidad los procesos de biosíntesis y degradación de los ácidos hidroxámicos, y los genes involucrados en su acumulación (Reimann & Byerrum 1964, Tipton *et al.* 1973, Bailey & Larson 1989).

La acción de los ácidos hidroxámicos sobre las acetilcolinesterasas de áfidos puede explicar su efecto tóxico. El examen de la interacción de los ácidos hidroxámicos con enzimas presentes en la porción del canal digestivo de áfidos anterior al órgano epifaríngeo puede ayudar a explicar el efecto antialimentario de ellos.

A modo de conclusión puede señalarse que el conocimiento de la interacción entre áfidos y plantas, en particular cuando los áfidos constituyen una plaga de plantas cultivadas, ha crecido principalmente en los aspectos macroscópicos descriptivos. Sólo recientemente han comenzado a investigarse los mecanismos bioquímicos de dichas interacciones. Los rápidos avances obtenidos en estos estudios hacen pensar que en un futuro no muy lejano será posible el mejoramiento de algunas variedades por incremento dirigido de sus defensas químicas naturales.

#### AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud está comprometida con los colegas y los estudiantes que han participado en estas investigaciones, que están nombrados en las publicaciones citadas. También con aquellos, más jóvenes, que aún no publican pero que contribuyen con su crítica y estímulo al proceso creativo en nuestro laboratorio. El trabajo ha recibido el generoso apoyo financiero de las siguientes instituciones: Universidad de Chile, CONICYT, FONDECYT, International Program in the Chemical Sciences (IPICS), Agency for International Development (AID), International Foundation for Science (IFS) y Consejo Británico.

#### LITERATURA CITADA

- ABERNATHY C & R THURSTON (1969) Plant age in relation to the resistance of *Nicotiana* to the green peach aphid. *Journal of Economic Entomology* 62: 1356-1359.
- ARGANDOÑA VH, JG LUZA, HM NIEMEYER & LJ CORCUERA (1980) Role of hydroxamic acids in the resistance of cereals to aphids. *Phytochemistry* 19: 1665-1668.
- ARGANDOÑA VH, LJ CORCUERA, HM NIEMEYER & BC CAMPBELL (1983) Toxicity and feeding deterrence of hydroxamic acids from Gramineae in synthetic diets against the greenbug, *Schizaphis graminum*. *Entomologia experimentalis et applicata* 34: 134-138.
- ATKINSON J, P MORAND, JT ARNASON, HM NIEMEYER & HR BRAVO (1991) Analogues of the cyclic hydroxamic acid 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA): decomposition to benzoxazinones and reaction with  $\beta$ -mercaptoethanol. *Journal of Organic Chemistry* 56: 1788-1800.
- AVE DA, P GREGORY & WM TINGEY (1987) Aphid repellent sesquiterpenes in trichomes of *Solanum berthaultii* and *S. tuberosum*. *Entomologia experimentalis et applicata* 44: 131-138.
- BAILEY BA & RL LARSON (1989) Hydroxamic acid glucosyltransferases from maize seedlings. *Plant Physiology* 90: 1071-1076.
- BARRIA BN, SV COPAJA & HM NIEMEYER (1991) Occurrence of DIMBOA in wild *Hordeum* species and relation to aphid resistance. *Phytochemistry*, 31: 89-91.
- BECK DL, GM DUNN, DG ROUTLEY & JS BOWMAN (1983) Biochemical basis of resistance in corn to the corn leaf aphid. *Crop Science* 23: 995-998.
- BOHIDAR K, SD WRATTEN & HM NIEMEYER (1986) Effects of hydroxamic acids on the resistance of wheat to the aphid *Sitobion avenae*. *Annals of Applied Biology* 109: 193-198.
- BOTHA CEJ, SB MALCOLM & RF EVERT (1977) An investigation of preferential feeding habit in four *Asclepiadaceae* by the aphid, *Aphis nerii* B. de F. *Protoplasma* 92: 1-19.
- BRESTKIN AP, EB MAIZEL, SN MORALEV, KV NOVOZHILOV & IN SAZONOVA (1985) Cholinesterases of aphids-1. Isolation, partial purification and some properties of cholinesterases from spring grain aphid *Schizaphis gramina* (Rond.). *Insect Biochemistry* 15: 309-314.
- COPAJA SV, BN BARRIA & HM NIEMEYER (1991a) Hydroxamic acid content in perennial Triticeae. *Phytochemistry* 30: 1531-1534.
- COPAJA SV, HR BRAVO & HM NIEMEYER (1986) Quantitation of N-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl) glyoxylohydroxamic acid, a reactive intermediate in reactions of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one. *Journal of Organic Chemistry* 51: 3542-3545.
- COPAJA SV, HM NIEMEYER & SD WRATTEN (1991b) Hydroxamic acid levels in Chilean and British wheat seedlings. *Annals of Applied Biology* 118: 223-227.
- CORCUERA LJ, VH ARGANDOÑA & HM NIEMEYER (1982) Effect of cyclic hydroxamic acids from cereals on aphids. En: KEHL H (ed) *Chemistry and biology of hydroxamic acids*: 111-118. Karger.
- CUEVAS L, HM NIEMEYER & FJ PEREZ (1990) Reaction of DIMBOA, a resistance factor from cereals, with  $\alpha$ -chymotrypsin. *Phytochemistry* 29: 1429-1432.
- DILLWITH JW & RC BERBERET (1990) Lipids at the aphid-plant interface. En: CAMPBELL, RK & RD EIKENBARY (eds) *Aphid-Plant Genotype Interactions*: 207-223, Elsevier.
- GERDING M, M MELLADO & R MADARIAGA (1989a) Evaluación del daño producido por royas, áfidos y virus del enanismo amarillo de la cebada, en dos variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Agricultura Técnica* 50: 43-48.
- GERDING M, E ZUÑIGA, C QUIROZ, H NORAMBUENA & R VARGAS (1989b) Abundancia relativa de los parasitoides de *Sitobion avenae* (F) y *Metopolophium dirhodum* (Wlk) (Homoptera: Aphididae) en diferentes áreas geográficas de Chile. *Agricultura Técnica* 49: 104-114.
- GIBSON RW & JA PICKETT (1983) Wild potato repels aphids by release of alarm pheromone. *Nature* 302: 608-609.
- GILL RS & DRC BAKHETIA (1985) Resistance of some *Brassica napus* and *B. campestris* strains to the mustard aphid. *Journal of Oilseeds Research* 21: 227-239.
- GIVOVICH A & HM NIEMEYER (1991) Hydroxamic acids affecting barley yellow dwarf virus transmission by the aphid *Rhopalosiphum padi*. *Entomologia experimentalis et applicata* 59: 79-85.
- GROMBACHER AW, WA RUSSELL & WD GUTHRIE (1989) Resistance to first-generation European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and DIMBOA concentration in midwhorl leaves of the BS9 maize synthetic. *Journal of the Kansas Entomological Society* 62: 103-107.

- GUTHRIE WD, CT TSENG, WA RUSSELL, JR COATS, JC ROBBINS & JJ TOLLEFSON (1986) DIMBOA content at seven stages of plant development in a maize synthetic cultivar. *Journal of the Kansas Entomological Society* 59: 356-360.
- HOFMAN J & O HOFMANOVA (1969) 1, 4-Benzoxazin derivatives in plants. Sephadex fractionation and identification of a new glucoside. *European Journal of Biochemistry* 8: 109-112.
- HOOVER D (1980) Cholinesterases and cholinesterase inhibitors. En: CRAIG CR & RE STITZEL (eds) *Modern Pharmacology*: 165-178. Little, Brown and Co., Boston.
- JORDENS-ROTTGER D (1979) The role of the phenolic substances for host-selection behaviour of the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Entomologia experimentalis et applicata* 26: 49-54.
- KLINGAUF F, K NOCKER-WENZEL & U ROTTGER (1978) Die Rolle peripherer Pflanzenwache für den Befall durch phytophage Insekten. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheit und Pflanzenschutz* 85: 228-237.
- LAPOINTE SL & WM TINGEY (1986) Glandular trichomes of *Solanum neocardenasii* confer resistance to the green peach aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology* 79: 1264-1268.
- LEATHER SR (1986) Host monitoring by aphid migrants: do gynoparae maximise offspring fitness? *Oecologia* 68: 367-369.
- LESZCZYNSKI B, LC WRIGHT & T BAKOWSKI (1989) Effect of plant secondary substances on winter wheat resistance to the grain aphid. *Entomologia experimentalis et applicata* 52: 135-139.
- LONG BJ, GM DUNN, JS BOWMAN & DG ROUTLEY (1977) Relationship of hydroxamic acid content in corn and resistance to the corn leaf aphid. *Crop Science* 17: 55-58.
- LOWE HJB, GJP MURPHY & ML PARKER (1985) Non-glauconess, a probable aphid-resistance character of wheat. *Annals of applied Biology* 106: 555-560.
- MANSOUR MH, NZ DIMETRY & IS ROFAEEL (1982) The role of coumarin as secondary plant substance in the food specificity of the cow pea aphid *Aphis craccivora* Koch. *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 93: 151-157.
- MANULIS S, I ISHAAYA & A PERRY (1981) Acetylcholinesterase of *Aphis citricola*: properties and significance in determining toxicity of systemic organophosphorous and carbamate compounds. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 15: 267-274.
- MCLEAN DL & MG KINSEY (1985) The precibarial valve and its role in the feeding behavior of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Bulletin of the Entomological Society of America* 30: 26-31.
- MILES PW (1978) Redox reaction of hemipterous saliva in plant tissue. *Entomologia experimentalis et applicata* 24: 534-539.
- MILES PW (1985) Dynamic aspects of the chemical relation between the rose aphid and rose buds. *Entomologia experimentalis et applicata* 37: 129-135.
- MILES PW (1990) Aphid salivary secretions and their involvement in plant toxicoses. En: CAMPBELL RK & RD EIKENBARY (eds) *Aphid-Plant Genotype Interactions*: 131-147. Elsevier.
- MONTGOMERY ME & H ARN (1974) Feeding response of *Aphis pomi*, *Myzus persicae* and *Amphorophora agathonica* to phlorizin. *Journal of Insect Physiology* 20: 413-421.
- NIEMEYER HM (1988a) Hydroxamic acids (4-hydroxy-1, 4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in the Gramineae. *Phytochemistry* 27: 3349-3358.
- NIEMEYER HM (1988b) Hydroxamic acid content of *Triticum* species. *Euphytica* 37: 289-293.
- NIEMEYER HM, E PESEL, S FRANKE & W FRANCKE (1989) Ingestion of the benzoxazinone DIMBOA from wheat plants by aphids. *Phytochemistry* 28: 2307-2310.
- PEREZ FJ & HM NIEMEYER (1985) The reduction of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one by thiols. *Phytochemistry* 24: 2963-2966.
- PEREZ FJ & HM NIEMEYER (1989a) Reaction of DIMBOA, a resistance factor from cereals, with papain. *Phytochemistry* 28: 1597-1600.
- PEREZ FJ & HM NIEMEYER (1989b) Reaction of DIMBOA with amines. *Phytochemistry* 28: 1831-1834.
- PETTERSSON J (1970) Studies on *Rhopalosiphum padi* (L.). I. Laboratory studies on olfactometric responses to the winter host *Prunus padus* L. *Lantbrukshögskolan Annalen* 36: 381-399.
- PETTERSSON J (1973) Olfactory reactions of *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hom.: Aph.). *Swedish Journal of Agricultural Research* 3: 95-103.
- POLLARD DG (1973) Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera: Aphidoidea): a review. *Bulletin of Entomological Research* 62: 631-714.
- POSPISIL J (1972) Olfactory orientation of certain polyphagous insects in Cuba. *Acta entomologica Bohemoslavica* 69: 1-17.
- REIMANN JE & RU BYERRUM (1964) Studies on the biosynthesis of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H1,4-benzoxazin-3-one. *Biochemistry* 3: 847-851.
- ROTHSCHILD MJ, J von EUW & T REICHSTEIN (1970) Cardiac glycosides in the Oleander aphid *Aphis nerii*. *Journal of Insect Physiology* 16: 1141-1145.
- SHELLER HV & RH SHUKLE (1986) Feeding behaviour and transmission of barley yellow dwarf virus by *Sitobion avenae* on oats. *Entomologia experimentalis et applicata* 40: 189-195.
- SCHEPERS A (1989) Chemical control. En: MINKS AK & P HARREWIJN (eds) *Aphids. Their biology, natural enemies and control*, Vol. 2C: 89-122. Elsevier.
- SEN GUPTA GC & PW MILES (1975) Studies on susceptibility of varieties of apple to the feeding of two strains of woolly aphid (Homoptera) in relation to the chemical content of the tissues of the host. *Australian Journal of Agricultural Research* 26: 157-168.
- SMITH BD (1966) Effect of the plant alkaloid spartein on the distribution of the aphid *Acyrtosiphon spartii* (Koch.). *Nature* 212: 213-214.
- TIPTON CL, M-C WANG, H-C TSAO, C-C LIN TU & RR HUSTED (1973) Biosynthesis of 1,4-benzoxazin-3-ones in *Zea mays*. *Phytochemistry* 12: 347-352.
- TJALLINGII WF (1990) Continuous recording of stylet penetration activities by aphids. En: CAMPBELL RK & RD EIKENBARY (eds) *Aphid-Plant Genotype Interactions*: 89-99. Elsevier.
- THACKRAY DJ, SD WRATTEN, PJ EDWARDS & HM NIEMEYER (1990a) Resistance to the aphids *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi* in Gramineae in relation to hydroxamic acid levels. *Annals of Applied Biology* 116: 573-582.

- THACKRAY DJ, SD WRATTEN, PJ EDWARDS & HM NIEMEYER (1990b) Hydroxamic acids-potential resistance factors in wheat against the cereal aphids *Sitobion avenae* and *Rhopalosiphum padi*. Proceedings of 1990 Brighton Pest Control Conference-Pests and Diseases-1990. pp. 215-220.
- VIRTANEN AI & PK HIETALA (1960) Precursors of benzoxazinone in rye plants. I. Precursor II, the aglucone. Acta Chimica Scandinavica 14: 499-502.
- WEGOREK W & J KRZYMANSKA (1971) Further studies on the resistance of lupin to the pea aphid (*A. pisum* Harris). Prace Naukowe Instytutu Ochrony Roslin 13: 7-23.
- WEIBULL J (1988) Free amino acids in the phloem sap from oats and barley resistant to *Rhopalosiphum padi*. Phytochemistry 27: 2069-2072.
- WENSLER RJD (1962) Mode of host selection by an aphid. Nature 195: 830-831.
- WENSLER RJ & BK FILSHIE (1969) Gustatory organs in the food canal of aphids. Journal of Morphology 129: 473-477.
- WIKTELIUS S, J WEIBULL & PETERSSON (1990) Aphid host plant ecology: the bird cherry-oat aphid as a model. En: CAMPBELL RK & RD EIKENBARY (eds) Aphid-plant genotype interactions: 21-36. Elsevier.
- WILLIAMS WG, GG KENNEDY, RT YAMAMOTO, JD THACKER & J RORDNER (1980) 2-Tridecanone. a naturally occurring insecticide from the wild tomato *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. Science 207: 888-889.
- WINK M & P ROMER (1986) Acquired toxicity –the advantages of specializing on alkaloid-rich lupins to *Macrosiphon albifrons* (Aphididae). Naturwissenschaften 73: 210-212.
- WINK M, T HARTMANN, L WITTE & J RHEINHEIMER (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 37C 1081-1086.
- ZAHAVI M, AS TAHORI & F KLIMER (1972) An acetylcholinesterase sensitive to sulfhydryl inhibitors. Biochimica Biophysica Acta 276: 577-583.
- ZUCKER WV (1982) How aphids choose leaves: the roles of phenolics in host selection by a galling aphid. Ecology 63: 972-981.
- ZUÑIGA E (1985) Ochenta años de control biológico en Chile. Revisión histórica y evaluación de los proyectos desarrollados (1903-1983). Agricultura Técnica 45: 175-183.
- ZUÑIGA GE, VH ARGANDOÑA, HM NIEMEYER & LJ CORCUERA (1983) Hydroxamic acid content in wild and cultivated Gramineae. Phytochemistry 22: 2665-2668.
- ZUÑIGA GE, EM VARANDA & LJ CORCUERA (1988) Effect of gramine on the feeding behavior of the aphids *Schizaphis graminum* and *Rhopalosiphum padi*. Entomologia experimentalis et applicata 47: 161-165.