

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Herbivoría por insectos en *Amaranthus* y su relación con características morfológicas, fenológicas y químicas de distintos cultivares

por

Ing. Agr. Selene Leonor Niveyro

Directora: Dra. Adriana Salvo

Co-Directora: Dra. Estela Maris Baudino

Facultad de Agronomía

Universidad Nacional de La Pampa



**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

Córdoba, Argentina

2015

Comisión Asesora

Dr. Andrea A. Coccuci. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV)/CONICET. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.

Dr. Eduardo Trumper. Cátedra de Ecología. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. INTA – EEA Manfredi.

Dra. Adriana Salvo. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV)/CONICET. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.

Defensa Oral y Pública

Lugar y Fecha:

Calificación:

Tribunal

Firma:

Aclaración:

Firma:

Aclaración:

Firma:

Aclaración:

Dedicatoria

A mis compañeros de cuatro calurosos veranos,
Juan Carlos y Gladys.

Agradecimientos

Deseo expresar mi gratitud a la Dra. Elke Noellemeyer por su ayuda en los inicios de este proyecto y por su constante apoyo en mi formación académica.

A mi directora Dra. Adriana Salvo, con quien fue un placer trabajar, agradezco su guía y ayuda que me hicieron crecer tanto profesional como personalmente.

A la Dra. Estela Baudino agradezco la colaboración brindada.

A mi comisión asesora, Dr. Eduardo Trumper y Dr. Andrea A. Cocucci, por sus valiosas sugerencias que han contribuido a mejorar la calidad de este trabajo.

A los integrantes del Departamento de Manejo Integrado de Plagas, Universidad de Århus, Flakkebjerg:

Dra. Inge S. Fomsgaard, por invitarme a realizar el análisis de metabolitos secundarios en su laboratorio, por su hospitalidad, generosidad y por su interés en mi trabajo en *Amaranthus*.

A Anne G. Mortensen, quien me enseñó y ayudó en los análisis de cromatografía líquida, agradezco su sencillez, su amabilidad y las tardes de trabajo compartidas en el laboratorio.

A Kirsten Heinrichson, Jonas Duus Stevens Lekfeldt, Bente Laursen, Sandra Carlsen y Niels Henrik Spliid por hacerme sentir como en casa durante mi estadía en Flakkebjerg.

Al Dr. Charles O'Brien y Dr. Eduardo Faundéz por la identificación de las especies de *Conotrachelus* spp., *Chinavia musiva* (Berg) y por la información proporcionada.

A mis compañeras del Doctorado Dra. Soledad del Corral y Dra. Eugenia Chiari por su amistad, compañerismo y colaboración en la cría de insectos.

A mi familia, en especial a mi padre, por su apoyo y comprensión durante todo el desarrollo de esta tesis.

Finalmente, quiero agradecer a la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa y a sus autoridades, por permitir el desarrollo de este trabajo y al Proyecto Amaranth: Future-Food European Commission Programme “International Cooperation Activities” FP6-2004-INCO-DEV-3 Contract No 032 263 por financiar parte de este trabajo.

Listado de publicaciones derivadas de la tesis

Publicaciones en revistas científicas

Niveyro S. & Salvo A. (2014) Taxonomic and functional structure of phytophagous insect communities associated with Grain Amaranth. *Neotropical Entomology* 43: 532-540.

Niveyro S.L., Mortensen A.G., Fomsgaard I.S. & Salvo A. (2013) Differences among five amaranth varieties (*Amaranthus* spp.) regarding secondary metabolites and foliar herbivory by chewing insects in the field. *Arthropod-Plant Interactions* 7: 235-245.

Pedersen H.A., Steffensen S.K., Christophersen C., Mortensen A.G., Jørgensen L.N., Niveyro S., Troiani R.M., Rodríguez-Enríquez R., Barba de la Rosa A.P. & Fomsgaard I.S. (2010) Synthesis and quantitation of six phenolic amides in *Amaranthus* spp. *Journal of agricultural and food chemistry* 58: 6306-6311.

Resúmenes en Congresos y Simposios

Niveyro S. & Salvo A. (2012) Prácticas culturales exitosas para disminuir el ataque de insectos barrenadores de *Amaranthus hypochondriacus*. VIII Congreso Argentino de Entomología. Bariloche. Argentina.

Niveyro S., Baudino E., Falkenstein L. & Saenz C. (2008) Assessment of the arthropods associated with the Amaranth crop in the central Argentina. 5th International Symposium of the European Amaranth Association. Institute of Plant Genetics and Biotechnology of the Slovak Academy of Sciences. Nitra, Eslovaquia

Niveyro S., Saenz C., Falkenstein L. & Baudino E. (2007) Estudio de la entomofauna asociada al cultivo de *Amaranthus*. XXX Congreso Argentino de Horticultura. La Plata. Pcia.de Buenos Aires. Argentina.

Índice General

Carátula.....	i
Comisión Asesora.....	ii
Defensa Oral y Pública	ii
Tribunal.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos	iv
Listado de publicaciones derivadas de la tesis	vi
Índice General.....	viii
Índice de Tablas	1
Índice de Figuras.....	5
Abreviaturas.....	10
Resumen	12
Summary.....	13
Capítulo 1	14
Introducción.....	14
1.1. Cultivo de <i>Amaranthus</i>	14
1.1.1. Características nutricionales	16
1.1.2. Características agronómicas	18
1.1.3. Cultivares mejorados y dificultades en su cultivo	18
1.1.4. Cultivares de <i>Amaranthus</i> estudiados.....	20
1.2. Plagas insectiles reportadas en <i>Amaranthus</i> cultivados.....	22
1.3. Características de las plantas y su relación con estrategias defensivas ante herbívoros.	23
1.4. Objetivos y organización de la tesis	26
Capítulo 2	28
Estructura taxonómica y funcional de las comunidades de insectos fitófagos asociados al cultivo de <i>Amaranthus</i>	28
2.1. Introducción.....	28
2.2. Objetivos específicos	29
2.3. Materiales y métodos	30
2.3.1. Revisión bibliográfica.....	30

2.3.2. Muestreo de insectos en cultivos de <i>Amaranthus</i>	30
2.3.2.1. Ensayo de campo	30
2.3.2.2. Muestreos de insectos	31
2.3.3. Análisis estadístico	32
2.4. Resultados.....	32
2.5. Discusión	44
2.5.1. Comunidad de insectos fitófagos citados a nivel mundial en <i>Amaranthus</i>	44
2.5.2. Comunidad de insectos fitófagos en cultivos de <i>Amaranthus</i> en Argentina. ..	46
Capítulo 3	52
Diferencias morfológicas, químicas y fenológicas de cinco cultivares de <i>Amaranthus</i> (<i>Amaranthus spp.</i>) y su relación con la abundancia, riqueza y herbivoría de los insectos asociados al cultivo.	52
3.1. Introducción.....	52
3.2. Objetivo específico	56
3.3. Materiales y métodos	57
3.3.1. Ensayo de campo	57
3.3.2. Medición de variables relativas a los cultivares	57
3.3.2.1. Atributos morfológicos de los cultivares	57
3.3.2.2. Duración del ciclo fenológico de los cultivares.....	58
3.3.2.3. Contenido de metabolitos secundarios presentes en hojas	58
3.3.2.3.1. Reactivos y productos químicos	58
3.3.2.3.2. Extracción de flavonoides y ácidos fenólicos.....	59
3.3.2.3.3. Análisis químico de los flavonoides y ácidos fenólicos	59
3.3.2.3.4. Extracción de betalaínas	60
3.3.2.3.5. Detección de betalaínas	60
3.3.2.3.6. Análisis estadístico	61
3.3.3. Medición de variables relativas a la entomofauna.....	61
3.3.3.1. Riqueza y abundancia de insectos ectofitófagos (masticadores y chupadores) y endofitófagos (barrenadores de tallos y panoja)	61
3.3.3.2. Herbivoría causada por insectos ectofitófagos (masticadores) y endofitófagos (barrenadores de tallos y panoja).....	62
3.3.3.3. Herbivoría producida por insectos masticadores ectofitófagos y la composición química en hojas.....	64

3.3.4. Estimación de producción de los cultivares.....	64
3.4. Resultados.....	64
3.4.1. Medición de variables relativas a los cultivares	64
3.4.1.1. Atributos de los cultivares	64
3.4.1.2. Duración del ciclo fenológico de los cultivares.....	68
3.4.1.3. Contenido de metabolitos secundarios presentes en hojas	69
3.4.2. Medición de variables relativas a la entomofauna.....	71
3.4.2.1. Riqueza y abundancia de insectos ectofitófagos (masticadores y chupadores) y endofitófagos (barrenadores de tallos y panoja)	71
3.4.2.3. Herbivoría producida por insectos masticadores ectofitófagos y la composición química en hojas.....	76
3.4.2.3. Estimación de producción de los cultivares.....	76
3.5. Discusión	77
3.5.2. Metabolitos secundarios en <i>Amaranthus</i> y su relación con la herbivoría de insectos.	80
3.5.3. Herbivoría por insectos y producción de grano en <i>Amaranthus</i>	85
Capítulo 4	87
Efecto de prácticas culturales sobre la herbivoría de insectos endofitófagos y ectofitófagos masticadores en <i>Amaranthus hypochondriacus</i>	87
4.1. Introducción.....	87
4.2. Objetivos específicos	90
4.3. Materiales y métodos.....	91
4.3.1. Ensayo de campo	91
4.3.2. Variables medidas en los ensayos.....	92
4.3.2.1. Atributos de las plantas.....	92
4.3.2.2. Herbivoría causada por endofitófagos barrenadores (tallos y panojas) y ectofitófagos masticadores (hojas).	93
4.3.2.3. Estimación de producción.....	94
4.4. Resultados.....	95
4.4.1. Ensayos con diferentes densidades de siembra.	95
4.4.1.1. Atributos de las plantas.....	95
4.4.1.2. Herbivoría causada por endofitófagos barrenadores (tallos y panojas) y ectofitófagos masticadores (hojas).	96

4.4.1.3. Estimación de producción.....	101
4.4.2. Ensayos con diferentes fechas de siembra.	102
4.4.2.1. Datos meteorológicos.	102
4.4.2.2. Atributos de las plantas.....	103
4.4.2.3. Herbivoría causada por endofitófagos barrenadores (tallos y panojas) y ectofitófagos masticadores (hojas).	105
4.4.2.4. Estimación de la producción.....	111
4.5. Discusión	112
4.5.1. Efecto de la densidad de siembra.....	112
4.5.2. Efecto de la fecha de siembra.	116
Capítulo 5	119
Preferencia de alimentación y desarrollo de lepidópteros seleccionados en cultivares de <i>Amaranthus</i>	119
5.1. Introducción.....	119
5.2. Objetivos específicos	121
5.3. Materiales y métodos	121
5.3.2. Cultivo de plantas en invernáculo.....	122
5.3.3. Ensayos en laboratorio.....	122
5.3.3.1. Pruebas de elección.....	122
5.3.3.2. Evaluación del aprovechamiento del alimento	123
5.3.4. Análisis estadístico	123
5.4. Resultados.....	124
5.4.1. Pruebas de elección.....	124
5.4.2. Evaluación del aprovechamiento del alimento	124
5.5. Discusión	126
Capítulo 6	128
Discusión general y conclusiones	128
6.1. Discusión de los principales resultados.	128
Bibliografía	133
Apéndices	172
1. Tablas de conversión	172
2. Dieta artificial para cría de <i>Spodoptera frugiperda</i> ⁽¹⁾	176

Índice de Tablas

Capítulo 1

Tabla 1.1: Características morfológicas, fenológicas y químicas de cinco cultivares de <i>Amaranthus</i>	21
---	----

Capítulo 2

Tabla 2.1: Estructura taxonómica y funcional de insectos fitófagos citados en plantas de <i>Amaranthus</i> spp. a nivel mundial registrada en la literatura.	33
Tabla 2.2: Estructura taxonómica y funcional de insectos fitófagos registrados en plantas de <i>Amaranthus</i> spp. en los ensayos de campo.	40

Capítulo 3

Tabla 3.1: Valores promedios observados (\pm error estándar) para atributos morfológicos estudiados en plantas. Letras diferentes junto a las medias de las mismas filas indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p < 0.05$).	66
Tabla 3.2: Pigmentación en plantas de cinco cultivares de <i>Amaranthus</i>	67
Tabla 3.3: Concentración media ($\mu\text{g/g}$ de peso seco \pm error estándar) de metabolitos secundarios detectados en las hojas de los cultivares de <i>Amaranthus</i> . La media seguida por letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes según test LSD ($P < 0.05$).	70
Tabla 3.4: Resultados del análisis de regresión múltiple de herbivoría (área foliar dañada) y el contenido de metabolitos secundarios en las hojas (df = grado de libertad; β = coeficiente estandarizado; E.E = error estándar).	76

Tabla 3.5: Valores promedio de producción de grano (\pm error estándar) por unidad de superficie estimados para cinco variedades de *Amaranthus*. Letras diferentes junto a las medias en las mismas columnas son significativamente diferentes según test Scott & Knott ($p < 0.05$)..... 77

Capítulo 4

Tabla 4.1: Valores promedios (\pm error estándar) observados para atributos morfológicos y densidad de plantas de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en densidades diferentes. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p < 0.05$). BD = Baja densidad; AD = Alta densidad. 95

Tabla 4.2: Resultados del análisis de regresión múltiple de la herbivoría por endofitófagos y las características del tallo (diámetro y longitud). (df = grado de libertad; β = coeficiente estandarizado; E.E = error estándar)..... 99

Tabla 4.3: Densidad de larvas barrenadoras promedio (N° de larvas por $m^2 \pm$ error estándar) observados en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en densidades diferentes. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($P < 0.05$). BD = Baja densidad; AD = Alta densidad. 100

Tabla 4.4: Valores promedios (\pm error estándar) de producción de grano en plantas de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en diferentes densidades. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p = 0.007$). BD = Baja densidad; AD = Alta densidad..... 102

Tabla 4.5: Valores de temperatura media (\pm error estándar) y fotoperíodo durante la temporada 2010-2011. 102

Tabla 4.6: Valores promedios (\pm error estándar) observados para atributos morfológicos y densidad de plantas de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. Letras diferentes entre columnas

indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($P < 0.05$).....	104
Tabla 4.7: Resultados del análisis de regresión múltiple de la herbivoría por endofitófagos y las características del tallo (diámetro y longitud). (df = grado de libertad; β = coeficiente estandarizado; E.E = error estándar).....	110
Tabla 4. 8: Valores promedios (\pm error estándar) de producción de grano en plantas de <i>A. hypochondriacus</i> sembradas en diferentes fechas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p < 0.05$). S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía.....	111

Capítulo 5

Tabla 5.1: Preferencia de alimentación de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith) en cinco cultivares de <i>Amaranthus</i> . T = valor del estadístico y P = probabilidad asociada a la Prueba T para muestras apareadas.	125
Tabla 5.2: Índices nutricionales promedios (\pm error estándar) en larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith) alimentadas con hojas de cinco cultivares de amaranto. Letras diferentes junto a las medias en las mismas columnas representan diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($P < 0.05$). IC = Índice de consumo, TRC = Tasa relativa de crecimiento, D = Digestibilidad, ECI = Eficiencia de conversión del alimento ingerido, ECD = eficiencia de conversión del alimento digerido.	125

Apéndices

Tabla 1: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría expresados en porcentaje de hojas dañadas estimadas visualmente y su valor expresado en área foliar dañada. N = 30 plantas.	172
Tabla 2: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría en tallos expresados en porcentaje de tallo dañados estimadas visualmente y su valor expresado en área de tallo dañado. N = 20 plantas.	173
Tabla 3: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría en tallos expresados en porcentaje de tallo dañados estimados visualmente y su valor expresado en área de tallo dañado. AD = Alta densidad, BD = Baja densidad. N = 20 plantas.	174
Tabla 4: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría en tallos expresados en porcentaje de tallo dañados estimados visualmente y su valor expresado en área de tallo dañado. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. N = 20 plantas.	174
Tabla 5: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría expresados en porcentaje de hojas dañadas estimadas visualmente y su valor expresado en área foliar dañada. AD = Alta densidad, BD = Baja densidad. N = 150 hojas.	175
Tabla 6: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría expresados en porcentaje de hojas dañadas estimadas visualmente y su valor expresado en área foliar dañada. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. N = 150 plantas.	175

Índice de Figuras

Capítulo 1

Figura 1.1: Planta de amaranto en floración.....	15
Figura 1.2: Detalle del fruto de amaranto	16

Capítulo 2

Figura 2.1: Abundancia relativa de gremios de insectos citados en plantas de <i>Amaranthus</i> spp. a nivel mundial (a) y observados en la provincia de La Pampa (b). N: número de especies.	36
Figura 2.2: Abundancia relativa de especies en los órdenes taxonómicos de insectos citados en plantas de <i>Amaranthus</i> spp. a nivel mundial (a) y observados en la provincia de La Pampa (b). N: número de especies.....	36
Figura 2.3: Riqueza promedio de especies en gremios en las comunidades de insectos fitófagos asociadas al género <i>Amaranthus</i> spp. en países americanos y en otros continentes, tomada de la literatura. Las barras de error representan el error estándar, y los asteriscos diferencias significativas según prueba de Chi-Cuadrado ($p < 0.05$).	37
Figura 2.4: Curva de acumulación de especies fitófagas.	39
Figura 2.5: Abundancia relativa de especies de cada gremio observados sobre <i>Amaranthus</i> . a) Defoliadores (adultos), b) Barrenadores (estado larval), c) Succionadores (adultos).	41
Figura 2.6: Densidad de los gremios de insectos observados en las distintas etapas fenológicas de las plantas de <i>Amaranthus</i> (Mujica & Quillahuamán 1989) durante dos temporadas de crecimiento (2007-2008 y 2008-2009). La apariencia general de las plantas en cada etapa fenológica se ilustra en la parte superior de la tabla.	43

- Figura 2.7:** Insectos fitófagos de *Amaranthus*: a) *Epicauta adspersa* (Klug), b) *Astylus atromaculatus* Blanch, c) *Rachiplusia nu* (Guenée), d) *Naupactus verecundus* Hustache, e) *Dichroplus elongatus* G.Tos, f) *Achyra similalis* (Guenée), g) *Conotrachelus histrio* Boheman, h) *Edessa meditabunda* (F.), i) *Chinavia musiva* (Berg). 44
- Figura 2.8:** Especies barrenadoras observada en plantas de *Amaranthus*. De izquierda a derecha: *Conotrachelus cervinus* Hustache, *Conotrachelus histrio* Boheman y *Aerenea quadriplagiata* Boheman. 49

Capítulo 3

- Figura 3.1:** Hojas de *Amaranthus* con diferente área foliar removida por insectos defoliadores. A) 1-5%, B) 6-10%, C) 11-20 %, D) 21-30%, E) 31-40%, F) 41-50%, G) 51-65%, H) 66-75%, I) 76-95%..... 63
- Figura 3.2:** Diagrama representativo de la morfología de las plantas de los cultivares de *Amaranthus*. 65
- Figura 3.3 :** Flores pistiladas en cultivares de *Amaranthus*: a) Detalle de la flor femenina indicando los estilos, tépalos y la bráctea protectora, b) Cruentus, c) Hyp SA, d) Hyp 280, e) Hyp Artasa, f) Mantegazzianus. 67
- Figura 3.4:** Duración del ciclo fenológico en días promedio en cinco cultivares de *Amaranthus*. VE = emergencia, R4 = antesis, R6 = madurez fisiológica. Las líneas horizontales indican los errores estándar, la de la izquierda corresponde al estado R4, la de la derecha al total del ciclo. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en la duración del ciclo hasta R4 y letras mayúsculas indican diferencias para la totalidad del ciclo, en ambos casos según Test Scott & Knott..... 68
- Figura 3.5:** Primeros dos ejes del análisis discriminante de las muestras de diferentes cultivares de amaranto sobre la base de la composición de quince metabolitos secundarios. Las muestras se clasificaron correctamente en un 94 % de los casos. Letras diferentes significan diferencias significativas según MANOVA (Test de Hotelling $p < 0.05$). 71

Figura 3.6: Densidad (a) y riqueza (b) de insectos ectofitófagos masticadores en hojas e inflorescencias (\pm error estándar) en cultivares de <i>Amaranthus</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas entre cultivares según Test Scott & Knott ($p_{\text{densidad hoja}} = 0.002$, $p_{\text{densidad panoja (factor cultivar)}} = 0.003$; $p_{\text{riqueza hoja}} = 0.032$, $p_{\text{riqueza panoja (factor cultivar)}} = 0.05$). Densidad (c) y riqueza (d) de insectos ectofitófagos succionadores (\pm error estándar) en cultivares de <i>Amaranthus</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas entre cultivares según Test Scott & Knott ($p_{\text{densidad}} = 0.001$, $p_{\text{riqueza (factor cultivar)}} = 0.04$).	73
Figura 3.7: Densidad promedio de insectos barrenadores (\pm error estándar) en tallos (a) e inflorescencias (b) en cultivares de <i>Amaranthus</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Test Scott & Knott.	74
Figura 3.8: a) Porcentaje de hojas afectadas promedio (\pm error estándar) por insectos defoliadores en plantas de <i>Amaranthus</i> . b) Área foliar consumida por insectos defoliadores (\pm error estándar) en plantas de <i>Amaranthus</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott.	75
Figura 3. 9: a) Porcentaje de tallos barrenados promedio (\pm error estándar) por insectos barrenadores en plantas de <i>Amaranthus</i> . b) Área de tallo consumida por insectos barrenadores (\pm error estándar) en plantas de <i>Amaranthus</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott.	75

Capítulo 4

Figura 4.1: Imagen de los ensayos de campo a) con diferentes densidades de siembra. b) con diferentes fechas de siembra.	92
Figura 4.2: Número de orificios (\pm error estándar) presentes en tallos e inflorescencias en dos cultivares de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> con dos niveles de densidad de siembra. AD = Alta densidad; BD = Baja densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según test Scott & Knott ($p = 0.01$).	97

- Figura 4.3:** Número de galerías en tallos en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* con dos niveles de densidad de siembra. AD = Alta densidad; BD = Baja densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p = 0.01$)...... 97
- Figura 4.4:** Área dañada promedio en tallos (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* con dos niveles de densidad de siembra. AD = Alta densidad; BD = Baja densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p = 0.0003$)...... 98
- Figura 4.5:** Área foliar consumida por insectos defoliadores (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* con dos niveles de densidad de siembra. AD = Alta densidad; BD = Baja densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p = 0.009$)...... 101
- Figura 4.6:** Número de días promedio para alcanzar el estado fenológico de antesis (R4) y completar el ciclo ontogénico en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. Las líneas horizontales indican los errores estándar, la de la izquierda corresponde al estado R4, la de la derecha al total del ciclo. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en la duración del ciclo hasta R4 y letras mayúsculas indican diferencias para la totalidad del ciclo, en ambos casos según Test Scott & Knott. 104
- Figura 4.7:** Número de orificios (\pm error estándar) presentes en tallos e inflorescencias de dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según prueba Scott & Knott ($p < 0.05$). 106
- Figura 4.8:** Número de galerías en tallos (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p = 0.01$). 107
- Figura 4.9:** Densidad de larvas barrenadoras promedio (N° de larvas promedio por día \pm error estándar) observados en dos cultivares de *Amaranthus*

hypochondriacus sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p = 0.01$). 108

Figura 4.10: Área dañada promedio en tallos (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p = 0.002$). 109

Figura 4.11: Área foliar consumida por insectos defoliadores (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p = 0.001$). 111

Abreviaturas

AD	Alta densidad
AD	Análisis Discriminante
ANOVA	Análisis de la varianza
ASE	Extracción con disolvente acelerado
BD	Baja densidad
Cruentus	<i>Amaranthus cruentus</i> cv. Don León
d.f.	Grados de libertad
DA	Digestibilidad aparente
DAD	Detector de matriz de diodos
ECD	Eficiencia de conversión del alimento digerido
ECI	Eficiencia de conversión del alimento ingerido
EE	Error estándar
F	Prueba de Fisher
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución.
Hyp 280	<i>Amaranthus hypochondriacus</i> cv. 280 FK-FH1
Hyp Artasa	<i>Amaranthus hypochondriacus</i> cv. Artasa 9122
Hyp SA	<i>Amaranthus hypochondriacus</i> cv. San Antonio
IC	Índice de consumo
LCMS	Cromatografía líquida con espectrómetro de masa
LCMSMS	Cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem
LSD	Método de la Mínima Diferencia Significativa
MANOVA	Análisis multivariado de la varianza
Mantegazzianus	<i>Amaranthus mantegazzianus</i> cv. Don Juan
MeOH	Metanol
Mili-Q	Agua purificada (Tipo I)
mPa	milipascal
MRM	Modo negativo de monitorización de reacción múltiple
msnm	Metros sobre el nivel del mar
<i>p</i>	Nivel de significación
PTFE	Politetrafluoroetileno

R4	Estado fenológico de antesis
R6	Estado fenológico de madurez fisiológica
R7	Estado fenológico de madurez de cosecha
S1	Siembra temprana
S2	Siembra tardía
TRC	Tasas relativa de crecimiento
VE	Estadio fenológico de emergencia
β	Coefficiente estandarizado
χ^2	Test Chi-Cuadrado

Resumen

En esta tesis se estudió la comunidad de insectos fitófagos asociados a cinco cultivares de *Amaranthus* y se evaluó el modo en que caracteres propios de los cultivares o generados a través de prácticas agrícolas, influyeron sobre la riqueza, abundancia y herbivoría de sus insectos asociados. Se determinó que tres gremios de insectos fitófagos fueron importantes en las especies de *Amaranthus* para grano: defoliadores, succionadores y barrenadores, en tanto que otros grupos menores citados en la literatura (insectos pegadores, enruladores y minadores) no se observaron en los cultivares de estudio. El gremio de defoliadores fue el grupo de mayor densidad y con mayor riqueza de especies, en tanto que el grupo de los barrenadores fue un gremio poco denso pero presente en casi la totalidad de las plantas evaluadas. Las características morfológicas y fenológicas de los cultivares fueron atributos relevantes para el gremio succionador y barrenador, por relacionarse con la disponibilidad y accesibilidad del alimento para el primer grupo y por influir en la incidencia del segundo grupo. A su vez, el gremio barrenador se vio afectado por variaciones de la densidad y de la fecha de siembra del cultivo, observándose una disminución de su incidencia en plantas de *A. hypochondriacus*. El gremio de los defoliadores, a diferencia de los succionadores y barrenadores, no fue afectado por las características morfológicas y fenológicas y ante variaciones muy marcadas de estos atributos, la densidad y riqueza de insectos fueron similares. De manera análoga, la diferencia en la coloración de los tejidos vegetales no se relacionó con la preferencia y herbivoría de este gremio en los ensayos de campo ni en los ensayos de laboratorio. Contrariamente a lo observado con otros caracteres, la concentración de 6 metabolitos secundarios de las hojas de *Amaranthus* en estado de floración se relacionó significativamente con la herbivoría causada por defoliadores.

Los resultados de este trabajo contribuyen al conocimiento de la relación insecto-planta en *Amaranthus* y tienen relevancia para su manejo en condiciones de cultivo.

Summary

This thesis study the community of phytophagous insects associated with five *Amaranthus* cultivars and the influence of features of the cultivars or those generated through agricultural practices on the richness, abundance and herbivory of associated insects was evaluated.

Three guilds of phytophagous insects were important: defoliators, sucking and borers, while other smaller groups cited in the literature (leaf folder, leaf rollers and leaf miners) were not observed. The chewer guild was the group with higher density and greatest species richness, while the borer guild was a group with low density but it was present in almost all plants sampled. Morphological and phenological characters of plants were important features for sucking and borer guilds, due to they were related to the availability and accessibility of the food for the first group and because they influence the incidence of the second guild. In turn, the borer guild was affected by variations in density and planting date of the crop, which decreased the density of this guild in plants of *A. hypochondriacus*. On the other hand, chewer guild, unlike sucker and stem borer, was not affected by morphological and phenological features and the abundance and richness of insects were similar even when high variations of these attributes were observed. Similarly, difference in the color of plant tissues was not related to the preference and herbivory in leaves neither in the field trials nor in the laboratory tests. However, it was found that concentrations of six out of fifteen secondary metabolites tested in leaves of *Amaranthus* plants were significantly related to the herbivory by chewer guild.

The results of this study contribute to the knowledge of insect-plant relationship in *Amaranthus* and have relevance for management in culture conditions.

Capítulo 1

Introducción

1.1. Cultivo de *Amaranthus*

El género *Amaranthus* (Amaranthaceae, Caryophyllales) está compuesto por plantas herbáceas de amplia distribución mundial. Se estima que existen aproximadamente 87 especies, de las cuales la mayoría son de origen americano, mientras que un número reducido (alrededor de 21 especies) son originarias de Europa, Asia y África (Sauer 1967; Robertson 1981; Costea et al. 2001; Das 2012; Štefúnová et al. 2014). Entre las especies de amarantos, se encuentran algunas que han sido consideradas las peores malezas del mundo, tales como *A. hybridus* var. *quitensis* (“yuyo colorado”) y especies y subespecies derivadas de *A. retroflexus* L. (National Academy of Sciences 1985). Sin embargo, otras especies del género son cultivadas con diversas finalidades: producción de granos (*A. cruentus* L., *A. hypochondriacus* L. y *A. caudatus* L.), consumo de partes verdes (*A. tricolor* L., *A. mantegazzianus* Pass., *A. dubius* Mart, *A. lividus* L, y *A. cruentus* L), con fines tintóreos (*A. tintorius* L.), para consumo animal (*A. graecizans* L.) y con propósitos ornamentales (*A. tricolor* L. y *A. caudatus* L) (Sauer 1967; Stallknecht & Schulz-Schaeffer 1993).

Los amarantos son plantas anuales, de crecimiento estival. Presentan un tallo principal, número variable de ramificaciones, y sus hojas son pecioladas de formas ovadas, rómbicas-oblongas a lanceoladas, que se disponen en forma opuesta o alterna a lo largo de los tallos (Sauer 1967; Sumar 1993). El amaranto presenta flores unisexuales pequeñas, dispuestas en cimas compuestas de variada conformación y reunidas en panojas y/o glomérulos principales y axilares en algunos casos (Figura 1.1). Las flores femeninas se caracterizan por presentar tres estigmas filiformes y ovario súpero, mientras que las masculinas presentan cinco estambres, con filamentos delgados y alargados que terminan en anteras que se abren en dos sacos (Tapia 1997; Sumar 1993).



Figura 1.1: Planta de amaranto en floración.

A pesar de que la morfología y fisiología de las flores favorece la alogamia, en los amarantos cultivados para grano prevalece la autogamia, con una proporción de un 65 a 85 % (Covas 1987). El fruto, un pixidio unilocular, produce una semilla muy pequeña de forma lenticular de 1-1.5 mm de diámetro y de color blanquecino (Sauer 1967; Nieto 1990). El fruto al madurar presenta una dehiscencia transversal, dejando caer la parte superior denominada opérculo y exponiendo la parte inferior llamada urna, donde se aloja la semilla. (Figura 1.2). Se estima que en un gramo de semillas es posible contabilizar un total de 1000 a 3000 unidades (Nieto 1990).

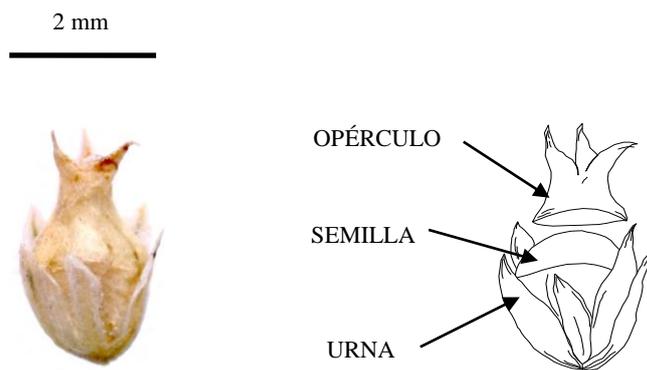


Figura 1.2: Detalle del fruto de amaranto

En América, el amaranto ha sido cultivado por civilizaciones precolombinas desde la antigüedad (Stallknecht & Schulz-Schaeffer 1993). Para los aztecas el amaranto representaba uno de sus principales alimentos junto con el maíz y el poroto (National Academy of Sciences 1985) y su semilla era además utilizada como medio de pagos de impuestos y también en celebraciones religiosas (Sauer 1967; Myers 1996). Con la llegada de los conquistadores españoles a América dejó de cultivarse (Marx 1977), y desde entonces ha subsistido sólo en pequeñas economías campesinas con arraigadas tradiciones.

1.1.1. Características nutricionales

A partir de la década del 1970, investigaciones sobre la calidad nutricional de la semilla de amaranto la señalaron como un potencial recurso para la alimentación humana, debido a su alto contenido proteico y a su calidad nutricional (Downton 1973; Teutonico & Knorr 1985). El amaranto también es consumido como vegetal verde (hojas), tanto crudo como cocido, en varios países de América, África y Asia. Sin embargo, en los países más desarrollados se ha puesto el énfasis en la producción de semillas para consumo humano, ya que poseen valores proteicos cercanos al óptimo de los requerimientos nutricionales establecidos por la FAO y la Organización Mundial de la Salud (Becker et al. 1981).

La semilla contiene de 15 a 20 % de proteína cruda, superando los valores que presentan los cereales tradicionales (Downton 1973; Becker et al. 1981; Akin-Idowu et al. 2013) y un adecuado balance de aminoácidos esenciales que pueden alcanzar índices

cercanos al 90.4 % (Barba de la Rosa et al. 2009; Venskutonis & Kraujalis 2013). Entre éstos, se destaca el contenido de lisina, aminoácido limitante en la mayoría de las proteínas vegetales, y que en amaranto presenta valores del 5 al 8 % de la proteína total del grano (Becker et al. 1981; Teutonico & Knorr 1985; Akin-Idowu et al. 2013).

El almidón es el principal componente de la semilla y representa entre el 55 al 72 % del peso total del grano (Willet 2001; González et al., 2007). Los gránulos de almidón son pequeños con diámetros de 0.4 a 2 μm , lo cual posibilita una rápida asimilación por el organismo. La relación de amilasa/amilopectina, el pequeño tamaño de los gránulos de almidón y las características geométricas del mismo también otorgan al amaranto muchas propiedades funcionales y fisicoquímicas tales como: viscosidad de 122 mPa a 95°C, alta estabilidad en los procesos de congelación y posterior calentamiento, que son adecuadas para el uso industrial (Praznik et al. 1999; Villareal & Iturriaga 2011; Sanz-Penella et al. 2013; Xia et al. 2014).

Otro componente de importancia en los granos es el contenido de aceite, que en promedio alcanza entre 6 y 9% (Lyon & Becker 1987). Si bien estos porcentajes son muy inferiores respecto de cultivos productores de aceite, cabe destacar la calidad de los aceites de amaranto, altamente insaturados, con una relación promedio ácidos saturados/insaturados de 0.32 (He & Corke 2003); y ricos en ácido oleico, linoleico y escualeno (Becker et al. 1981). El escualeno, un componente menor de los aceites vegetales, se encuentra en altas concentraciones en la semilla de amaranto, con valores promedio entre 4.8 – 2.1 mg/gr de semilla seca (He et al. 2002). Posee propiedades antioxidantes y termo-estabilidad, por lo que es utilizado en la industria farmacéutica con diversas finalidades, siendo su mayor beneficio para la salud humana la prevención de problemas cardiovasculares y del cáncer (Rao & Newmark 1998; Farvin et al. 2004 ; Güneş 2013). La fuente tradicional de escualeno ha sido el aceite de hígado de tiburón, pero debido a la incertidumbre en su disponibilidad y al costoso proceso de purificación, otras fuentes, tales como el amaranto, son actualmente consideradas (Wejnerowska et al. 2013).

Las semillas de amaranto presentan características y propiedades nutritivas, similares a los cereales, por lo cual se la incluye entre las especies de dicotiledóneas consideradas como “pseudo-cereales”. Al carecer la semilla de gluten, puede ser consumido por personas con celiaquía, lo cual le confiere una ventaja adicional como recurso nutritivo.

1.1.2. Características agronómicas

Los amarantos presentan características ventajosas desde el punto de vista agronómico, como son la rusticidad y la diversidad de ambientes en los que se desarrolla, evidenciando una amplia base genética. Las plantas presentan la vía fotosintética de tipo “C 4” (Grubben 1976) que le otorga una alta tasa fotosintética en condiciones de mucha luminosidad, altas temperaturas y déficit hídrico (Miller et al. 1984; Brenner et al. 2000; Omami & Hammes 2006). En condiciones de baja disponibilidad hídrica, las plantas de amaranto controlan la pérdida de agua gracias a su capacidad de ajuste osmótico (Liu & Stützel 2002a) y son capaces de reducir la conductancia estomática y la tasa de expansión foliar (Liu & Stützel 2002b). Se ha indicado además, que la eficiencia en el uso del agua en el amaranto es igual o superior a cultivos como sorgo y mijo (Kauffman & Hass 1984) y que su producción requiere la mitad del volumen de agua requerido para el cultivo de maíz (Weber et al. 1986). Las plantas, a su vez, pueden desarrollarse en suelos de baja fertilidad con moderada tolerancia a la salinidad (Liu & Stützel 2002a; Omami & Hammes 2006). Todo esto, permite que el amaranto sea capaz de prosperar en zonas áridas y semiáridas donde pocos cultivos se desarrollarían (Brenner et al. 2000; Johnson & Henderson 2002; Omami & Hammes 2006).

1.1.3. Cultivares mejorados y dificultades en su cultivo

En la actualidad se reconocen cuatro especies de amaranto graníferas: *Amaranthus hypochondriacus* L. especie originaria de México, *A. cruentus* L. originaria del sur de México y Guatemala, *A. caudatus* L. y *A. mantegazzianus* Passerini (= *A. edulis* Spegazzini), estas dos últimas originarias de la región andina (Sauer 1950, 1957; Hunziker 1952).

A. caudatus y *A. mantegazzianus* son especies estrechamente relacionadas e incluso se ha sugerido que deberían considerarse como la misma especie (Sauer 1950), utilizándose el nombre de “amaranto andino” para referirse a ambas (Hunziker 1952). Algunos autores consideran que *A. mantegazzianus* habría derivado de *A. caudatus* (Pal & Khoshoo 1973), aunque las diferencias morfológicas (Hunziker 1943) y el patrón de proteínas de sus semillas indicarían que pertenecen a grupos diferentes (Drzewiecki

2001), discutiéndose aún sus relaciones filogenéticas. A su vez, mientras que *A. caudatus* se extiende desde el sur de Ecuador a través de Perú y Bolivia hasta el noroeste de Argentina, *A. mantegazzianus* se limita al noroeste de Argentina (Coons 1982).

Debido a la menor distribución de *A. mantegazzianus* en su región de origen y a la disminución de su cultivo a través de los años, Hunziker (1952) ha llegado a señalar que *A. mantegazzianus* podría convertirse en una especie en peligro de extinción. Distinta es la situación de *A. caudatus*, la cual se cultiva en Asia y África, en tanto que *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* son especies difundidas tanto en América como en otros continentes (Grubben 1976; Coons 1982).

A pesar de que el amaranto es un cultivo milenario, aún puede considerarse como una especie semidomesticada. Los planes de mejoramientos en amaranto han consistido, en general, en la selección y uniformidad de características deseables de cultivares nativos tales como alto potencial de rendimiento, precocidad y bajo porte de la planta. Los cultivares seleccionados luego de ser estabilizados se han difundidos para su cultivo. De esa manera, se han obtenido diferentes variedades que se utilizan en la actualidad en la producción de grano, entre las que se puede mencionar *A. hypochondriacus* Revancha obtenida en México (Espitia 1991), *A. caudatus* INIAP-ATACO y *A. caudatus* INIAP-Alegría, ambas obtenidas en Perú (Monteros et al. 1994). Otros cultivares se han originado por cruzamientos como es el caso de *A. hypochondriacus* “Plainsman” (K 343) (*A. hypochondriacus* L. x *A. hybridus*) de gran difusión en los Estados Unidos, que se caracteriza por presentar plantas de poca ramificación, porte bajo y altos niveles de rendimiento (Kauffman & Weber 1990; Baltensperger et al. 1992; Brenner 1992).

Si bien la obtención de cultivares ha contribuido al avance del cultivo, el amaranto aún presenta características a mejorar que en la actualidad representan problemas para su cultivo. Entre ellas se encuentra el pequeño tamaño de la semilla, el cual es un desafío en la producción de amaranto. Debido al pequeño tamaño, la profundidad de siembra debe oscilar entre 1 a 1.5 cm del suelo para permitir la emergencia (Odeleye & Olufolaji 2010). Estas siembras muy superficiales son difíciles en zonas de suelos muy sueltos y favorecen la predación por insectos en general. En estas primeras etapas, el crecimiento inicial de la planta es muy lento debido al contenido de reservas en la semilla, y las plántulas deben competir con las malezas para

desarrollarse. En la actualidad no existen herbicidas selectivos que se puedan aplicar en el cultivo, y por lo tanto, el problema de las malezas es uno de los factores limitantes en la producción, afectando al cultivo no sólo por competir con éste por los recursos, sino también por la dificultad que representa la separación de las semillas de amaranto de las de malezas (Covas 1987). Otra características que presentan los amarantos es la heterogeneidad en el crecimiento de las plantas, las cuales alcanzan la madurez desincronizadamente (Kauffman 1986). Una característica deseable relacionada a este aspecto es la precocidad (plantas de corto periodo vegetativo y maduración rápida). Este carácter puede ser beneficiado por un porte bajo y uniforme en las plantas, así como por un tallo no ramificado, debido a que la maduración es más tardía en las ramas, respecto del tallo principal (Covas 1987). El porte bajo y uniforme es un carácter que también facilita la cosecha mecánica. La resistencia a enfermedades y plagas es otro de los objetivos en el fitomejoramiento, debido a que el amaranto es afectado por enfermedades (hongos y virus) y diversas especies de insectos (Weber et al. 1990; Wilson 1990; Pérez-Torres et al. 2011).

1.1.4. Cultivares de *Amaranthus* estudiados

En el presente trabajo de Tesis se estudiaron cinco cultivares de *Amaranthus* pertenecientes a tres especies graníferas: un cultivar de *Amaranthus cruentus* (Don León), tres de *A. hypochondriacus* (San Antonio, 280 FK-FH1 y Artasa 9122) y uno de *A. mantegazzianus* (Don Juan), los cuales presentan variaciones inter e intraespecíficas, morfológicas, fenológicas y químicas (Tabla 1.1). De los cultivares disponibles, se eligieron para la realización del trabajo aquellos que presentaron buena adaptación a las condiciones climáticas y edáficas locales y buen rendimiento de grano, en base a lo observado en ensayos previos (Niveyro, datos no publicados) y referencias bibliográficas (Sauer 1967; Covas 1987). A fin de simplificar la descripción de los resultados y discusión en los siguientes capítulos, los cultivares se llamarán en adelante Cruentus, Hyp SA, Hyp 280, Hyp Artasa y Mantegazzianus, respectivamente.

Tabla 1.1: Características morfológicas, fenológicas y químicas de cinco cultivares de *Amaranthus*.

CULTIVARES						
Características	Cruentus	Hyp SA	Hyp 280	Hyp Artasa	Mantegazzianus	
Origen	INTA Anguil (LP)	México	Hungría	INTA Anguil (LP)	INTA Anguil (LP)	
Amarantina	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	
Panoja	Forma	Alargada	Alargada	Alargada	Alargada	Globosas
	Color	Amarillo	Púrpura	Púrpura	Púrpura	Amarrilla/naranja
	Tamaño	Mediana	Grande	Pequeña	Grande	Grande
Follaje	Abundante	Abundante	Escaso	Abundante	Abundante	
Tallo	Grosor	Grueso	Grueso	Fino	Grueso	Grueso
	Ramificación	Escasa	Escasa	Escasa	Media	Escasa
Altura						
promedio	166,8 ± 5,47	152,1 ± 5,30	107,62 ± 2,26	121,46 ± 4,30	195,19 ± 7,40	
de la planta	(n = 37)	(n =40)	(n = 45)	(n= 35)	(n =36)	
(cm)						
Ciclo						
Fenológico	142 días	126 días	59 días	175 días	162 días	
(días)						
Crecimiento	Homogéneo	Homogéneo	Muy homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	
Rendimiento						
promedio	1763 ± 446	858 ± 125,47	1215 ± 245,04	1626 ± 281,02	2045,49 ± 521,91	
en	(n = 13)	(n =12)	(n =12)	(n =11)	(n = 12)	
granos						
(Kg/ha)						
Sanidad						
(Observaciones	Buena	Buena	Muy buena	Mala	Regular	
preliminares)						

1.2. Plagas insectiles reportadas en *Amaranthus* cultivados.

Como se ha indicado anteriormente, el amaranto es afectado por varias especies de insectos fitófagos. Entre las citadas como plagas en amaranto pueden mencionarse chinches (Hemiptera: Lygaeidae), orugas defoliadoras (Lepidoptera: Noctuidae), pulgones (Homoptera: Aphididae) y escarabajos (Coleoptera: Meloidae y Chrysomelidae). En muchos casos, existe registro de que ciertas enfermedades causadas por hongos y virus han sido transmitidos a las plantas por insectos vectores, tales como gorgojos (Coleoptera: Curculionidae) y chicharritas (Hemiptera: Cicadellidae) (Noelting et al. 2001; Stallknecht et al. 1990). En América del Sur, se han publicado pocos estudios referidos a los insectos fitófagos en cultivos de amaranto (Ves Losada & Covas 1987; Guerrero et al. 2000; de Oliveira et al. 2012; Riquelme et al. 2013). En Argentina, se menciona el ataque de coleópteros barrenadores de tallos de la especie *Aerenea quadriplagiata* (Boheman, 1859) (De Haro & Martínez 1995; Riquelme et al. 2013) y del género *Conotrachelus* spp. (Coleoptera: Curculionidae) (Bosq 1943; Hayward 1944; Vasicek et al. 1998), folívoros de varias especies de Coleoptera y Lepidoptera y hormigas del género *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae) (Ves Losada & Covas 1987). En tanto que en otros países, algunos estudios han señalado las mermas que los insectos causan en la producción de semillas (Stallknecht & Schulz-Schaeffer 1993; Phogat et al. 1994), y se ha analizado efectos del manejo sobre la abundancia de algunas plagas insectiles y su posible incidencia en el daño causado (Torres-Saldaña et al. 2004).

Teniendo en cuenta el origen americano del cultivo, y teniendo en cuenta la evidencia que se detalla más adelante (Capítulo 2), el amaranto podría presentar menor riqueza de insectos herbívoros en las áreas donde se lo ha introducido respecto de su lugar de origen. Esto representaría una ventaja para su cultivo en áreas alejadas a su sitio de origen. Sin embargo, aún no se han realizados estudios comparativos respecto a la diversidad, densidad e impacto de insectos fitófagos en plantas de *Amaranthus* spp. en su área de distribución natural y en áreas donde se lo ha introducido.

1.3. Características de las plantas y su relación con estrategias defensivas ante herbívoros.

Dado que las plantas de *Amaranthus* presentan una alta variabilidad genética y las especies que se utilizan para la producción de grano exhiben conjuntos de rasgos diferentes entre sí, esas diferencias podrían influir en los niveles de herbivoría o preferencia de los insectos. Se sabe que las plantas en general tienen un rol activo en la interacción con sus herbívoros (Underwood & Rausher 2002; Carr & Eubanks 2014), dado que perciben los daños y pueden utilizar mecanismos de defensas para evitar o reducir la preferencia y desempeño de los insectos (resistencia), como también para minimizar los efectos negativos una vez que el daño se ha producido (tolerancia) (Strauss & Agrawal 1999; Núñez-Farfán et al. 2007). Este último, involucra una activación del metabolismo primario tales como el incremento de la tasa fotosintética, incrementos de la biomasa (ramificación, macollaje, etc.) y el almacenamiento y reasignación de recursos en sus órganos, entre otros (Strauss & Agrawal 1999). Por otra parte, las plantas han desarrollado una serie de características físicas tales como la dureza de las hojas, tricomas, películas de cera, resinas y cristales además de características químicas que confieren resistencia contra la herbivoría (Karban & Baldwin 1997; Stamp 2003; Fürstenberg-Hägg et al. 2013; Karban et al. 2014).

Entre las características químicas, los metabolitos secundarios en las plantas cumplen un rol interactivo con los herbívoros y patógenos (Harborne & Grayer 1994; Simmonds 2003; Carlsen & Fomsgaard 2008). Estos compuestos pueden ser tóxicos al producir estrés oxidativo en los insectos no adaptados (Summers & Felton 1994), mientras que en otros grupos pueden actuar como sustancias disuasivas (Bernays & Chapman 1987). En este último caso, los insectos pueden alimentarse del vegetal pero deben detoxificar las sustancias del cuerpo (Ruuhola et al. 2001) disminuyendo la herbivoría y/o provocando el crecimiento retardado en los insectos (Simmonds 2003; Macel et al. 2005; Leiss et al. 2009). Contrariamente, en insectos adaptados, los efectos pueden ser fagoestimulantes (Bernays et al. 1991; Bernays & Chapman 2000; Lattanzio et al. 2006) e incluso algunas especies pueden acumular las sustancias en su cuerpo para utilizarlos en la comunicación, reproducción y defensa contra predadores (Burghardt et al. 2000; Simmonds 2003; Lattanzio et al. 2006). Si bien estos son algunos ejemplos de los efectos observados, la relación de los metabolitos secundarios con los insectos

fitófagos es compleja, dependiendo de las concentraciones en las que se encuentran los compuestos en el tejido vegetal (Blaney & Simmonds 1983) y de la diversidad de los metabolitos en la planta, pudiendo incrementar los niveles de resistencia por efectos de sinergismo (Green et al. 2003; Pascacio-Villafán et al. 2014).

En una revisión reciente, Carmona et al. (2011) indican que si bien los metabolitos secundarios son importantes en la defensa de las plantas contra los herbívoros, en un contexto microevolutivo la importancia relativa de estos compuestos respecto de rasgos defensivos no químicos (fisiológicos, físicos y morfológicos) sería secundaria, por la débil asociación que los compuestos presentan con la susceptibilidad de la planta a la herbivoría. Sin embargo, los mismos autores proponen que en escalas de tiempo macroevolutivas, los compuestos secundarios constituyen defensas de importancia, debido a la gran cantidad de genes que median la química secundaria en las plantas y a los efectos pleiotrópicos de esos genes (Rausher 2006).

Si bien la producción de defensas químicas implica un beneficio para las plantas, también implica costos a mantener. Varias hipótesis se han formulado para explicar la variabilidad de defensas en las plantas. Entre ellas, la hipótesis del crecimiento de la planta establece la importancia que las condiciones ambientales tienen en la evolución de distintos modos de defensas (Coley et al. 1985; Grime 2001). Las plantas que se desarrollan en ambientes con recursos limitados exhiben bajas tasas de crecimiento respecto de las plantas que se desarrolla en ambientes más productivos. Como consecuencia, estas especies presentan altos niveles de compuestos con baja tasa de renovación (no móviles) y baja inducibilidad. Este tipo de defensa representa un alto costo inicial pero que se atenúa a largo plazo en las plantas con hojas de vida larga. Por el contrario, las plantas que se desarrollan en ambientes ricos poseen tasas de crecimiento altas y se defienden con una amplia variedad de compuestos químicos efectivos a bajas concentraciones, con alta tasa de renovación (móviles) y que se inducen ante el daño. Esta última estrategia reduce los costos de defensa, dado que en ausencia de herbívoros, la planta puede reasignar sus recursos al crecimiento y reproducción (Karban et al. 1997; Zavala et al. 2004). Si bien la defensa inducida beneficiaría también a las plantas del primer grupo (adaptadas a ambientes de bajos recursos), la menor capacidad metabólica para reemplazar rápidamente la pérdida de tejido y de generar respuestas inducidas, favorecería en estas plantas la presencia de defensas constitutivas (Karban & Baldwin 1997; Grime 2001).

A su vez, características morfológicas o arquitectónicas y también la fenología de las plantas pueden asociarse con algunos de los mecanismos defensivos (Lawton 1983; Alonso & Herrera 1996; Heil 2010). Se ha reportado que la variación de rasgos morfológicos en las plantas con frecuencia se correlaciona con rasgos de resistencia física (Carmona et al. 2011) y que caracteres morfológicos como cantidad y distribución de los meristemas en la planta, ya sean preexistentes o generados luego de la herbivoría, afectan la tolerancia en las plantas. De manera similar, la asignación de recursos entre órganos distantes luego del daño por herbívoros es favorecida o limitada por las conexiones vasculares en la planta (Stowe et al. 2000). Las diferencias fenológicas pueden modificar la química vegetal (Johnson & Agrawal 2005; Lamarre et al. 2014), ya que las concentraciones de compuestos defensivos varían entre las diferentes etapas ontogénicas modificando su efectividad (Feeny 1970; Hunter 1992; Pilson 2000; Agrawal 2004; Murakami et al. 2008).

Por otra parte, características como la forma de las hojas, la simetría o la distancia entre ellas en la planta son diferencias sutiles pero con impacto en los insectos que se especializan en microhábitas proporcionados por la forma de crecimiento de la planta huésped (Wright & Samways 1999; Cornelissen & Stiling 2011; Santos et al. 2013). Por lo expuesto, la disponibilidad de recursos generados por la arquitectura o el ciclo ontogénico de la planta (Lawton 1983, Haysom & Coulson 1998; Marquis et al. 2002; Rudgers & Whitney 2006), tiene relevancia para analizar la preferencia de los insectos independientemente de los niveles de defensa que las plantas presenten (Carmona et al. 2011).

En los cultivos agrícolas, el éxito en la producción depende de la disponibilidad de variedades vegetales e híbridos adaptados, siendo posible seleccionar diversas características para utilizarlas en el control de plagas insectiles. Si bien los rasgos son mediados genéticamente, en especies cultivadas algunas características como las morfológicas y fenológicas pueden ser manipuladas mediante la utilización de prácticas agrícolas. La variación de la densidad de siembra, por ejemplo, afecta la distribución espacial de las plantas en el cultivo, modificando la altura y el tamaño de las mismas debido la competencia entre plantas por nutrientes, luz, etc. En cultivos de maíz se ha reportado que ésta práctica permite disminuir el daño por insectos barrenadores (Moyal 1995; Echezona 2007) y en cultivos de canola, se la ha utilizado para reducir la infestación de insectos barrenadores de la raíz (Doddall et al. 1995). En ambos casos, los

resultados se deben a un cambio morfológico en la planta, dado que los insectos pueden responder a contrastes visuales entre la vegetación y modificar su comportamiento de acuerdo al espaciamiento entre las plantas (Dosdall et al. 1999; Ishii-Eiteman & Power 1997).

Otra práctica, la variación de la fecha de siembra, puede generar plantas de distinto tamaño y desarrollo al adelantar o retrasar su ciclo ontogénico, el cual es dependiente de las condiciones climáticas, principalmente temperatura y fotoperíodo. Esta modificación de los estadios fenológicos puede afectar los niveles de defensa físicos y químicos (Fenny 1976; Coley 1980; Barton & Koricheva 2010), y modificar la capacidad de compensación de la planta ante la herbivoría en diferentes momentos del desarrollo (Bajwa & Kogan 2004; Dosdall & Stevenson 2005).

En amaranto, si bien se conoce que densidades altas de siembra causan modificaciones en los tallos de las plantas (Torres-Saldaña et al. 2004), esta práctica ha sido escasamente estudiada en referencia al ataque de insectos (Torres-Saldaña et al. 2004), mientras que no existen estudios respecto de la variación de la fecha de siembra y su efecto en los insectos asociados.

1.4. Objetivos y organización de la tesis

En esta Tesis se estudian las comunidades de insectos herbívoros asociadas al cultivo de *Amaranthus* en Argentina y se relacionan las tasas de herbivoría observadas en las plantas con características morfológicas, fenológicas y químicas de los cultivares, ya sean estas propias del cultivar o inducidas mediante alteraciones de las prácticas agronómicas en los cultivos; evaluando si estas características alteran la vulnerabilidad de las plantas frente a los insectos fitófagos. Para cumplir este objetivo general, la tesis se organizó en capítulos, coincidentes con los siguientes objetivos específicos:

Objetivo/Capítulo 2: Describir la entomofauna de insectos fitófagos asociados a cinco cultivares del género *Amaranthus* y comparar la estructura taxonómica y de gremios de la comunidad de herbívoros observada en Argentina con la registrada en otras partes del mundo.

Objetivo/Capítulo 3: Estudiar la herbivoría causada por insectos ecto y endofitófagos en cinco variedades de *Amaranthus* y evaluar posibles efectos de diferencias morfológicas, fenológicas y químicas de los cultivares.

Objetivo/Capítulo 4: Estudiar experimentalmente los efectos de prácticas culturales modificadoras de las características morfológicas (grosor del tallo) y fenológicas (duración del ciclo) de dos cultivares de *Amaranthus* sobre la herbivoría causada por insectos endofitófagos y ectofitófagos masticadores.

Objetivo/Capítulo 5: Evaluar la preferencia de alimentación y la tasa de aprovechamiento de tejidos vegetales en *Spodoptera frugiperda* (Smith) alimentadas con hojas de cinco cultivares de *Amaranthus hypochondriacus*.

Finalmente, en el último capítulo se discuten en forma integrada los resultados obtenidos.

Capítulo 2

Estructura taxonómica y funcional de las comunidades de insectos fitófagos asociados al cultivo de *Amaranthus*.

2.1. Introducción

Las plantas de amaranto son afectadas por diferentes insectos fitófagos (El-Aydam & Bürki 1997). La mayor parte de la información sobre el tema proviene de estudios relacionados con la búsqueda de potenciales biocontroladores de los amarantos silvestres, en particular *A. retroflexus* (El-Aydam & Bürki 1997; Bürki et al. 2001), mientras que los restantes trabajos son referidos a insectos que se alimentan de las especie cultivadas.

De los insectos que afectan las plantas de amaranto, los barrenadores de tallo se han indicado como el grupo de mayor prevalencia a escala global (Louw et al. 1995), y está representado, casi en su totalidad, por la familia Curculionidae (Terry & Lee 1990; Jha et al. 1992; Louw et al. 1995; Louw & Myburgh 2000; Salas-Araiza & Boradonenko 2006), y con sólo algunas especies en el orden Diptera y Lepidoptera (Torres-Saldaña et al. 2004; de Oliveira et al. 2012). Los daños causados por este grupo son realizados por los estadios juveniles, lo cuales hacen galerías en el tallo principal, aunque, dependiendo de la especie, también pueden ocurrir en los tallos secundarios, en pecíolos gruesos e incluso en las raíces (Wilson 1990; Louw et al. 1995). A su vez, los insectos defoliadores son mencionados por causar considerables daños en hojas y brotes florales (Schuester 1987; Guerrero et al. 2000), los cuales son en su mayoría insectos pertenecientes a los órdenes Coleoptera y Lepidoptera. Otro gremio citado son los insectos succionadores, cuyos daños se han relacionado con la disminución en el rendimiento de grano en amarantos cultivados (Robinson 1986; Olson & Wilson 1990).

En este grupo, chinches del género *Lygus* spp. (Hemiptera: Lygaeidae) han sido mencionadas en diferentes regiones (América, Asia y Europa) (Jena et al. 2000; Louw & Myburgh 2000; Salas-Araiza & Boradonenko 2006).

Poco se sabe sobre otros gremios de insectos, pero existe evidencia que minadores de hojas, pegadores y enrolladores de hojas se alimentan también en amaranto (Waterhouse 1994; Jena et al. 2000). Para el primer grupo, las especies han sido generalmente observadas en plantas silvestres y en menor medida sobre especies cultivadas (Stegmaier 1950; Spencer 1973; Mujica & Berti 1997; Carrasco 1987), mientras que son escasos los trabajos referidos a pegadores y enrolladores de hojas (Waterhouse 1994; Jena et al. 2000)

En Argentina, pocos estudios se han referido a los insectos fitófagos en los amarantos cultivados (Ves Losada & Covas 1987; Riquelme et al. 2013). Si bien es un cultivo comercial recientemente incorporado en el país y por lo tanto la superficie que se le dedica es muy pequeña, el conocimiento de factores adversos a su cultivo, entre ellos los insectos fitófagos, podría favorecer su expansión y el desarrollo de estrategias de manejo. Por otra parte, de acuerdo a la “Hipótesis de la liberación de enemigos naturales” (Keane & Crawley 2002) y al origen americano del cultivo, éste podría ser favorecido en otros continentes donde se lo ha introducido, sin embargo, no existen estudios comparativos sobre la entomofauna en los diferentes lugares donde se cultiva.

2.2. Objetivos específicos

El primer objetivo de este capítulo fue realizar una recopilación bibliográfica de los insectos fitófagos citados en plantas de *Amaranthus* en todo el mundo y comparar la estructura taxonómica y funcional de las comunidades de insectos fitófagos asociados al cultivo, en países americanos y no americanos. Como segundo objetivo, se describen las especies fitófagas asociadas a cinco cultivares de *Amaranthus* en la provincia de La Pampa, indicando en qué etapa del ciclo fenológico del cultivo se observaron y el tipo de daño producido. Por último, se comparan las comunidades de insectos herbívoros observadas en Argentina con los reportados en otras partes del mundo, poniendo énfasis en la estructura taxonómica y de gremios. Cabe aclarar que las comparaciones aquí realizadas son preliminares y podrían refinarse en futuros análisis que incorporen datos

adicionales tales como superficie cultivada con *Amaranthus* y tiempo transcurrido desde que las especies fueron introducidas en los distintos países, información que no está disponible en la mayoría de los casos.

2.3. Materiales y métodos

2.3.1. Revisión bibliográfica

Se realizó una revisión bibliográfica de los insectos fitófagos reportados tanto en especies de crecimiento silvestres como especies cultivadas de *Amaranthus* spp. Para ello se utilizaron motores de búsqueda de Internet (Scopus, Scielo, Google Scholar) incluyendo como palabras claves “*Amaranthus*” en combinación con “insectos fitófagos” o “insectos herbívoros”, en castellano y en inglés (“phytophagous insects” “herbivorous insects”). También se consultaron catálogos y bibliografía específica que no están disponibles en formato digital o que no aparecieron en la búsqueda antes descripta. Sólo los insectos herbívoros que fueron registrados alimentándose efectivamente en las plantas fueron considerados. Los insectos se agruparon en diferentes gremios definidos en base al modo en que se alimentan: defoliadores, barrenadores, etc. (Stork 1987).

2.3.2. Muestreo de insectos en cultivos de *Amaranthus*

2.3.2.1. Ensayo de campo

Se llevaron a cabo muestreos de insecto fitófagos en un total de cinco cultivares, de tres especies diferentes de amaranto: *Amaranthus cruentus* (Cruentus), *A. hypochondriacus* (Hyp SA, Hyp Artasa, Hyp 280) y *A. mantegazzianus* (Mantegazzianus), las cuales se sembraron durante dos temporadas consecutivas (verano 2007-2008 y 2008-2009) en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la UNLPam, Santa Rosa, La Pampa (36° 37' S, 64° 16' O). La superficie sembrada fue de 156 m², con distancia entre hileras de 0.50 m y con una densidad de siembra de 3.5 kg de semillas por hectárea. El peso de la semilla se utilizó como unidad de medida ya que es muy similar en todos los cultivares. Mayores detalles

metodológicos acerca del modo en que se sembraron las plantas se brindan en el capítulo 3. Las plantas no recibieron la aplicación de insecticidas y el desmalezado fue manual. El ensayo se ubicó en una zona ganadera, caracterizada por pasturas perennes (alfalfa), pastizales naturales y cultivos de trigo. Durante las dos temporadas, el ensayo se realizó en un lote arado de 7 hectáreas con bordes de vegetación espontánea, en la que se encontraban diversas especies: *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Digitaria sanguinalis* (L.), *Portulaca oleracea* L., *Xanthium cavanillesii* Schouw, *Salsola kali* L. y *Conyza bonariensis* L., entre las más abundantes.

2.3.2.2. Muestreos de insectos

Se realizaron un total de 12 muestreos, cinco durante la primera temporada y siete durante la segunda, en horario diurno (entre las 09:00 y las 14:00 hs.), cuando la mayoría de los insectos fitófagos en *Amaranthus* están activos (de acuerdo a observaciones previas). Los muestreos se espaciaron en el tiempo a fin de abarcar todo el ciclo del cultivo. En tres oportunidades en el verano 2008/2009 se realizaron observaciones nocturnas (21:00 a 22:00 hs.) a fin de registrar especies no activas durante el día. En cada cultivar y fecha de muestreo, se seleccionaron al azar 50 plantas (n total = 3000), revisándose tallos, pecíolos y ambos lados de las hojas, durante diez minutos (descontando el tiempo de manipuleo). Los insectos observados fueron contados, colectados (al menos una muestra de cada especie) y acondicionados en cajas entomológicas (adultos), o conservados en alcohol al 70% (insectos blandos y larvas) para su posterior identificación en laboratorio. Se consignaron además datos sobre el desarrollo y la ubicación en la planta de las especies encontradas. La presencia y abundancia de especies endofitófagas se determinó durante la segunda temporada (verano 2008/2009), en dos oportunidades coincidentes con la mitad y fin del ciclo del cultivo coincidentes con las etapas R4 y R6 de acuerdo a la escala fenológica de Mujica & Quillahuamán (1989). En cada una de ellas, se tomaron al azar 250 plantas y se seccionaron longitudinalmente sus tallos y panojas para observar síntomas de oviposición y presencia de galerías de insectos. En las plantas en las que se observaron galerías también se cuantificó el número de larvas activas por tallo.

2.3.3. Análisis estadístico

Se calcularon curvas de rarefacción (Krebs 1989) para el total de especies de fitófagos observadas sobre plantas de amaranto, a fin de evaluar la precisión para estimar esta riqueza de especies a partir del esfuerzo muestral realizado.

Para evaluar la influencia del lugar geográfico del cultivo de amaranto (América versus otros continentes) sobre la composición proporcional de órdenes taxonómicos y gremios tróficos de insectos se utilizó la prueba de Chi-Cuadrado. Se realizó el mismo análisis para comparar la comunidad de herbívoros en Argentina con la información registrada a nivel mundial. En todos los casos, se utilizó un alfa de 0.50.

2.4. Resultados

2.4.1. Revisión bibliográfica

A partir de setenta estudios de las comunidades de fitófagos asociadas al *Amaranthus* en 33 países, en cinco continentes, se citan un total de 255 especies de insectos alimentándose en plantas de amaranto. El gremio de defoliadores fue el grupo más grande y más rico en todo el mundo (El-Aydam & Bürki et al. 1997; Clarke-Harris et al. 2004; Aragón-García et al. 2011), y representó la mitad del total de especies de insectos registrada en amaranto. Las especies restantes se distribuyeron en succionadores (28%), barrenadores (9%), minadores de hojas (8%) y en tres gremios menores: insectos con aparato bucal raedor (3%), pegadores y enrolladores de hojas (1% cada uno) (Figura 2.1a). El gremio de defoliadores estuvo representado por 21 familias de insectos, sólo se reportaron dos especies de una misma familia de pegadores de hojas y los gremios restantes tuvieron valores intermedios (Tabla 2.1). Los órdenes de insectos con mayor cantidad de especies citadas en amaranto fueron Coleoptera, Lepidoptera y Hemiptera (Tabla 2.1).

Tabla 2.1: Estructura taxonómica y funcional de insectos fitófagos citados en plantas de *Amaranthus* spp. a nivel mundial registrada en la literatura.

Gremio	Orden	Familia	Número de especies	Referencias
Succionador	Hemiptera	Coreidae	8	Kranz et al. 1979; Baloch et al. 1981, Waterhouse 1994; Jena et al. 2002; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Umeh et al. 2009.
		Cydnidae	1	Stegmaier 1950
		Lygaeidae	6	Stegmaier 1950; Waterhouse 1994
		Miridae	10	Stegmaier 1950; Weaver & McWilliams 1980; Bendixen et al. 1981; Wilson 1989; Olson & Wilson 1990; Terry & Lee 1990; Waterhouse 1994; Louw & Myburgh 2000; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Pérez-Torres et al. 2011; Aragón- García et al. 2011.
		Thyrecoridae	1	Salas-Araiza & Boradonenko 2006
		Pentatomidae	6	Stegmaier 1950; Baloch et al. 1981; Ves Losada & Covas 1987; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Umeh et al. 2009; Pérez-Torres et al. 2011; Aragón-García et al. 2011.
		Piesmididae	2	Waterhouse 1994; Stegmaier 1950
		Aleurodidae	1	Bendixen et al. 1981
		Aphididae	8	Houard 1908; Stegmaier 1950; Bendixen et al. 1981; Koliab et al. 1986; Pérez-Torres et al. 2011
		Cicadellidae	12	Stegmaier 1950; Kolaib et al. 1986; Stallknecht & Schulz-Schaefer 1993; Salas-Araiza & Boradonenko 2006.
		Diaspididae	1	Tawfik et al. 1976
		Membracidae	3	Stegmaier 1950; Salas-Araiza & Boradonenko 2006.
		Pseudococcidae	1	Bendixen et al., 1981
Defolidador	Coleoptera	Chrysomelidae	30	Stegmaier 1950; Vogt & Cordo 1976; Capinera 1978; Baloch et al. 1981; Balsbaugh et al. 1981; Bendixen et al. 1981; Carrasco 1987; Wilson 1989; Tisler 1990; Julien 1992; Alex & Heal 1994; Waterhouse 1994; Cagán et al. 2006; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Aragón-García et al. 2011; Vráblová et al. 2001.
		Melolonthidae	11	Aragón-García et al. 2011; Pérez-Torres et al. 2011.

		Meloidae	10	Stegmaier 1950; Schuester 1987; Ves Losada & Covas 1987; Wilson 1989; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Pérez-Torres et al. 2011.
		Curculionidae	14	Stegmaier 1950; Fisher & O'Keefe 1979; Weaver & McWilliams 1980; Beevi & Abraham 1986; Ves Losada & Covas 1987; Okiwelu et al. 1988; Pérez-Panduro et al. 1990; Jena et al. 2000; Volovnik 1994; Waterhouse 1994; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Aragón-García et al. 2011.
		Melyridae	2	Waterhouse 1994; Louw & Myburgh 2000.
		Elateridae	1	Stegmaier 1950
		Alticinae	1	Jha et al. 1992; Salas-Araiza & Boradonenko 2006.
		Rutelidae	1	Jha et al. 1992
		Cerambycidae	1	Baloch et al. 1981
Defoliador	Lepidoptera	Arctiidae	6	Stegmaier 1950; Baloch et al. 1981; Ves Losada & Covas 1987; Okiwelu et al. 1992; Salas-Araiza & Boradonenko 2006.
		Geometridae	1	Baloch et al. 1981.
		Hesperiidae	3	Alex & Heal 1994; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Pérez-Torres et al. 2011; Aragón-García et al. 2011.
		Lycaenidae	2	Waterhouse 1994
		Noctuidae	22	Stegmaier 1950; Weaver & McWilliams 1980; Kranz et al. 1979; Bendixen et al. 1981; Kolaib et al. 1986; Carrasco 1987; Ves Losada & Covas 1987; Yábar-Landa 1987; Alvarado et al. 1989; Wilson 1989; Choo et al. 1992; Waterhouse 1994; Mujica & Berti 1997; Guerrero et al. 2000; Jena et al. 2000; Clarke-Harris et al. 2004; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Aragón-García et al. 2011; Pérez-Torres et al. 2011.
		Crambidae	9	Stegmaier 1950; Tawfik et al. 1976; Tingle et al. 1978; Ves Losada & Covas 1987; Wilson 1989; Jha et al. 1992; Waterhouse 1994; Guerrero et al. 2000; Clarke-Harris et al. 2004; Pérez-Torres et al. 2011; de Oliveira et al. 2012.
		Scythrididae	2	Stegmaier 1950; Baloch et al. 1981.
		Tortricidae	4	Stegmaier 1950; Mackay 1962; Waterhouse 1994.
		Plutellidae	1	Waterhouse 1994.
Defoliador	Orthoptera	Acrididae	12	Stegmaier 1950; Baloch et al. 1981; Vyas et al. 1983; Carrasco 1987; Jha et al. 1992; Jena et

				al. 2000; Pérez-Torres et al. 2011.
		Pyrgomorphyidae	1	Jena et al. 2000
		Tettigoniidae	1	Stegmaier 1950
Barrenador	Coleoptera	Curculionidae	20	Stegmaier 1950; Forsyth 1966; Tawfik et al. 1976; Pajni & Kohli 1990; Jha et al. 1992; Waterhouse 1994; Louw et al. 1995; Bürki et al. 1997; Vasicek et al. 1998; Wilson 1989; Terry & Lee 1990; Louw & Myburgh 2000; Anno-Nyako et al. 1991; Torres-Saldaña et al. 2004; Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Banjo 2007; Tara et al. 2009; Aragón-García et al. 2011; Pérez-Torres et al. 2011; Gültekin & Korotyaev 2012.
		Cerambycidae	2	Ves Losada & Covas 1997; Martínez et al. 1999.
Barrenador	Diptera	Agromyziidae	2	Spencer 1969; Spencer & Havranek 1989; Torres-Saldaña et al. 2004; Pérez-Torres et al. 2011.
		Anthomyiidae	1	Hering 1957.
Barrenador	Lepidoptera	Crambidae	1	Tingle et al. 1978; Clarke-Harris et al. 2004; Salas Araiza & Boradonenko 2006; Pérez-Torres et al. 2011; de Oliveira et al. 2012.
Minador	Diptera	Agromyzidae	10	Sweetman 1928; Stegmaier 1950; Hering 1957; Spencer 1969; Spencer 1973; Spencer & Steyskal 1986; Spencer & Havranek 1989.
		Anthomyiidae	6	Stegmaier 1950; Hering 1957.
		Drosophilidae	2	Stegmaier 1950; Hering 1957.
Minador	Lepidoptera	Gelechiidae	2	Hering 1957; Carrasco 1987; Mujica & Berti 1997.
		Noctuidae	1	Alex & Heal 1994.
Pegador de hojas	Lepidoptera	Tortricidae	2	Hering 1957; Jena et al. 2000.
Enruladores de hojas	Lepidoptera	Pyralidae	1	Waterhouse 1994.
		Tortricidae	1	De Haro & Martínez 1995.
Raedor	Thysanoptera	Phlaeothripidae	3	Stegmaier 1950; Tawfik et al. 1976; Waterhouse 1994.
		Thripidae	6	Stegmaier 1950; Tawfik et al. 1976; Bendixen et al. 1981; Yudin et al. 1988.

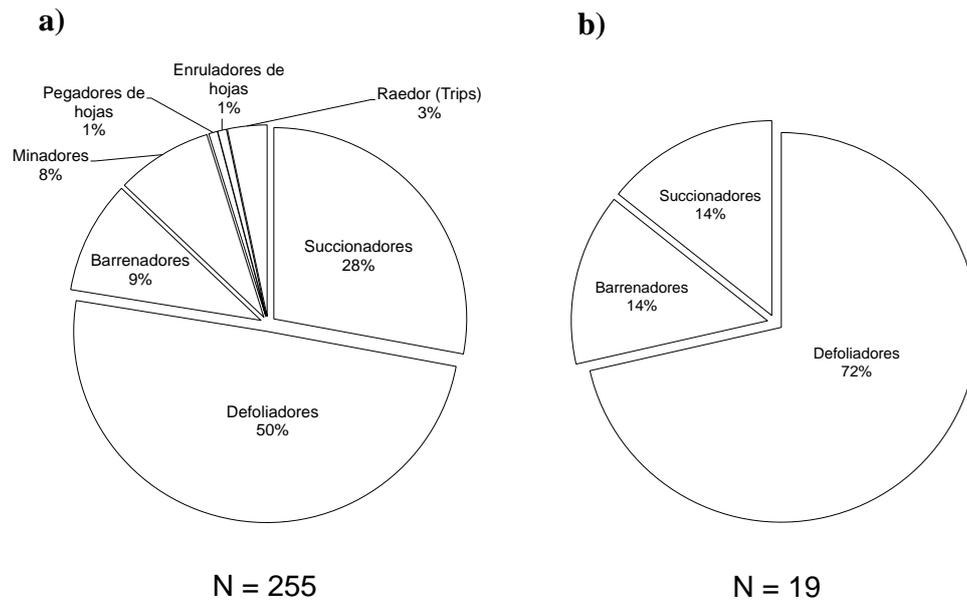


Figura 2.1: Abundancia relativa de gremios de insectos citados en plantas de *Amaranthus* spp. a nivel mundial (a) y observados en la provincia de La Pampa (b). N: número de especies.

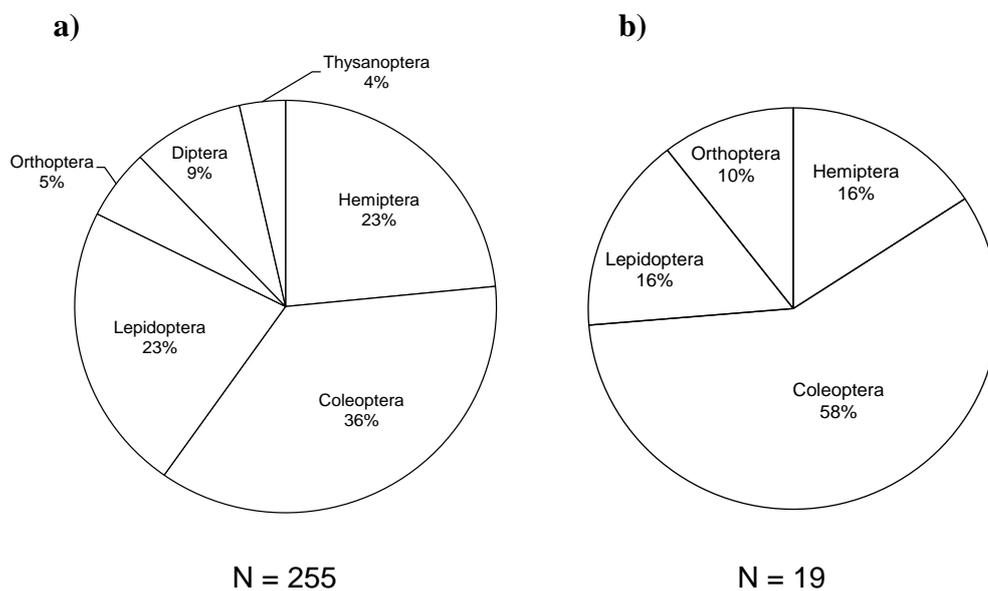


Figura 2.2: Abundancia relativa de especies en los órdenes taxonómicos de insectos citados en plantas de *Amaranthus* spp. a nivel mundial (a) y observados en la provincia de La Pampa (b). N: número de especies.

El número de especies de insectos asociados a plantas de *Amaranthus* difirió entre países americanos y no americanos. De acuerdo a los 42 estudios/referencias en América y 28 en otras partes del mundo, las plantas de amaranto tuvieron mayor número de especies fitófagas en el continente de origen respecto de otros lugares (Figura 2.3). Los insectos defoliadores, succionadores y enrolladores de hojas tuvieron en promedio el doble del número de especies en las áreas nativas respecto de las introducidas ($\chi^2_{\text{gremio}} = 12.69$, d.f. = 6, $p_{\text{gremio}} = 0.04$). Por el contrario, ninguna de las especies de insectos pegadores de hojas fue observada en el continente americano, en tanto que el número de especies barrenadoras e insectos con aparato bucal raedor fueron menores respecto de las áreas donde el amaranto es introducido. En cuanto a la estructura taxonómica, no se observaron diferencias significativas en el número de especies citadas en cada orden ($\chi^2_{\text{orden}} = 9.59$, d.f. = 5, $p_{\text{orden}} = 0.08$).

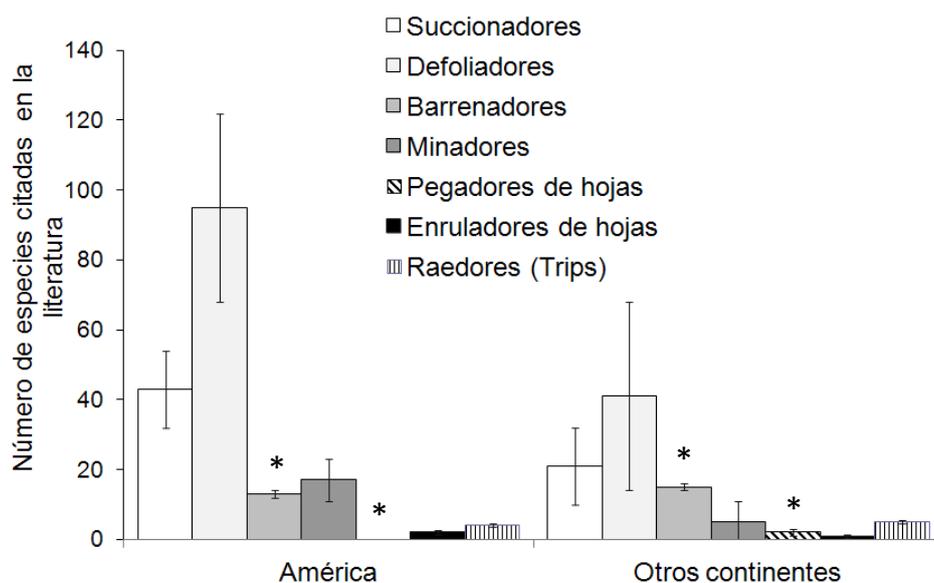


Figura 2.3: Riqueza promedio de especies en gremios en las comunidades de insectos fitófagos asociadas al género *Amaranthus* spp. en países americanos y en otros continentes, tomada de la literatura. Las barras de error representan el error estándar, y los asteriscos diferencias significativas según prueba de Chi-Cuadrado ($p < 0.05$).

2.4.2. Muestreo de insectos en cultivos de *Amaranthus* en Argentina

De un total de 1759 insectos registrados durante los dos años consecutivos en plantas de *Amaranthus*, 44 % pertenecieron al gremio de los succionadores ectofitófagos, 46 % al de los defoliadores y 10 % fueron endofitófagos barrenadores. El gremio de los defoliadores fue el grupo más grande y más rico. Estuvo representado por 8 familias de insectos con un total de 15 especies (Tabla 2.2; Figura 2.5a; Figura 2.7), mientras que el gremio de los succionadores y barrenadores estuvieron representados por 3 especies cada uno, pertenecientes a una familia en el caso del gremio succionador y a 2 familias en el caso del gremio barrenador (Tabla 2.2; Figura 2.5b-c). La curva de rarefacción de especies sugiere que el esfuerzo de muestreo es adecuado para estimar la riqueza total de especies que efectivamente se asocian a plantas de *Amaranthus* en este trabajo, ya que se alcanzaría una meseta en dicha curva en 17 especies (Figura 2.4).

Entre los defoliadores, *Epicauta adspersa* (Klug), *Achyra similalis* (Guenée) y *Naupactus verecundus* Hustache fueron las especies más abundantes con 53, 15 y 13% del total de los insectos del gremio (Figura 2.5a). *Chinavia musiva* (Berg) fue la especie predominante, aportando el 99% del total de los insectos succionadores (Figura 2.5c; Figura 2.7i). Las especies *Conotrachelus histrio* Boheman, *C. cervinus* Hustache and *Aerenea quadriplagiata* Boheman fueron las únicas especies barrenadoras, siendo predominante el primer género (Figura 2.5c; Figura 2.8). Los muestreos nocturnos indicaron que las especies de *C. cervinus* y *C. histrio* fueron activos en horas de la noche y se observaron siempre en parejas. Los adultos de la especie *A. quadriplagiata* fueron visualizados durante el día, aunque también fue posible observar algunos adultos activos durante la noche.

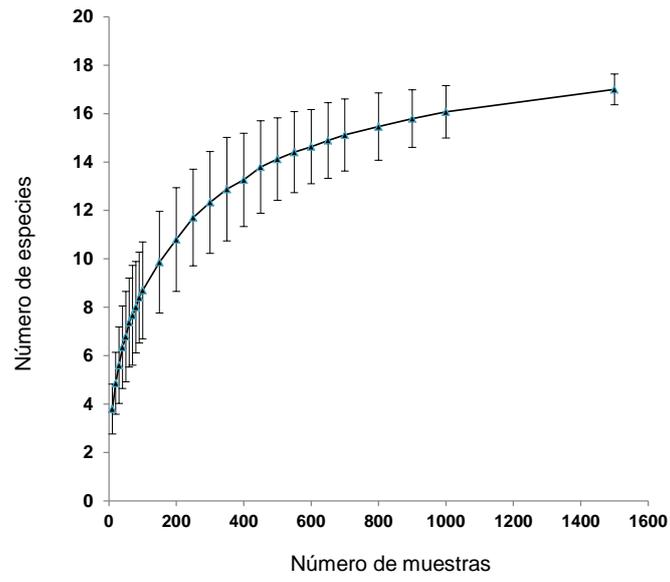


Figura 2.4: Curva de acumulación de especies fitófagas.

Tabla 2.2: Estructura taxonómica y funcional de insectos fitófagos registrados en plantas de *Amaranthus* spp. en los ensayos de campo.

Gremio	Orden	Familia	Especie	Número de especies	
Succionador	Hemiptera	Pentatomidae	<i>Edessa mediatubunda</i> (Fabricius)	2	
			<i>Nezara viridula</i> (L.)	6	
			<i>Chinavia musiva</i> (Berg)	773	
Defoliador	Lepidoptera	Crambidae	<i>Achyra similalis</i> (Guenée)	123	
			Noctuidae	<i>Rachiplusia nu</i> (Guenée)	11
				<i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith)	17
	Coleoptera	Meloidae	<i>Epicauta atomaria</i> (Germar 1821)	9	
			<i>Epicauta adspersa</i> (Klug)	430	
		Melyridae	<i>Astylus atromaculatus</i> Blanchard	35	
		Curculionidae	<i>Pantomorus viridisquamosus</i> (Boheman)	5	
			<i>Pantomorus auripes</i> Hustache	11	
			<i>Pantomorus ruizi</i> (Bréthes)	5	
			<i>Naupactus verecundus</i> Hustache	100	
	<i>Naupactus leucoloma</i> (Boheman)		1		
			<i>Conotrachelus histrio</i> Boheman	37 *	
			<i>Conotrachelus cervinus</i> Hustache		
Ortoptera	Acrididae	<i>Dichroplus maculipennis</i> (Blanchard)	3		
		<i>Dichroplus elongatus</i> Giglio-Tos	19		
Barrenador	Coleoptera	Cerambycidae	<i>Aerenea quadriplagiata</i> Boheman	65	
			Curculionidae	<i>Conotrachelus histrio</i> Boheman	107 *
		<i>Conotrachelus cervinus</i> Hustache			

*Los valores corresponden a las especies *Conotrachelus histrio* Boheman y *C. cervinus* Hustache juntas.

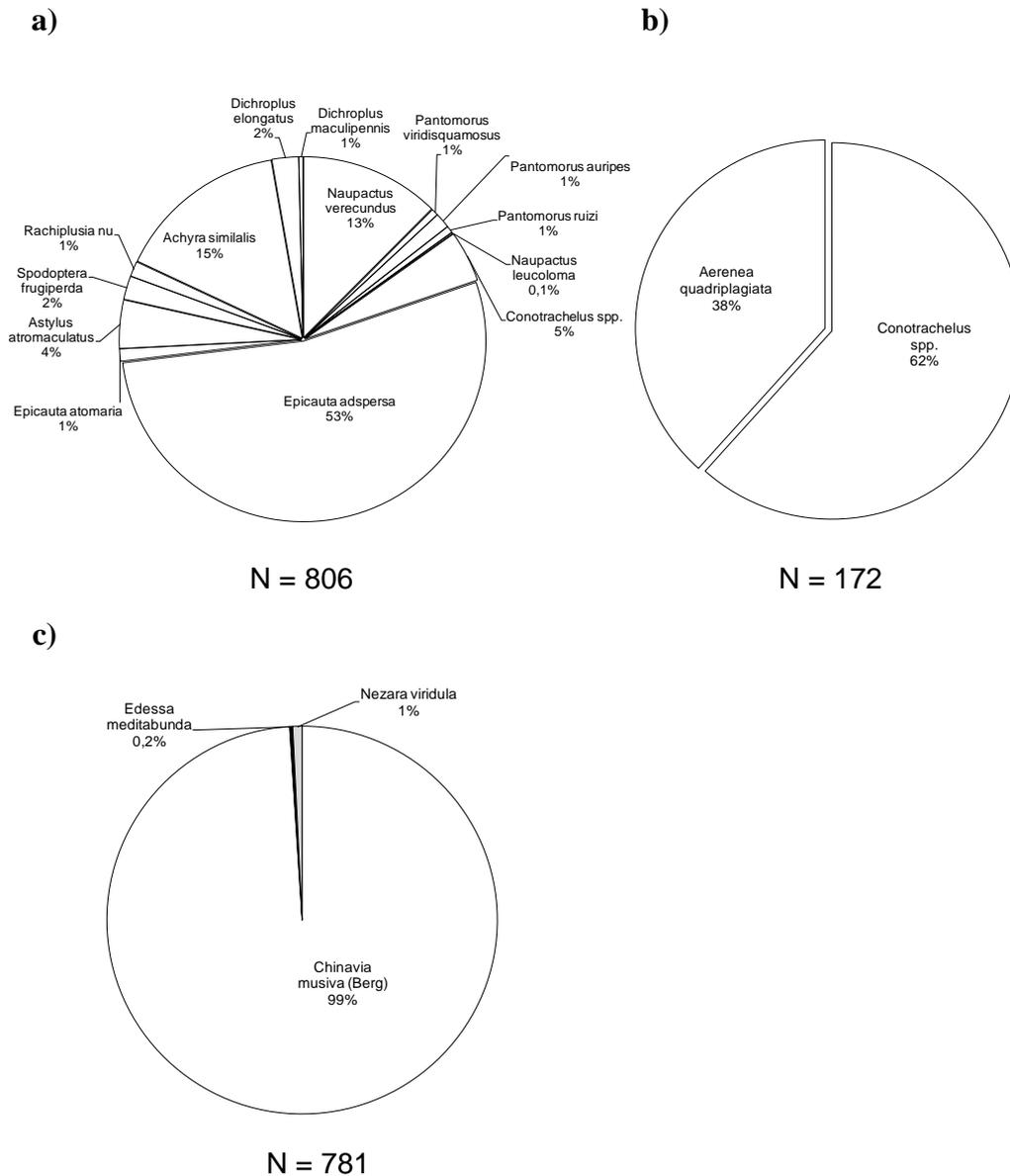


Figura 2.5: Abundancia relativa de especies de cada gremio observados sobre *Amaranthus*. a) Defoliadores (adultos), b) Barrenadores (estado larval), c) Succionadores (adultos).

El gremio de los succionadores se alimentó en las panojas, mientras que los incluidos como defoliadores se observaron tanto en hojas (92.6% n = 746 adultos) como en inflorescencias (7.4%). El gremio de barrenadores también se registró en tallos y en inflorescencias, siendo la cantidad de larvas observadas en tallos aproximadamente

cuatro veces mayor a la densidad observada en panojas ($n = 137$ larvas). Del total de las plantas examinadas ($n = 319$), el 63.8 % de las plantas estuvo afectada por este gremio.

La densidad de las especies de insectos en cada gremio varió en los diferentes momentos del desarrollo del cultivo (Figura 2.6). La densidad más alta de insectos barrenadores y succionadores se observó a partir del mes de Febrero en coincidencia con la fase reproductiva de la planta; a diferencia de los defoliadores, que se registraron desde la emergencia hasta la madurez fisiológica de las panojas.

Las comunidades de insectos fitófagos observados en las plantas de *Amaranthus* en los ensayos de este trabajo no difirieron con los reportados a nivel mundial en cuanto a la riqueza de especies en los gremios ($\chi^2_{\text{gremio}} = 5.06$, d.f. = 6, $p_{\text{gremio}} = 0.53$, Figura 2.1b) ni en los órdenes ($\chi^2_{\text{orden}} = 6.05$, d.f. = 5, $p_{\text{orden}} = 0.29$, Figura 2.2b).

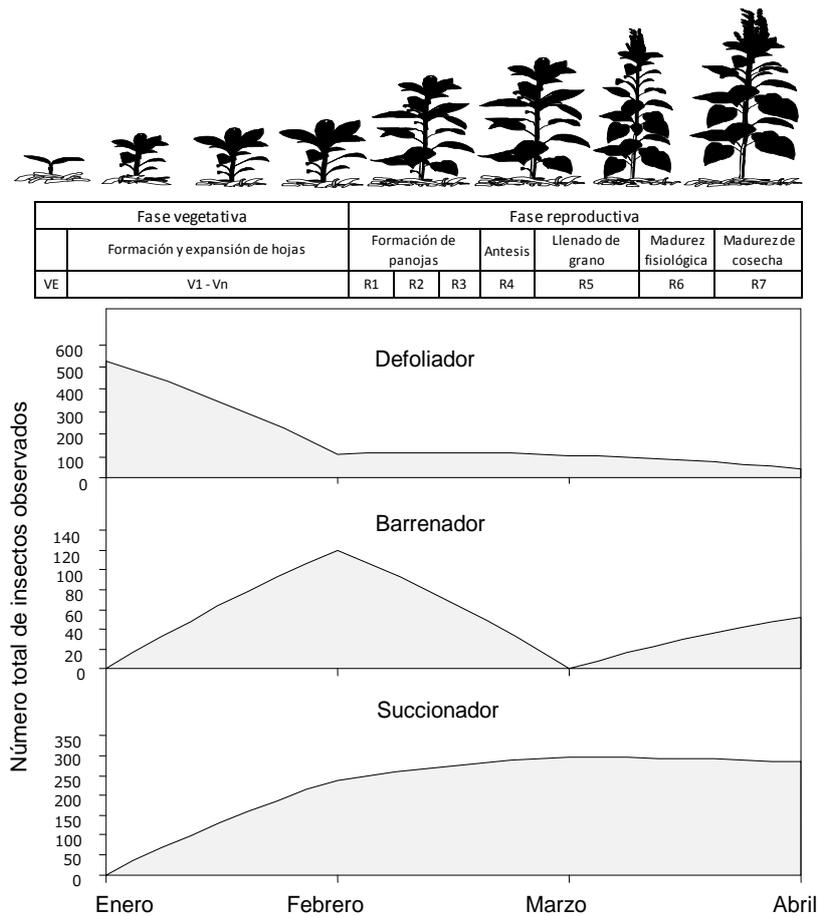


Figura 2.6: Densidad de los gremios de insectos observados en las distintas etapas fenológicas de las plantas de *Amaranthus* (Mujica & Quillahuamán 1989) durante dos temporadas de crecimiento (2007-2008 y 2008-2009). La apariencia general de las plantas en cada etapa fenológica se ilustra en la parte superior de la tabla.

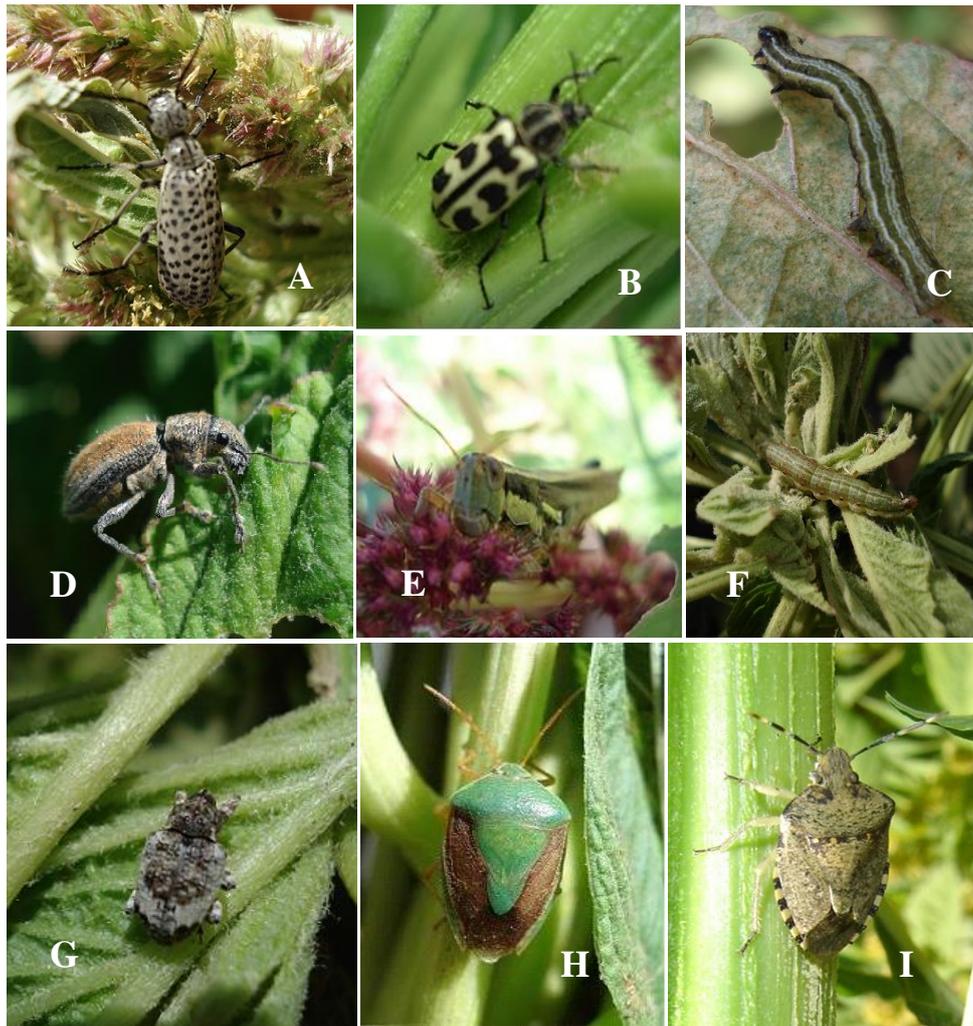


Figura 2.7: Insectos fitófagos de *Amaranthus*: a) *Epicauta adspersa* (Klug), b) *Astylus atromaculatus* Blanch, c) *Rachiplusia nu* (Guenée), d) *Naupactus verecundus* Hustache, e) *Dichroplus elongatus* G.Tos, f) *Achyra similalis* (Guenée), g) *Conotrachelus histrio* Boheman, h) *Edessa meditabunda* (F.), i) *Chinavia musiva* (Berg).

2.5. Discusión

2.5.1. Comunidad de insectos fitófagos citados a nivel mundial en *Amaranthus*.

Del total de los insectos reportados en plantas de *Amaranthus*, el gremio de defoliadores y succionadores representan los grupos más abundantes a nivel mundial.

Dentro de estos grupos se destacaron las familias Cicadellidae y Miridae en el primer grupo y Chrysomelidae, Noctuidae, Curculionidae en el segundo. Los insectos barrenadores y minadores siguieron en abundancia, con un porcentaje similar de 9 y 8% de los insectos totales, respectivamente. Ambos gremios estuvieron representados por pocas familias. Más del 76% de las especies barrenadoras pertenecieron a la familia Curculionidae, mientras que un porcentaje similar de las especies de minadores de hojas pertenecieron a la familia Agromyzidae y Anthomyiidae (ambos Diptera). A pesar de que el gremio de insectos barrenadores representa una pequeña proporción del total de los insectos fitófagos asociados al amaranto, es un grupo que siempre se asocia a las plantas de amaranto, a escala mundial. El gremio de barrenadores, junto con el grupo de masticadores y succionadores, representaron los insectos fitófagos más comunes para el género *Amaranthus*. Por el contrario, el gremio de pegadores, enruladores de hojas y de insectos raedores parecen ser grupos que raramente se asocian al cultivo y existe poca información acerca de los posibles daños que ocasionan (De Haro & Martínez 1995; Jena et al. 2000). En el caso particular de los minadores de hojas, este gremio es mencionado mayormente en especies de amaranto de crecimiento espontáneo en comparación con las especies cultivadas (Stegmaier 1950; Spencer 1973; Spencer & Havranek 1989; Alex & Heal 1994), por lo que cabe esperar que no tengan mayor importancia en los cultivos.

Los trabajos recopilados indicaron que las plantas de amarantos cultivados en lugares donde fueron introducidos (países no americanos) presentan menor número de especies fitófagas respecto los insectos reportados en América. Si bien la diferencia en el número de estudios disponibles en la literatura sobre la entomofauna de amaranto en América (n=42) y en otras partes del mundo (n=28) puede limitar los alcances de la comparación que aquí se presenta, los resultados coincidirían con las predicciones de la hipótesis de la liberación de los enemigos naturales (Keane & Crawley 2002). La diferencia en número de estudios realizados en América y en el resto del mundo no invalida la comparación referida a la proporción relativa en que se encuentran los distintos grupos funcionales en áreas geográficas donde el amaranto es nativo o introducido. El gremio de los minadores de hojas presentó menor cantidad de especies en comparación con los insectos ectofitófagos: defoliadores y succionadores. Esto coincide con trabajos que indican que las plantas en áreas distintas a la de su origen geográfico son menos atacadas por insectos herbívoros especialistas y endofitófagos

(Liu & Stilling 2006). Esto se debe a que los insectos que tienen relación estrecha con las plantas necesitan mayor tiempo para incluir un nuevo huésped en su rango alimenticio, a diferencia de los insectos ectofitófagos. Sin embargo, esto no se observó para todos los insectos endofitófagos, ya que la proporción de barrenadores fue menor en América respecto del observado en amaranto en sitios geográficos donde se lo introdujo. Dos posibles causas pueden mencionarse. Por una parte, se debe considerar que la riqueza de especies fitófagas en un área geográfica es afectada por numerosos factores entre los cuales se destaca el área de distribución de la planta, la estructura e interacción entre comunidades y el esfuerzo de muestreo, entre otros (Strong et al. 1984; Colautti et al. 2004). En este último aspecto, es posible que la lista de insectos barrenadores esté aún incompleta en su lugar de origen (América Central y Sudamérica) donde otras especies de *Amaranthus* no han sido evaluadas en relación a sus insectos asociados, por no tener incidencia directa en la agricultura (ni como malezas ni como cultivo de grano) o por que sólo prosperan en lugares de altitud, a más de 2500 msnm (Bayón 2007; Bayón & Peláez 2012). En consecuencia, no se descarta que existan más especies de insectos de las que actualmente se citan en la literatura. Por otra parte, debido a que el género *Amaranthus* es particularmente vulnerable al gremio de barrenadores y la riqueza de especies en este grupo en general es particularmente alta en África y Europa (Louw et al. 1995; Bürki et al. 1997; Anno-Nyako et al. 1991; Clarke-Harris et al. 2004; Banjo 2007; Gültekin & Korotyayev 2012), es posible que las plantas de *Amaranthus* sean afectadas por otros insectos barrenadores en aquellas áreas donde las plantas fueron introducidas (Bürki & Nentwig 1997).

2.5.2. Comunidad de insectos fitófagos en cultivos de *Amaranthus* en Argentina.

Los resultados obtenidos en los muestreos fueron consistentes con los resultados a nivel mundial, observándose los tres grupos más importantes: defoliadores, succionadores y barrenadores que se mencionan en la literatura. La abundancia relativa de las especies y la presencia de familias en cada gremio varió entre los registrados en este trabajo y los citados a nivel mundial, pero las familias más citadas en el grupo de defoliadores y barrenadores fueron también las más observadas en este trabajo.

Dentro del gremio de los defoliadores, la familia Meloidae (Coleoptera) fue la más importante. *Epicauta adspersa* (Klug) representó el 53 % del total de los insectos

en este gremio seguido por *Achyra similalis* y *Naupactus verecundus*, con el 15 y 12 % respectivamente. *Epicauta adspersa* se registró durante todo el desarrollo del cultivo, sin embargo, la mayor densidad de esta especie se registró en el mes de enero, momento en que ocasionó intensas defoliaciones en plantas jóvenes comprometiendo en algunos casos la dotación inicial de plantas de los ensayos. *Epicauta atomaria* (Germar, 1821) en cambio, se presentó esporádicamente y con densidades muy bajas. En Argentina, Ves Losada & Covas (1987) reportaron previamente éstas especies junto con *Epicauta pluvialis* Borchmann. Si bien no aportan datos de las densidades en que se presentaron, señalan que los ejemplares recolectados ocasionaron daños severos al follaje. La voracidad de *E. adspersa* observada en este trabajo, coincide además con observaciones de otro meloideo, *Epicauta leopardina* Haag en la que se indica incluso la pérdida completa del follaje en plantas de amaranto (Schuester 1987). Otras especies del mismo género, *Epicauta cinerea* (Fabricius, 1798) y *E. pennsylvanica* (DeGeer) son mencionadas en cultivos de *Amaranthus* en México (Kaufmann & Weber 1990; Henderson et al. 1993; Pérez-Torres et al. 2011). Mientras que para la primera especie se indica daños en follaje de hasta el 80% en plantas de *A. hypochondriacus*, (Pérez-Torres et al. 2011), para *E. pennsylvanica* no se citan daños de importancia (Kaufmann & Weber 1990; Henderson et al. 1993), e incluso algunos autores sugieren que si bien la especie se observa sobre *Amaranthus* spp., los insectos no se alimentarían de éste cultivo (Salas-Araiza & Boradonenko 2006).

Otra especie defoliadora importante en las etapas vegetativas fue *Achyra similalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae). Las larvas de esta especie se caracterizaron por producir una fina tela de seda en las hojas junto con el curvamiento de la lámina foliar. Esta especie, también observada en las etapas de floración y fecundación del cultivo, registró su mayor densidad en el mes de enero. Aunque la literatura menciona que las larvas de esta especie también se alimentan de inflorescencias ocasionando aglomeración de las estructuras florales (Guerrero et al. 2000), los individuos de *A. similalis* en este estudio siempre se observaron en las hojas. Es oportuno destacar que se registraron ramas florales cortadas, pero no fue posible determinar si este daño fue ocasionado por *A. similalis* o por otras especies de insectos. Además de los estadios larvales se observaron ejemplares adultos de esta especie en el cultivo, principalmente en horas de la tarde, y cuya densidad no se cuantificó. Previamente, Stegmaier (1950) reportó el estadio pupal en *A. retroflexus* en tanto que

Guerrero et al., (2000) observaron todos los estadios del insecto en *A. cruentus*, sugiriendo estos autores que *A. similalis* desarrolla su ciclo completo en *Amaranthus*. Otros lepidópteros, *Spodoptera frugiperda* (Smith) y *Rachiplusia nu* (Guenée) se registraron a lo largo del desarrollo del cultivo, siendo sus densidades considerablemente inferiores a las de *A. similalis*. A pesar de la baja incidencia de estas especies observada en este trabajo, tanto *S. frugiperda* como *R. nu*, son plagas importantes en diferentes cultivos como girasol, alfalfa y maíz, por lo que podrían considerarse entre la plagas potenciales del cultivo de amaranto. Del mismo modo, las especies de tucuras *Dichroplus elongatus* Giglio-Tos y *D. maculipennis* (Blanchard) se observaron esporádicamente alimentándose del follaje, y la densidad de ambas no produjo daños de importancia.

Alimentándose del follaje, se observaron varias especies de gorgojos (Coleoptera: Curculionidae) de los cuales *Naupactus verecundus* Hustache fue la especie dominante. Los gorgojos observados, con excepción de *Conotrachelus* spp., fueron especies asociadas al cultivo de alfalfa, donde se alimentan de raíces, hojas, tallos y brotes tiernos (Lanteri 1994; Gopar & Ves Losada 2004). En las plantas de *Amaranthus* se observaron daños sobre el follaje y sólo dos especies, *N. verecundus* y *Pantomorus ruiji* (Bréthes), se registraron consumiendo flores.

Respecto de los insectos observados en panojas, la literatura menciona varias especies de hemípteros alimentándose de las inflorescencias de *Amaranthus* (Salas-Araiza & Boradonenko 2006; Pérez-Torres et al. 2011; Aragón-García et al. 2011). En este trabajo, sólo tres especies se registraron, de las cuales *Edessa meditabunda* (F.) y *Nezara viridula* (L.) (Pentatomidae) fueron ocasionales, en tanto que en la misma familia, la especie *C. musiva* fue predominante, con el 99 % del total de los insectos observados en panojas. Este insecto se registró en el cultivo a partir del mes de enero, incrementando su densidad a partir de la etapa de floración (meses de febrero) hasta la etapa de llenado de grano, momento en el que se alimentó en semillas inmaduras aunque no se descarta que también lo hiciera en las ramas florales. *Astylus atromaculatus* (Coleoptera: Melyridae), fue otro insecto observado en las inflorescencias, se registró en un periodo acotado, desde fines de febrero hasta principios de abril, y la mayor densidad de individuos se registró en Marzo. Trabajos previos indicaron su presencia en cultivos hortícola de *A. hybridus* (Louw & Myburgh 2000) y en malezas de *A. quitensis*, además de ser una especie habitual en diferentes

cultivos, algodón, sorgo y alfalfa, entre otros (Nemirovsky 1972). En este estudio, los adultos de *A. atromaculatus* se observaron alimentándose en las inflorescencias y en las hojas.

Los insectos barrenadores fueron muy importantes en el mes de febrero, en coincidencia con etapas avanzadas del cultivo. Las tres especies barrenadoras observadas: *Aerenea quadriplagiata* Boheman, *Conotrachelus histrio* Boheman y *Conotrachelus cervinus* Hustache fueron registradas anteriormente en plantas de *Amaranthus*, tanto malezas como cultivadas (Bosq 1943; Ves Losada & Covas 1987; Vasicek et al. 1998; Di Iorio et al. 1998; Riquelme et al. 2013), sin embargo, en este trabajo se menciona por primera vez la ocurrencia simultánea de las tres especies en tallos de este cultivo. *Conotrachelus cervinus* Hustache es una especie introducida en América, que en Argentina se observó alimentándose en el follaje de varios cultivares de *Amaranthus* (Ves Losada & Covas 1987), sin que fuese mencionada en su condición de barrenador. *Conotrachelus histrio* Boheman, por otra parte, fue señalada como un eficiente bio-controlador de la maleza *Amaranthus quitensis* en cultivos de soja debido al intenso barrenado que efectúa en las plantas (Vasicek et al., 1998). *Conotrachelus histrio* Boheman ha sido mencionado también como sinónimo de *Conotrachelus coelebs* Boheman, sin embargo, a partir de material obtenido en este estudio, se confirmó que se trata de dos especies diferentes, confundidas desde 1986 (Dr. Charles O'Brien, comunicación personal).



Figura 2.8: Especies barrenadoras observada en plantas de *Amaranthus*. De izquierda a derecha: *Conotrachelus cervinus* Hustache, *Conotrachelus histrio* Boheman y *Aerenea quadriplagiata* Boheman.

La complejidad del género *Conotrachelus* sumado a que contiene más de 1.100 especies diferentes (O'Brien & Wibmer Couturier 1982; Wibmer & O'Brien 1986), es

la causa de que pocos trabajos taxonómicos y morfológicos se hayan realizado sobre el género. A pesar de esto, se han informado datos biológicos para algunas especies de importancia económica, tales como *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) plaga en frutos de carozo y pepita (O'Brien & Couturier 1995), *Conotrachelus naso* LeConte en frutos de "encinas" (*Quercus* sp.) (Gibson 1964), *Conotrachelus psidii* Marshall en "guayabas" (*Psidium guajava* spp.) (Orlando et al. 1974) y *Conotrachelus eugeniae* O'Brien en "guayaba amazónica" (*Eugenia stipitata* McVaugh) (O'Brien & Couturier 1995). En las especies mencionadas, los estadios juveniles de *Conotrachelus* son los que producen los mayores daños en las plantas. Las hembras oviponen dentro de tallos principales y ramificaciones laterales, donde luego la larva se alimenta realizando el trazado de túneles en sentido longitudinal, para finalmente empupar en el suelo.

Otras especies barrenadoras de la familia Curculionidae en plantas de *Amaranthus*, parecen cumplir ciclos similares al descrito. Tal es el caso de la especie *Hypolixus truncatulus* Boh. mencionada en India (Gupta & Rawat 1954), *Hypolixus rhomboidalis* Boheman en Ghana (Forsyth 1966), *Hypolixus haerens* (Boheman); *Gasteroclisus cf. cuneiformis* (Fahraeus) y *Neocleonus sannio* (Herbst), éstas dos últimas registradas en África (Louw et al. 1995; Weber et al. 1990; Wilson 1990). *Baris cf. dodoris* Marshall, otra especie barrenadora en África, incluso cumple su estado pupal dentro de los túneles producidos en el tallo (Louw et al. 1995). *Baris cf. dodoris* Marshall afecta no sólo los tallos sino también las raíces, de las que se alimenta al igual que se menciona para *Conotrachelus seniculus* Lec. y *Stictobaris ornatella* Casey (Louw et al. 1995; Terry & Lee 1990; Dr. Delano-Frier, comunicación personal). En el caso de *C. seniculus* Lec., las hembras oviponen en los tallos muy cerca del suelo, y luego las larvas perforan las raíces, provocando el debilitamiento y la caída posterior de las plantas (Terry & Lee 1990; Wilson 1989). En este trabajo, las oviposiciones de los barrenadores se ubicaron alejadas de la zona del cuello y las raíces no fueron afectadas. Las plantas con intensa barrenación en los tallos fueron susceptibles a quiebres y caídas de panojas, con posterior pérdida de semillas, en coincidencia con observaciones en plantas afectadas por *C. seniculus* Lec. Sin embargo, las observaciones realizadas en este trabajo indicaron que la causa de los quiebres y caídas de las plantas fue consecuencia del debilitamiento de los tallos, y no por daños en las raíces, como sucede con ataques de *C. seniculus* Lec. Por su parte, *Aerenea quadriplagiata* Boheman, la tercera especie barrenadora registrada en los muestreos, se alimenta de plantas del

género *Amaranthus* (Bosq 1943; Hayward 1960; Di Iorio et al. 1998) y su ciclo biológico es similar a *Conotrachelus*. Al parecer, *A. quadriplagiata* tiene una mayor distribución en la provincia de Buenos Aires, donde fue citada como la única especie barrenadora en ensayos con cultivos de *Amaranthus* (De Haro & Martínez 1995; Riquelme et al. 2013). En este trabajo, los adultos de ésta especie no se observaron alimentándose del cultivo y presentaron hábitos nocturnos.

Si bien la mayoría de las especies barrenadoras mencionadas en *Amaranthus* pertenecen al orden Coleoptera, existen insectos de otros órdenes que también producen daños en los tallos, como sucede con *Amauromyza abnormalis* (Malloch) (Diptera: Agromyzidae) (Torres-Saldaña et al. 2004) y *Herpetogramma bipuntalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) (de Oliveira et al. 2012), pero que no fueron registrados en este estudio. *Amauromyza abnormalis* es una plaga documentada en México, cuyas larvas minan tallos y raíces de diferentes plantas de las familias Chenopodiaceae y Amaranthaceae (Spencer 1981; Spencer & Steyskal 1986). En *Amaranthus* cultivados, los ataques de *A. abnormalis* ocurren poco tiempo después de la siembra y permanecen hasta la cosecha. Las larvas emergen de los tallos para empupar en el suelo, aunque en ciertos casos las pupas pueden permanecer dentro de los tallos (Spencer 1981). Asimismo, *H. bipuntalis*, especie de amplia distribución en la zona tropical (Allyson 1984), es mencionada causando graves daños en cultivos de *Amaranthus* en México y Brasil (Pérez-Torres et al. 2011; de Oliveira et al. 2012). Los diferentes estadios larvales que se desarrollan en el tallo (de Oliveira et al. 2012) indican que esta especie, al igual que se menciona para *A. abnormalis* y *A. similalis*, puede completar su ciclo de vida en las plantas de *Amaranthus*.

Capítulo 3

Diferencias morfológicas, químicas y fenológicas de cinco cultivares de *Amaranthus* (*Amaranthus spp.*) y su relación con la abundancia, riqueza y herbivoría de los insectos asociados al cultivo.

3.1. Introducción

Los insectos y las plantas constituyen dos grupos de fundamental importancia en el mundo terrestre, tanto por su riqueza de especies como por su aporte de biomasa (Strong et al. 1984; May 1988; Wilson 2001). De la biomasa vegetal total producida anualmente en los ecosistemas naturales y agrícolas, se estima que los herbívoros consumen alrededor del 10 al 15 % (Cyr & Pace 1993), actuando como importantes intermediarios en el flujo de energía entre los organismos autótrofos y los diferentes niveles de las redes tróficas (Cyr & Pace 1993; Agrawal 2011). La presión de herbivoría ha generado en las plantas la producción de una amplia variedad de características defensivas que median en la interacción con los herbívoros (Ehrlich & Raven 1964; Karban & Baldwin 1997; Karban 2011).

Diversos caracteres morfológicos y arquitectónicos de las plantas han sido considerados para explicar las diferencias en la herbivoría por insectos fitófagos (Lawton 1983; Alonso & Herrera 1996; Soroka & MacKay 1990; Cornelissen & Stiling 2011). Se

ha demostrado que estructuras físicas en la superficie de las hojas tales como espinas, tricomas, y cutículas gruesas inciden negativamente en los herbívoros, al impedir la alimentación mecánica (Gilbert 1971; Hoffman & McEvoy 1985; Gorb et al. 2008), afectar los movimientos de desplazamiento (Ramalho et al. 1984; Wilkens et al. 1996; Oghiakhe et al. 1992) e incluso lastimar la superficie corporal de los mismos (Gilbert 1971). Las plantas, a su vez, pueden generar estructuras especiales de acuerdo al tipo de daño o a los insectos a los que están continuamente expuestas. Algunas especies de plantas producen hojas especiales para proteger brotes y yemas en desarrollo (Kobayashi et al. 2008), en tanto que otras pueden generar estructuras que imitan las oviposturas de su principal herbívoro, y con ello disminuir la probabilidad de que las hembras de esta especie elijan estas plantas para oviponer (Williams & Gilbert 1981). La variación de las formas y estructuras de los órganos vegetales influyen de manera significativa en los insectos que tienen estrecha relación con la planta huésped. Al respecto, Møller (1995) reporta que hojas asimétricas en árboles de olmos afectan la abundancia de algunas especies de minadores de hojas, en tanto que en plantas de maíz, la longitud meristemática del tallo en la zona de entrada de insectos barrenadores es un importante indicador de resistencia y/o vulnerabilidad en la planta (Santiago et al. 2003). A su vez, características arquitectónicas definidas por la ramificación, el espaciamiento de los tejidos vegetales y la complejidad de estructuras son caracteres relacionados con la susceptibilidad de la planta a herbívoros (Lawton 1983). Una gran ramificación y espaciamiento de los órganos vegetales (hojas, flores) pueden disminuir la cantidad de los insectos fitófagos al incrementar los costos de locomoción y alterar el acceso a los recursos (Kareiva & Sahakian 1990; Alonso & Herrera 1996). Plantas con entrenudos largos son menos preferidas por insectos que adhieren hojas con seda para alimentarse entre ellas (pegadores de hojas), al dificultárseles el manipuleo de las mismas (Marquis et al. 2002). Estudios realizados en plantas de poroto indican que la arquitectura impacta sobre la aglomeración de áfidos cuando estos se encuentran en alta densidades, y que la población de estos insectos disminuye en genotipos de menor follaje (Kareiva & Sahakian 1990; Soroka & Mackay 1990). Por otra parte, la complejidad arquitectónica puede generar diversificación de nichos ecológicos, y por tanto las plantas presentar mayor riqueza y abundancia de insectos asociados (Price et al. 1980; Strong et al. 1984). De manera indirecta, este mismo atributo en las plantas puede aumentar o disminuir la exposición de los insectos fitófagos a los predadores y/o parasitoides (Clark & Messina 1998; Alonso & Herrera 1996; Mulatu et al. 2004), como también generar microambientes

que son utilizados por estados inmaduros de muchas especies de insectos (Willmer 1986; Soroka & MacKay 1990).

Los rasgos fenológicos de las plantas también pueden influir en los insectos fitófagos por dos motivos (Basset 2001; Summerville & Crist 2003). En primer lugar, por determinar la disponibilidad de las plantas en el tiempo para ser consumidas por los insectos (Price 1997; Yukama 2000) y con ello reducir o evitar el solapamiento de su ciclo de vida con el de los herbívoros predominantes (Pilson 2000). Y en segundo lugar, porque las plantas presentan variaciones nutricionales de sus tejidos (Feeny 1970; Espírito-Santo et al. 1999; Basset 2001; Murakami et al. 2008) y en sus características defensivas, tanto físicas (Traw & Fenny 2008) como químicas (Ohnmeiss & Baldwin 2000; Elger et al. 2009; Barton & Koricheva 2010), en las diferentes etapas de su desarrollo.

Finalmente, la presencia de compuestos químicos en los tejidos vegetales, es indicado como un importante carácter con efectos en la preferencia y performance de los insectos herbívoros (Simmonds 2003; Rasmann et al. 2009; Moore et al. 2013). La producción de compuestos cardenólidos es ampliamente citada como una característica anti-herbívoro (Rasmann et al. 2009; Green et al. 2011; Agrawal et al. 2012), cuya concentración en las plantas se correlaciona negativamente con el desarrollo larval de varios insectos (Zalucki et al. 2001; Agrawal 2004; Rasmann et al. 2009) y con la preferencia de oviposición en otros (Zalucki et al., 1990). Otros compuestos como los taninos, son considerados importantes sustancias en la defensa química (Feeny 1976; Coley et al. 1985; Herms & Mattson 1992). La función defensiva comúnmente propuesta para este grupo de compuestos es la formación de complejos con las proteínas vegetales, que disminuyen el valor nutritivo de las plantas al no poder ser digeridas por los insectos (Fenny 1969; Forkner et al. 2004), aunque una revisión reciente (Salminen & Karonen 2011) sugiere que, al menos para ciertos taninos poco estudiados, el daño que causan a los organismos también estaría provocado por su capacidad oxidativa. A su vez, la literatura menciona una extensa lista de compuestos secundarios que desempeñan un rol relevante en la ecología y evolución de la defensa de las plantas (Simmonds 2003; Theis & Lerdau 2003; Berenbaum & Zangerl 2008; Orians & Ward 2010). Dentro del grupo, se conoce que los ácidos fenólicos actúan como sustancias disuasivas e incluso tóxicas para los insectos no adaptados (Després et al. 2007; Boeckler et al. 2013). Estos compuestos reducen la digestibilidad y con ello el valor nutricional de la planta (Bi et al. 1997; Lattanzio et al. 2006). A su vez, se reporta que pueden inducir estrés oxidativo en los herbívoros (Summer

& Felton 1994), y su efectividad dependerá de la capacidad de los insectos para desintoxicarse y metabolizar los compuestos ingeridos. Otros metabolitos secundarios, como ocurre con algunos flavonoides, pueden producir el efecto contrario y actuar como sustancias fagoestimulantes en los insectos (Lattanzio et al. 2006). En algunos casos, los insectos pueden secuestrar estas sustancias en la cutícula del cuerpo y utilizarla para protegerse de predadores y patógenos (Simmonds 2003; Mizokami & Yoshitama 2009), como también acumularlas en las alas y utilizarlas en la comunicación visual entre individuos (Burghardt et al. 2000, 2001). El amplio efecto que los metabolitos secundarios muestran en relación con los insectos dependerá de las concentraciones en los tejidos vegetales (Blaney & Simmonds 1983) pero también de la presencia de otras sustancias sinérgicas o antagónicas en la planta (Ruuholta et al. 2001; Green et al. 2003; Pascacio-Villafán et al. 2014).

Las plantas presentan diferentes atributos simultáneamente, por lo que es probable una interacción sinérgica entre los diferentes caracteres (físicos, fenológicos, químicos, etc.). Si este es el caso, los niveles de defensa serían más fuertes que si actuaran de manera independiente (Kursar & Coley 2003; Rasmann & Agrawal 2009; Carmona et al. 2011), lo cual ha sido considerado en la hipótesis de síndrome de la defensa de las plantas (Agrawal & Fishbein 2006).

En *Amaranthus*, trabajos referidos a características de la planta y su relación con insectos fitófagos son escasos. Sin embargo, se ha mencionado que características morfológicas de los tallos puede influir en la tasa de ataque de insectos barrenadores (Torres-Saldaña et al. 2004; Riquelme et al. 2013) mientras que características de coloración de tallos, inflorescencia y semillas se relacionaron con diferentes grados de susceptibilidad a infestación de insectos succionadores (Umeh et al. 2009). En cuanto a las características químicas, diferentes flavonoides y compuestos fenólicos han sido reportados en hojas de *Amaranthus* (Cai et al. 2005; Suryavanshi et al. 2007; Steffensen et al. 2011) poniéndose énfasis en su importancia para la alimentación humana. Sin embargo, no existen estudios referidos al papel de los metabolitos secundarios de las plantas en la interacción con sus insectos asociados.

Respecto a los mecanismos de tolerancia, estudios previos han demostrado que en las plantas de *Amaranthus cruentus* y *A. hypochondriacus* se inducen cambios metabólicos y enzimáticos luego de la defoliación (Sánchez-Hernández et al. 2004; Delano-Frier et al. 2004, 2011). Estos trabajos también indican que plantas de estas especies se recuperan de

la defoliación mecánica por crecimiento compensatorio, el cual es dependiente de varios factores (Martínez-Moreno et al. 1999; Vargas-Ortiz et al. 2013). En otras especies vegetales, se ha señalado que la tolerancia puede diferir de acuerdo a si el daño en las plantas fue mecánico o producido por los herbívoros (Heil 2010; Quentin et al. 2010). En plantas de *Amaranthus* que sufrieron distinto tipo de daño (mecánico o herbivoría) se han observado respuestas diferenciales en la expresión de genes, actividades enzimáticas y producción de carbohidratos (Castrillón-Arbeláez et al. 2012). Sin embargo, aún no se han realizados estudios que relacionen la productividad en *Amaranthus* con el daño causado por herbívoros.

3.2. Objetivo específico

Analizar el posible efecto de características morfológicas, fenológicas y químicas sobre la susceptibilidad de las plantas de *Amaranthus* al ataque de insectos fitófagos.

Se plantean en este capítulo tres hipótesis para investigar el objetivo específico:

Hipótesis 1: Bajo la hipótesis de que los cultivares de *Amaranthus* difieren en sus características morfológicas, fenológicas y químicas que afectan su vulnerabilidad a los insectos fitófagos, se predice que distintos cultivares presentarán diferencias en la riqueza y abundancia de insectos fitófagos asociados. Se ha observado que plantas filogenéticamente más cercanas sostienen comunidades de insectos fitófagos más similares que otras más alejadas taxonómicamente (Lewinsohn et al. 2005), por lo que genotipos de la misma especie de *Amaranthus* presentarán complejos de insectos más similares que las asociadas a diferentes especies.

Hipótesis 2: La duración del ciclo de vida de los cultivares afecta la entomofauna que a ellos se asocia. A mayor duración del ciclo de vida, mayor disponibilidad del recurso en el tiempo y mayor apariencia de la planta para ser detectada por los insectos (Price 1997), por lo que se predice que los cultivares de ciclo largo acumularían en el tiempo mayor daño.

Hipótesis 3: En plantas del género *Amaranthus* existe una relación inversa entre la concentración de metabolitos secundarios y los niveles de herbivoría. Si bien la función de los metabolitos secundarios en las plantas de *Amaranthus* en la interacción con los insectos fitófagos es aún desconocida, estudios biológicos en otras especies vegetales indican que

algunas de ellas cumplen funciones disuasivas y/o de defensa contra agentes predadores o patógenos (Harborne 2000; Simmonds 2003). En este sentido se predice una menor herbivoría en cultivares con altas concentraciones de metabolitos disuasivos en sus tejidos.

3.3. Materiales y métodos

3.3.1. Ensayo de campo

El estudio se realizó en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la UNLPam, ubicada sobre la Ruta Nacional N° 35 en el Km. 334 al norte de Santa Rosa, La Pampa, (36°37'S, 64°16'O). Durante dos veranos consecutivos (2007/2008 - 2008/2009) se realizaron muestreos de insectos fitófagos en plantas de *Amaranthus*: 1) Cruentus; 2) Hyp SA; 3) Hyp 280; 4) Hyp Artasa; 5) Mantegazzianus. Los cultivares fueron sembrados en un diseño de Cuadrado Latino de 5 x 5 parcelas (5 tratamientos = cultivares y 5 repeticiones = filas). Cada parcela presentó 5 surcos de 3.20 m de largo distanciados a 0.50 cm entre sí. La densidad de siembra fue de 3.5 kg/ha. Cada parcela se separó de la siguiente a una distancia de 0.50 m. Las plantas no recibieron aplicación de insecticidas ni de herbicidas.

3.3.2. Medición de variables relativas a los cultivares

3.3.2.1. Atributos morfológicos de los cultivares

En una única oportunidad, durante el verano 2008/2009 y en momento de madurez de la panoja (R6-R7), en 5 plantas de cada variedad y de cada parcela (n total = 125) se registraron variables referidas a la morfología de las plantas. Las variables medidas fueron longitud total del tallo (desde el suelo al punto de inicio de la panoja), diámetro de tallo (a 40 cm. del suelo), longitud de la inflorescencia (cm), densidad de la inflorescencia (número de ramas florales), densidad de follaje (ramificaciones a partir de los 20 cm del suelo) y área foliar de los cultivares. A su vez, se registró la pigmentación de las diferentes partes de la planta y se observó la morfología de las flores femeninas.

3.3.2.2. Duración del ciclo fenológico de los cultivares

En seis fechas durante el desarrollo del cultivo y en los dos años de muestreo se registró el estado fenológico de 5 plantas tomadas al azar en cada parcela, utilizando la escala fenológica de Mujica y Quillahuamán (1989). Para cada cultivar se determinó la duración total del ciclo ontogénico y el momento en que los cultivares alcanzaron el estadio R4 (antesis). Se utilizó el estadio R4 para diferenciar el momento en que la planta ya se encuentra en pleno estado reproductivo y por su fácil determinación a campo.

3.3.2.3. Contenido de metabolitos secundarios presentes en hojas

Con el fin de analizar el contenido de metabolitos secundarios, veinte hojas de cada parcela se seleccionaron al azar del estrato medio y superior de distintas plantas y se cortaron al final de la etapa de floración (abril). Las muestras se colocaron en un total de 50 bolsas de polietileno que se mantuvieron en frío hasta llegar al laboratorio (n total = 50 muestras). Las hojas recolectadas se almacenaron a - 80 °C y luego fueron liofilizadas. Las plantas en ese estado no mostraron signos de senescencia.

3.3.2.3.1. Reactivos y productos químicos

Para los análisis químicos se utilizaron los siguientes productos químicos: metanol grado HPLC (Rathburn Microlab, Dinamarca), ácido acético glacial (JT Baker, VWR, Dinamarca), acetonitrilo (Rathburn Microlab, Dinamarca), nicotiflorin (Extrasynthese, Francia), isoquercitrina (Extrasynthese, Francia), rutina (Extrasynthese, Francia), ácido protocatéquico (Sigma, Dinamarca), ácido p-hidroxibenzoico (Sigma, Dinamarca), ácido gálico (Fluka Sigma, Dinamarca), ácido vainillínico (Fluka Sigma, Dinamarca), ácido cafeico (Sigma, Dinamarca), ácido siringico (Sigma, Dinamarca), ácido p-cumárico (Fluka Sigma, Dinamarca), ácido sinápico (Fluka Sigma, Dinamarca), ácido ferúlico (Fluka Sigma, Dinamarca), ácido salicílico (Sigma, Dinamarca) y acetato de amonio (Merck, VWR, Dinamarca).

3.3.2.3.2. Extracción de flavonoides y ácidos fenólicos

Las muestras liofilizadas se trituraron y homogeneizaron con un mezclador Waring. La extracción de flavonoides y ácidos fenólicos se realizó mediante extracción acelerada con disolvente (ASE) y se utilizó un extractor Dionex 200 System. Para ello, en cada celdas de extracción de un volumen de 33 mL se añadió 5 g. de arena Ottawa químicamente inerte (tamaño de partícula 20 -30 mesh) (Fisher, Dinamarca), luego se transfirió 0.1 g. de las muestras de hojas liofilizadas y homogeneizadas y se volvió a añadir otros 5 g. de arena Ottawa, luego se colocó un filtro en la parte superior y la celda de extracción se llenó con pequeñas esferas de vidrio. El eluyente utilizado fue 70 % MeOH (Rathburn, Mikrolab, Dinamarca) con 30 % de agua. El protocolo para la extracción acelerada con disolvente fue el siguiente: 5 minutos de precalentamiento, calor 5 minutos, estático durante 3 minutos, enjuague 80%, 60 segundos de purga y cuatro ciclos. La presión utilizada fue de 1500 Pa. y la temperatura de 80° C. Los extractos se recogieron en frascos, los cuales se almacenaron a -20 ° C hasta el análisis químico. Para cada una de las muestras se realizaron dos extracciones.

3.3.2.3.3. Análisis químico de los flavonoides y ácidos fenólicos

Los extractos se diluyeron con agua en una relación 1:1 y se analizaron mediante cromatografía líquida con espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (LC / MS / MS) (Applied Biosystems 3200 QTRAP, ABSciex) con ionización “turbo electrospray” en un modo negativo de monitorización de reacción múltiple (MRM). La separación cromatográfica se realizó a una velocidad de flujo de 0.2 mL/min a 30 ° C con un volumen de inyección de 20 µl. La columna utilizada fue Phenomenex Synergi Polar- RP801 (2.00 mm x 250 mm, 4 µm). El eluyente A contenía 7 % de acetonitrilo (Rathburn, Mikrolab, Dinamarca) y 93 % de agua mili-Q (v/v) con 20 mM de ácido acético glacial (JT Baker, VWR, Dinamarca). El gradiente contenido fue el siguiente: 16 % de B durante 1 minuto seguido un gradiente lineal hasta 18 % de B durante 4 minutos, un gradiente lineal hasta 30 % B por 17 minutos, un gradiente lineal hasta 100 % de B por 8 minutos, elución isocrática para los siguientes 5 minutos, 4 minutos hasta 16 % de B y reequilibrio por 11 minutos. El tiempo total del análisis fue de 48 minutos.

La relación masa/carga (m/Z) que se utilizó para la identificación de los flavonoides y ácidos fenólicos fue el siguiente: Q1/Q3: nicotiflorin (593.5/284), isoquercitrina (463.3/300.4), rutina (609.5/300.7), ácido protocatéquico (153.1/109), ácido p-hidroxibenzoico (137.2/92.8), ácido gálico (169.1/169.1), vanillic acid (vanílico) (167.2/152), ácido cafeico (179.0/135), ácido siríngico (197.2/197.2), ácido p-cumárico (163.2/119.2), ácido sinápico (223.1/164), ácido ferúlico (193.0/149) y ácido salicílico (137.2/92.8).

3.3.2.3.4. Extracción de betalaínas

Cien miligramos de cada muestra liofilizada ($n = 50$) se colocaron en tres frascos y posteriormente se agregaron 2.5 mL MeOH/H₂O al 70 % (v/v) y 47.4 mL de acetato de amonio 10 mM (Merck, VMR) (pH 6,6). Las mezclas se agitaron durante 30 minutos y luego los extractos fueron recolectados y almacenados en frascos a -4°C hasta el análisis químico. Los extractos fueron filtrados mediante el equipo Sartorius SRP 15 0.45 μM (Membrana PTFE) y se colocaron en ampollas de inyección. Los análisis se llevaron a cabo usando cromatógrafo de líquidos LC / MS Hewlett Packard 1100 serie con un detector DAD. Se analizaron dos réplicas por cada muestra.

3.3.2.3.5. Detección de betalaínas

La separación cromatográfica se realizó a una tasa de flujo de 0.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ a 25°C con un volumen de inyección de 50 μL . Se utilizó una columna Phenomenex Synergi Fusion – RP 80 A (250 mm x 2.00 mm, 4 μm). El eluyente A contenía 1 % de metanol en 99 % de acetato de amonio 10 mM y el eluyente B consistió en 90 % de metanol y 10 % de acetato de amonio 10 mM. El gradiente contenía lo siguiente: 3% de B durante 1 minuto, un gradiente lineal hasta 10 % de B durante 5 minutos, gradiente lineal hasta 15 % de B por 9 minutos, elución isocrática por 3 minutos, un minuto hasta 15% de B, reequilibrio durante 6 minutos. La absorbancia de cuatro betalainas se midió con el detector DAD a 538 nm. La identificación de amarantina e isoamarantina fue confirmada mediante espectrometría de masas de iones única de monitoreo (SIM- MS) con un valor de m/Z de 727 $[\text{M} + \text{H}]^+$. La identidades de betalaína e isobetanina fueron confirmadas con un valor

de m/Z de 551 MS [M +H] ⁺. La cantidad de betalaínas se determinó sobre la base de sus absorbancias molares como lo describen Cai et al. (2001, 2005).

3.3.2.3.6. Análisis estadístico

Los resultados de la composición química en hojas fueron analizados mediante análisis de la varianza (ANOVA) y test a posteriori LSD. Los datos fueron transformados a logaritmo y raíz cuadrada cuando fue necesario, con el fin de cumplir con los supuestos normalidad. Análisis discriminante (DA) y análisis multivariado de la varianza (MANOVA) se utilizaron para analizar similitudes en el contenido de compuestos químicos entre las variedades. En los dos análisis, las variables dependientes fueron las concentraciones de 15 metabolitos presentes en las hojas y el cultivar fue la variable de clasificación o variable de agrupamiento en el caso del análisis MANOVA. Los datos utilizados para el DA fueron estandarizados.

3.3.3. Medición de variables relativas a la entomofauna

3.3.3.1. Riqueza y abundancia de insectos ectofitófagos (masticadores y chupadores) y endofitófagos (barrenadores de tallos y panoja)

Durante dos temporadas consecutivas (verano 2007/2008 y 2008/2009) se realizaron muestreos de insectos ectofitófagos masticadores (Ordenes Coleoptera, Lepidoptera y Orthoptera) y chupadores (Orden Hemiptera). Los muestreos, cinco realizados la primera temporada y siete la segunda, se espaciaron en el tiempo a fin de abarcar el ciclo completo del cultivo. En cada muestreo se seleccionaron al azar 10 plantas en los 3 surcos interiores de cada bloque (n total = 3000 plantas) y se revisaron, mediante observación directa (= conteo visual) las plantas completas: tallos, pecíolos y hojas en ambos lados, durante quince minutos, descontando el tiempo de manipuleo. Los insectos observados fueron contabilizados y colectados en caso de no poder ser identificados a campo.

Para la obtención de las variables de riqueza y abundancia de especies endofitófagos (barrenadores del tallo y panojas) se siguió tanto el conteo visual descripto arriba (útil para adultos) como la cuantificación de larvas activas. Esta cuantificación se

realizó en dos momentos la segunda temporada de muestreo (mitad y final del ciclo del cultivo), seccionando longitudinalmente tallos y panojas de diez plantas al azar en cada parcela (n total = 240) a fin de registrar síntomas de oviposición y presencia de galerías. En los casos en que se observaron galerías se verificó la presencia de larvas activas. Algunas de las larvas así obtenidas se conservaron en alcohol 70% para su identificación.

Las densidades de insectos ecto y endofitófagos obtenidas en las dos temporadas se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA) para diseño de cuadrado latino y test Scott & Knott a posteriori. Para los análisis se utilizaron los valores promedios de insectos por metro cuadrado de superficie ($n = 10$), a fin de poder comparar plantas de diferente tamaños. Por lo tanto, los resultados de abundancia y riqueza de especies se expresaron en número de insectos y de especies por m^2 de la parcela, respectivamente. La elección del test Scott & Knott para este y posteriores ensayos se basó en la alta potencia de la prueba (Da Silva et al. 1999; Lopes-Bhering et al.2008).

3.3.3.2. Herbivoría causada por insectos ectofitófagos (masticadores) y endofitófagos (barrenadores de tallos y panoja)

En seis oportunidades durante la primera temporada del cultivo se determinó la herbivoría en hojas por insectos ectofitófagos masticadores. Para ello, en cada parcela y cultivar, se tomaron al azar 30 hojas en un mínimo de 25 plantas en las cuales se registró la presencia o ausencia de daño y se estimó visualmente el porcentaje de lámina foliar consumida, obteniéndose así dos medidas de herbivoría: porcentaje de hojas afectadas (total de hojas dañadas/30) y porcentaje de área foliar dañada. Esta última variable fue estimada visualmente a campo, utilizando una escala de 0 a 9 con las siguientes categorías: 0%, 1: 1-5%, 2:6-10%, 3: 11-20%, 4: 21-30%, 5:31-40%, 6: 41-50%, 7: 51-65%, 8: 66-75% 9: 76-95% de daño foliar (Figura 3.1). Con el fin de evitar la estimación de daño foliar en las mismas hojas en diferentes fechas, las hojas fueron siempre elegidas para cada fecha de muestreo a una altura superior en la planta que en el muestreo anterior. Debido a las diferencias en el tamaño foliar entre los cultivares estudiados, los porcentajes de área foliar dañada que se estimaron en el campo se relativizaron al área foliar promedio en cada cultivar (Apéndice Tabla 1) y este dato relativizado es el que se utilizó en los análisis. Para ello, se midió el área foliar de 142 hojas tomadas al azar en cada cultivar, las cuales no se cortaron de la planta, en su lugar el contorno de las hojas se dibujó sobre papel y se

recortaron las siluetas para luego medir en un areafolímetro. Las plantas al momento de la medición del área foliar se encontraban en estado de floración. De acuerdo con los datos obtenidos, en cada cultivar se calculó el área foliar consumida (Apéndice Tabla 1). Los datos obtenidos (n total = 4500) se analizaron mediante ANOVA y luego se realizó test a posteriori Scott & Knott.

La herbivoría de insectos endofitófagos masticadores se registró en el segundo año de ensayo, donde se tomaron al azar diez plantas en cada parcela en dos momentos (mitad y final del ciclo del cultivo) cuyos tallos y panojas se seccionaron longitudinalmente y se estimó visualmente el porcentaje de daño producido por los insectos (Apéndice Tabla 2). De este modo se obtuvieron dos medidas de herbivoría: porcentaje de tallos afectados (total de tallos barrenados/10 x 100) y superficie de tallo dañado por planta (cm^2). Para esta última variable se registró a su vez el diámetro y longitud de los tallos disectados para calcular la superficie de los tallos (en cm^2) a fin de poder comparar variedades con tallos de diferente tamaño. Para ello, se consideró el tallo como un cilindro y se utilizó la fórmula del área lateral ($\text{área} = 2 \cdot \pi \cdot r \cdot h$). Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA y test de Scott & Knott como test a posteriori.

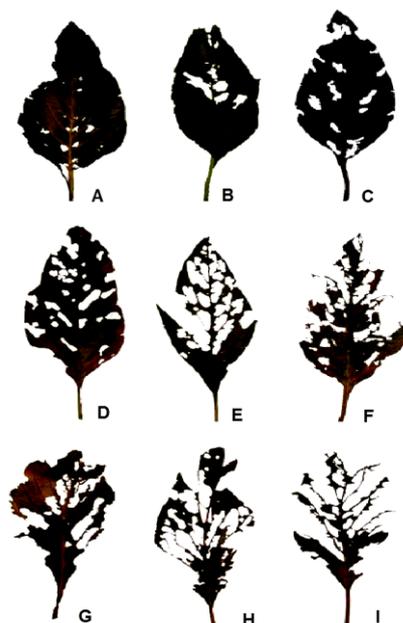


Figura 3.1: Hojas de *Amaranthus* con diferente área foliar removida por insectos defoliadores. A) 1-5%, B) 6-10%, C) 11-20 %, D) 21-30%, E) 31-40%, F) 41-50%, G) 51-65%, H) 66-75%, I) 76-95%.

3.3.3.3. Herbivoría producida por insectos masticadores ectofitófagos y la composición química en hojas

Se evaluó la relación entre el área foliar consumida en los cultivares (variable respuesta, detallada en la sección 3.3.3.2) y la composición de distintos compuestos químicos en la hojas de plantas del mismo cultivar, (variable explicativa, ver sección 3.3.2.3) mediante análisis de regresión múltiple y se utilizó el método de eliminación hacia atrás (“backward”) para la selección del modelo de regresión más significativo. La regresión se realizó con 32 puntos correspondientes a las muestras de hojas cuyo análisis químico fue correcto y no considerado como anómalo. Los datos químicos y los datos de herbivoría para la regresión provinieron de la misma parcela experimental. Los valores de las variables regresoras fueron transformados a logaritmo o raíz cuadrada con el fin de cumplir con los supuestos de las pruebas paramétricas. Valores atípicos se retiraron del modelo resultando en un total de 32 puntos o muestras.

3.3.4. Estimación de producción de los cultivares

En los dos años de ensayo, y al final del ciclo del cultivo, cuando las plantas se encontraban en estado de madurez fisiológica (R7) (Mujica & Quillahuamán 1989), las panojas de cada parcela fueron cortadas, se secaron en invernáculo y luego se trillaron a mano. El peso seco de las semillas obtenidas en cada parcela y cultivar se expresó en Kg/ha. Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA y test de Scott & Knott como test a posteriori.

3.4. Resultados

3.4.1. Medición de variables relativas a los cultivares

3.4.1.1. Atributos de los cultivares

Se encontraron diferencias significativas en la morfología de los cultivares de *Amaranthus* (Tabla 3.1). Los cultivares Cruentus y Hyp SA presentaron características similares en cuanto a estructura de las plantas. Sin embargo, algunos atributos de las plantas fueron útiles para diferenciarlos, tales como el grosor de los tallos y el área foliar, significativamente mayores en Cruentus ($p < 0.05$). Hyp 280 fue la especie de porte más pequeño respecto del resto, mientras que Mantegazzianus presentó el porte más grande, con valores altos en la mayoría de los atributos, a excepción del área foliar y densidad de la inflorescencia (Figura 3.2, Tabla 3.1).

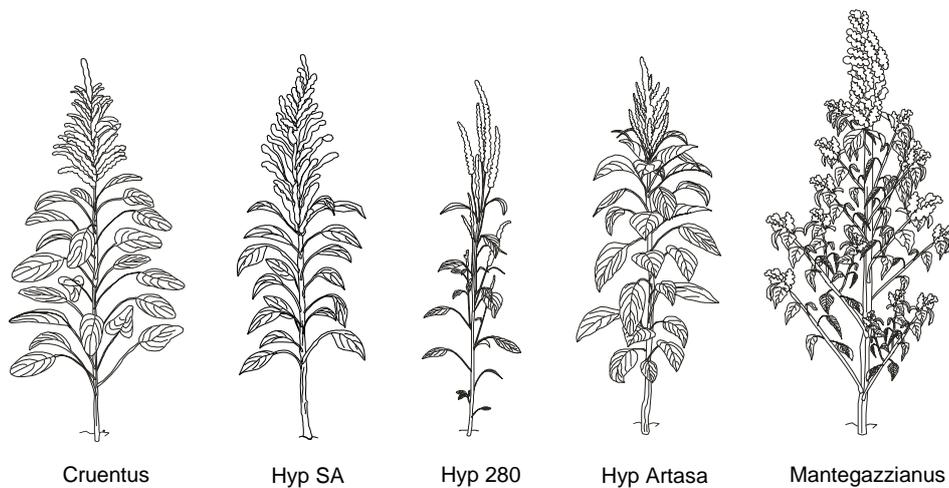


Figura 3.2: Diagrama representativo de la morfología de las plantas de los cultivares de *Amaranthus*.

Tabla 3.1: Valores promedios observados (\pm error estándar) para atributos morfológicos estudiados en plantas. Letras diferentes junto a las medias de las mismas filas indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p < 0.05$).

ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS	Cruentus	Hyp SA	Hyp 280	Hyp Artasa	Mantegazzianus
Densidad foliar (N° de ramas foliares/planta)	20.88 \pm 0.88 b	41.96 \pm 3.01 c	10.72 \pm 0.48 a	19.04 \pm 0.96 b	44.80 \pm 4.11 c
Área foliar (cm²)	92.32 \pm 6.08 c	39.43 \pm 1.39 a	48.94 \pm 1.41 a	71.73 \pm 1.26 b	54.81 \pm 1.76 a
Longitud del tallo (cm)	95.08 \pm 4.71 c	90.16 \pm 5.45 c	49.08 \pm 1.99 a	65.72 \pm 0.62 b	105.4 \pm 5.49 d
Diámetro del tallo (cm)	2.16 \pm 0.11 c	1.82 \pm 0.16 b	0.98 \pm 0.07 a	1.54 \pm 0.19 b	2.85 \pm 0.22 d
Longitud de la inflorescencia (cm)	60.68 \pm 2.29 b	60.72 \pm 3.91 b	51.96 \pm 2.37 a	50.24 \pm 3.35 a	100.36 \pm 4.71 b
Densidad de la inflorescencia (N° panojas/planta)	74.76 \pm 13.48 c	73.2 \pm 7.99 c	18.16 \pm 1.43 a	47.8 \pm 9.32 b	57 \pm 8.42 b

Los cultivares presentaron diferencias en la coloración de las hojas, tallos y panojas (Tabla 3.2). Las flores femeninas en los tres cultivares de *A. hypochondriacus* (Hyp SA, Hyp 280 y Hyp Artasa) presentaron brácteas más largas que las ramas de los estilos-estigmas, las cuales en la parte terminal presentaban una arístula de consistencia rígida (Figura 3.3 c-d). En los cultivares Cruentus y Mantegazzianus se observaron brácteas cortas que no superaron la longitud de los estilos, y se diferenciaron entre sí por la forma del ápice de los tépalos, agudo en el primero y obtuso en el segundo (Figura 3.3 b-f).

Tabla 3.2: Pigmentación en plantas de cinco cultivares de *Amaranthus*.

PARTE DE LA PLANTA	Cruentus	Hyp SA	Hyp 280	Hyp Artasa	Mantegazzianus
Hojas	verde	verde	rojizo	verde-rojizo	verde
Tallo	verde	verde-rojizo	rojizo	verde-rojizo	verde
Panojas	verde-amarillo	rojo	rojo	rojo	amarillo-naranja

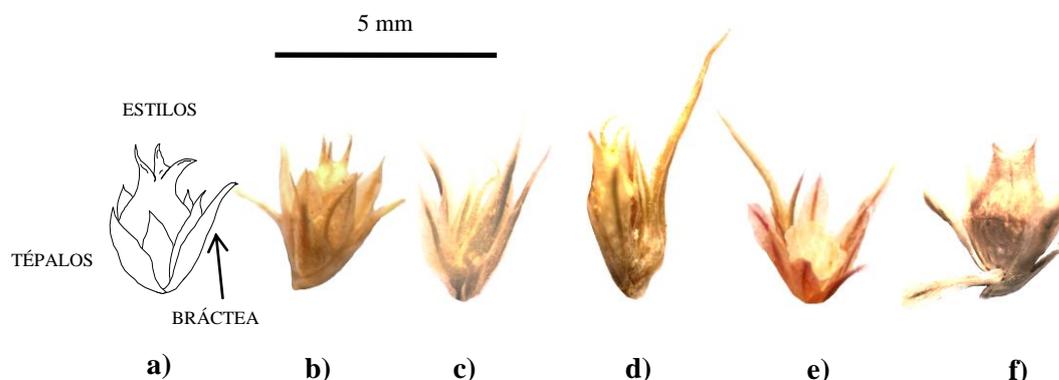


Figura 3.3 : Flores pistiladas en cultivares de *Amaranthus*: a) Detalle de la flor femenina indicando los estilos, tépalos y la bráctea protectora, b) Cruentus, c) Hyp SA, d) Hyp 280, e) Hyp Artasa, f) Mantegazzianus.

3.4.1.2. Duración del ciclo fenológico de los cultivares

Hyp 280 presentó el ciclo más corto con una duración promedio de 90 días. El ciclo más largo se registró en Mantegazzianus cuyas plantas necesitaron en promedio 143 días para completar su ciclo ontogénico, mientras que los demás cultivares, Cruentus, Hyp SA e Hyp Artasa presentaron ciclos intermedios que se diferenciaron entre sí, por ser la duración del ciclo de Hyp Artasa menor respecto de Cruentus y Hyp SA lo cuales completaron su ciclo en un promedio de 120 días (Figura 3.4). El tiempo para alcanzar el estadio R4 varió significativamente entre los cultivares ($F_{(5,6)} = 25.22$; $p < 0.001$). Hyp 280 e Hyp SA alcanzaron el estadio de antesis en el menor tiempo con un promedio de 44 días diferenciándose del resto de los cultivares mientras que Mantegazzianus necesitó un promedio de 77 días y esta diferencia fue estadísticamente significativa. Hyp Artasa y Cruentus presentaron valores intermedios con un promedio de 59 días.

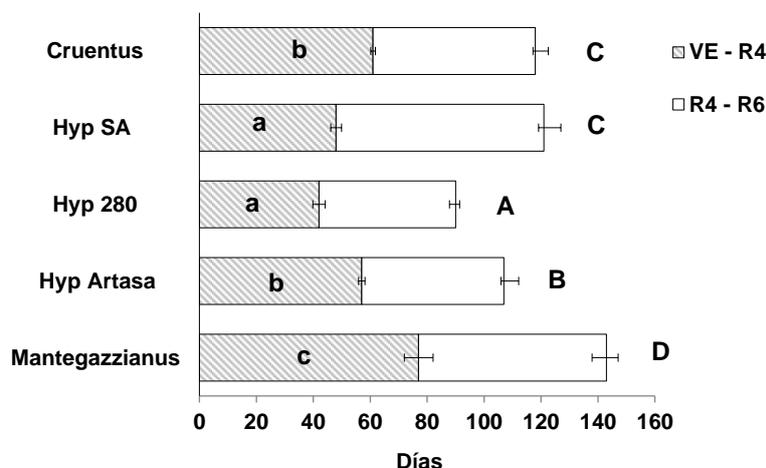


Figura 3.4: Duración del ciclo fenológico en días promedio en cinco cultivares de *Amaranthus*. VE = emergencia, R4 = antesis, R6 = madurez fisiológica. Las líneas horizontales indican los errores estándar, la de la izquierda corresponde al estado R4, la de la derecha al total del ciclo. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en la duración del ciclo hasta R4 y letras mayúsculas indican diferencias para la totalidad del ciclo, en ambos casos según Test Scott & Knott.

3.4.1.3. Contenido de metabolitos secundarios presentes en hojas

Los análisis indicaron que tres glucósidos flavonoides (rutina, nicotiflorin e isoquercitina), nueve ácidos fenólicos (cumárico, vanílico, cafeico, siríngico, ferúlico, sinápico, protocatéquico, ácido salicílico y 4-hidroxibenzoico) y tres betalaínas (amarantina, iso amarantina y betanina) estuvieron presentes en las hojas de amaranto (Tabla 3.3). Los flavonoides se presentaron en las hojas de todas las variedades analizadas, siendo rutina el compuesto más común. Las betalaínas sólo se detectaron en las variedades Hyp 280, Hyp Artasa y Mantegazzianus, en diferentes concentraciones (Tabla 3.3). Los nueve ácidos fenólicos se observaron para todas las variedades, con la excepción del ácido sinápico. La composición química presentó diferencias significativas entre las variedades como se indica en la Tabla 3.3.

Los resultados del DA indicaron que Hyp 280 difirió del resto de los cultivares estudiados, en tanto que Cruentus - Hyp SA y Mantegazzianus - Hyp Artasa fueron similares entre sí ($F_{(60,123)}$ de Wilks = 5.52; $p < 0.0001$) (Figura 3.5). Noventa y cuatro por ciento de las muestras fueron correctamente asignadas a las variedades, y los dos primeros ejes de la ordenación absorbieron el 86% de la varianza de los datos.

Tabla 3. 3: Concentración media ($\mu\text{g/g}$ de peso seco \pm error estándar) de metabolitos secundarios detectados en las hojas de los cultivares de *Amaranthus*. La media seguida por letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes según test LSD ($P < 0.05$).

METABOLITOS SECUNDARIOS	VARIEDADES				
	Cruentus	Hyp SA	Hyp 280	Hyp Artasa	Mantegazzianus
ÁCIDO FENÓLICOS					
4-Hidroxibenzoico	8.7 \pm 1.6 a	8.8 \pm 1.0 a	16.7 \pm 2.5 ab	16.4 \pm 6.4 ab	23.4 \pm 11.3 b
Protocatéquico	13.8 \pm 2.5 bc	30.8 \pm 3.5 cd	45.0 \pm 18.4 d	13.9 \pm 6.1 ab	3.2 \pm 2.1 a
Cumárico	12.5 \pm 2.9 b	9.3 \pm 0.9 b	26.1 \pm 2.5 c	5.2 \pm 5.1 a	0.4 \pm 0.3 a
Vanílico	28.0 \pm 5.4 a	30.8 \pm 6.9 a	36.2 \pm 6.2 a	63.2 \pm 29.9 a	49.8 \pm 30.8 a
Cafeico	7.2 \pm 3.0 a	14.6 \pm 3.2 a	113.9 \pm 22.1 b	18.6 \pm 18.0 a	1.9 \pm 1.5 a
Siríngico	1.0 \pm 1.1 ab	23.5 \pm 6.3 b	22.2 \pm 13.2 b	0.7 \pm 0.6a	3.2 \pm 3.1 ab
Ferúlico	96.2 \pm 18.3 b	115.8 \pm 10.1 b	112.3 \pm 34.6 b	25.9 \pm 24.9 a	12.8 \pm 12.5 a
Sinápico	0.00	0.00	0.00	0.01 \pm 0.01 a	0.6 \pm 0.6 a
Salicílico	1.8 \pm 0.5 ab	3.4 \pm 0.7 bc	4.5 \pm 1.4 c	0.7 \pm 0.7 a	0.3 \pm 0.2 a
FLAVONOIDES					
Rutina	7,317.4 \pm 1630.7 a	8,671.3 \pm 1,104.7 ab	4,798.5 \pm 1,333.9 a	15,531.0 \pm 2,658.1 b	9,217.3 \pm 4,633.7 ab
Isoquercetina	27.8 \pm 1.8 a	110.8 \pm 75.7 ab	279.5 \pm 63.3 c	186.6 \pm 107.9 bc	36.8 \pm 16.1 a
Nicotiflorin	1,281.5 \pm b	812.9 \pm 51.2 b	141.6 \pm 52.4 a	977.1 \pm 313.9 b	1,156.9 \pm 645.8 b
BETALAINAS					
Amarantina	0.00	0.00	448.4 \pm 222.8 b	318.6 \pm 50.6 b	2.1 \pm 1.0 a
Isoamarantina	0.00	0.00	145.1 \pm 58.8 b	69.2 \pm 16.6 b	0.5 \pm 0.5 a
Betanina	0.00	0.00	6.3 \pm 2.7 b	4.1 \pm 2.0 b	0.2 \pm 0.1 a

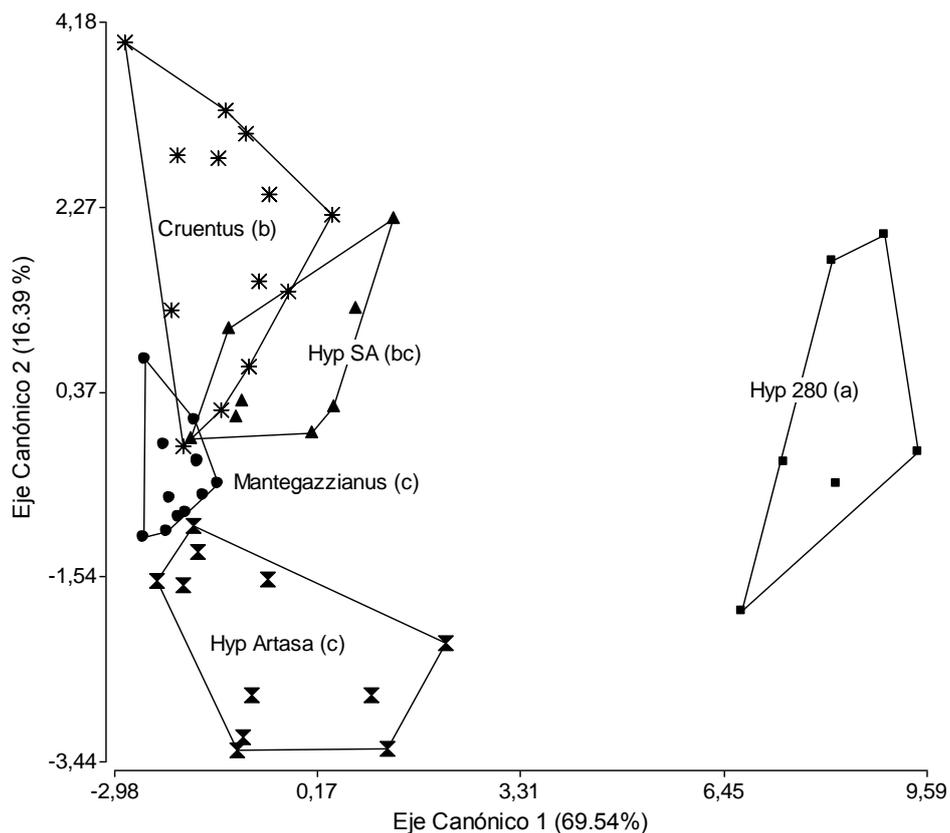


Figura 3.5: Primeros dos ejes del análisis discriminante de las muestras de diferentes cultivares de amaranto sobre la base de la composición de quince metabolitos secundarios. Las muestras se clasificaron correctamente en un 94 % de los casos. Letras diferentes significan diferencias significativas según MANOVA (Test de Hotelling $p < 0.05$).

3.4.2. Medición de variables relativas a la entomofauna

3.4.2.1. Riqueza y abundancia de insectos ectofitófagos (masticadores y chupadores) y endofitófagos (barrenadores de tallos y panoja)

La densidad y riqueza de insectos de cada gremio varió entre los cultivares de distintas especies y entre cultivares de la misma especie de *Amaranthus* (Figura 3.6). Cruentus, Hyp SA e Hyp Artasa presentaron los niveles más altos de densidad de defoliadores en hojas que Hyp 280 y Mantegazzianus ($F_{(3, 12)} = 5.53$, $p = 0.003$) en las dos temporadas. En las panojas la densidad de defoliadores no difirió entre los cultivares ($F_{(3, 12)} = 1.03$, $p = 0.48$). Hyp SA se caracterizó por tener la mayor riqueza de

insectos de este gremio en hojas ($F_{(3, 12)} = 3.00$, $p = 0.03$), en tanto que *Cruentus* presentó los valores más altos de riqueza en las panojas ($F_{(3, 12)} = 2.19$, $p = 0.09$) (Fig. 3.6 a-b).

La densidad de insectos succionadores presentó diferencias entre los cultivares: *Mantegazzianus* fue el cultivar con la mayor densidad de insectos de este gremio mientras que los restantes cultivares presentaron valores similares y no difirieron significativamente ($F_{(3, 12)} = 6.90$, $p = 0.001$). Las diferencias en la riqueza de insectos succionadores no fueron estadísticamente significativas ($F_{(3, 12)} = 1.61$, $p = 0.21$), sin embargo el factor cultivar fue significativo ($p_{\text{factor cultivar}} = 0.04$) (Figura 3.6 c-d).

Respecto al gremio de los barrenadores, el análisis de densidad de larvas observadas en tallo y panojas en conjunto, no indicó diferencias significativas entre tratamientos, y el factor cultivar fue significativo ($F_{(3, 12)} = 2.53$, $p = 0.06$, $p_{\text{factor cultivar}} = 0.025$). Cuando se realizó el análisis particionando los datos en las dos posibles ubicaciones de los barrenadores (tallos y panojas) se observó la mayor densidad de larvas en tallos en *Hyp Artasa* ($F_{(3, 12)} = 3.34$, $p = 0.023$), mientras que la densidad de larvas en panoja no difirió significativamente entre los demás cultivares ($F_{(3, 12)} = 0.74$, $p = 0.69$) (Fig. 3.7). La riqueza de este gremio no se pudo determinar debido a la dificultad de reconocer las especies barrenadoras en estadio larval.

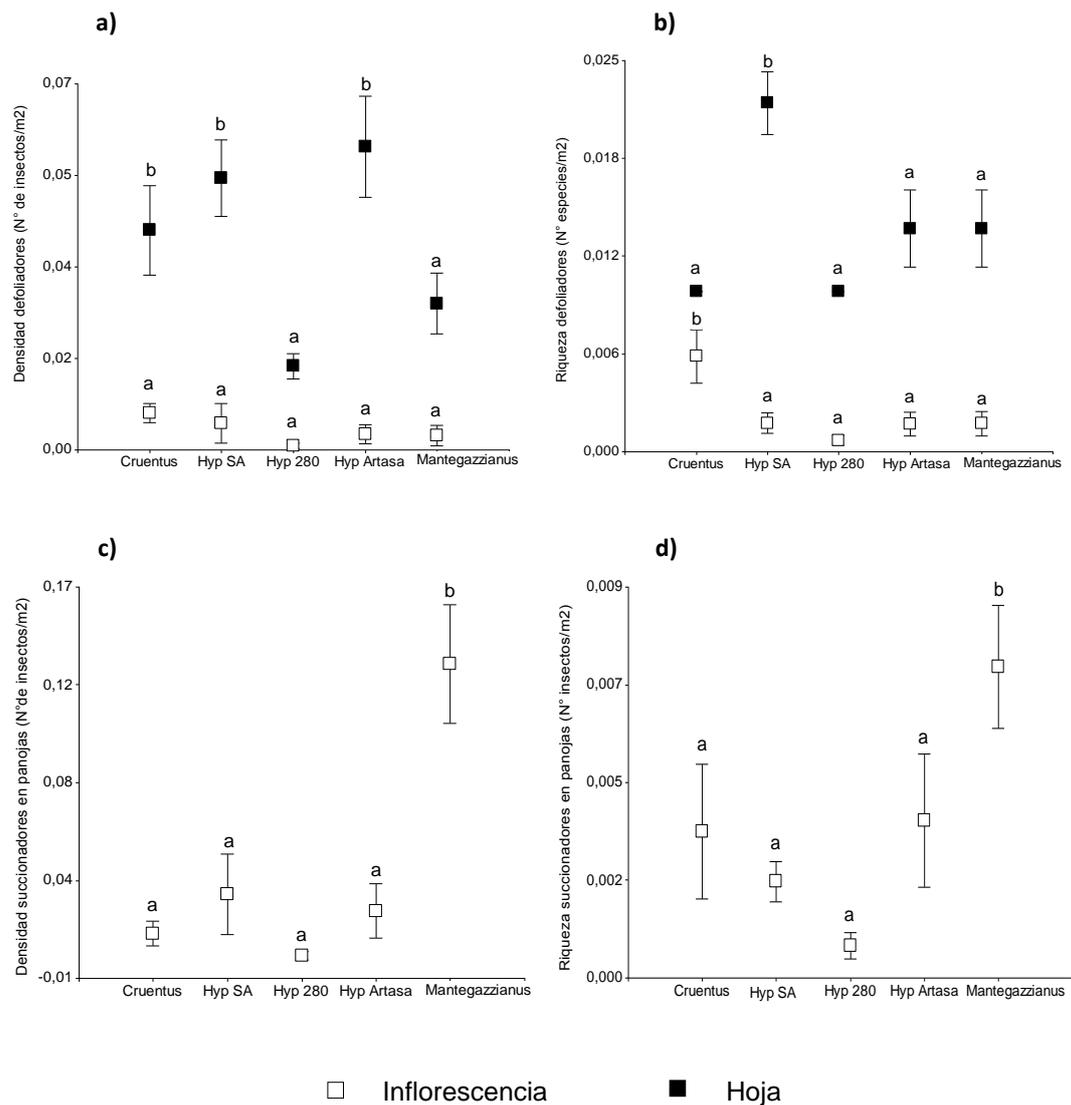


Figura 3.6: Densidad (a) y riqueza (b) de insectos ectofitófagos masticadores en hojas e inflorescencias (\pm error estándar) en cultivares de *Amaranthus*. Letras diferentes indican diferencias significativas entre cultivares según Test Scott & Knott (p densidad hoja = 0.002, p densidad panoja (factor cultivar) = 0.003; p riqueza hoja = 0.032, p riqueza panoja (factor cultivar) = 0.05). Densidad (c) y riqueza (d) de insectos ectofitófagos succionadores (\pm error estándar) en cultivares de *Amaranthus*. Letras diferentes indican diferencias significativas entre cultivares según Test Scott & Knott (p densidad = 0.001, p riqueza (factor cultivar) = 0.04).

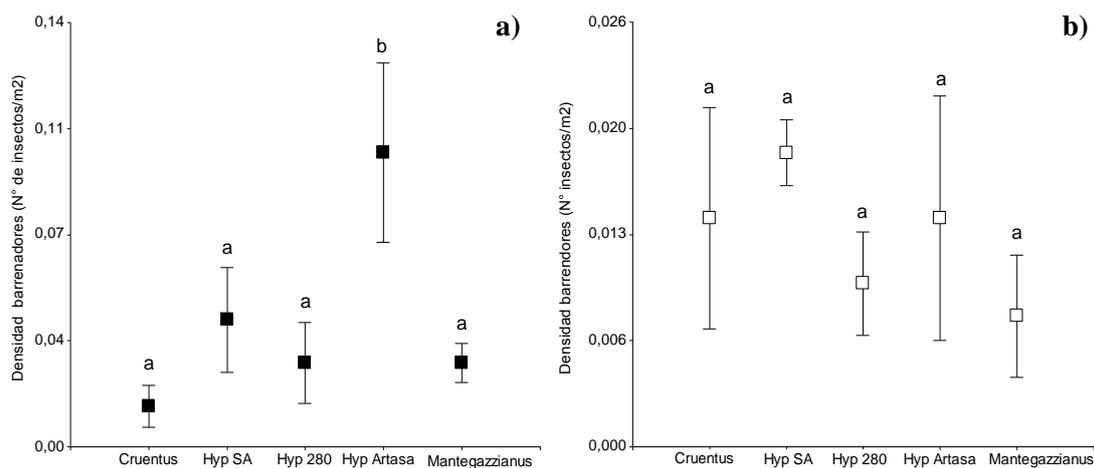


Figura 3.7: Densidad promedio de insectos barrenadores (\pm error estándar) en tallos (a) e inflorescencias (b) en cultivares de *Amaranthus*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Test Scott & Knott.

3.4.2.2. Herbivoría causada por insectos ectofitófagos (masticadores) y endofitófagos (barrenadores de tallos y panoja)

El porcentaje de hojas afectadas varió entre 53 y 68 % de hojas dañadas. Hyp 280 fue la variedad con menor porcentaje de hojas dañadas respecto del resto de los cultivares siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($F_{(3,12)} = 3.14$ $p = 0.02$) (Figura 3.8a). Los análisis de herbivoría basados en área foliar dañada indicaron que Hyp Artasa y Cruentus fueron las variedades con los mayores niveles de daño en hojas ($F_{(3,12)} = 7.38$, $p = 0.0008$). El área foliar consumida promedio fue de 21.38 cm² aproximadamente para Hyp Artasa y 24.69 cm² para Cruentus (valores relativizados al promedio de área foliar por cultivo). Estos valores representaron aproximadamente el doble de los valores de área consumida en las restantes cultivares los cuales oscilaron alrededor de 11 cm² (Figura 3.8b).

Respecto a la herbivoría en los tallos, el análisis de porcentajes de tallos dañados indicó que Hyp Artasa presentó el mayor porcentaje de tallos barrenados (83 %), en tanto que Cruentus y Mantegazzianus fueron las variedades con los menores porcentajes (45 y 57 % respectivamente) ($F_{(3,12)} = 9.66$, $p = 0.0002$) y Hyp SA e Hyp 280 presentaron valores intermedios (alrededor del 65.5 %) (Figura 3.9a) El análisis de tallos barrenados expresados en área de tallo consumido (cm²) también indicó a Hyp

Artasa como la especie con mayor nivel de barrenación en tallos respecto de las demás cultivares, las cuales no difirieron estadísticamente entre sí ($F_{(3,12)} = 4.62$; $p = 0.0065$) (Figura 3.9b).

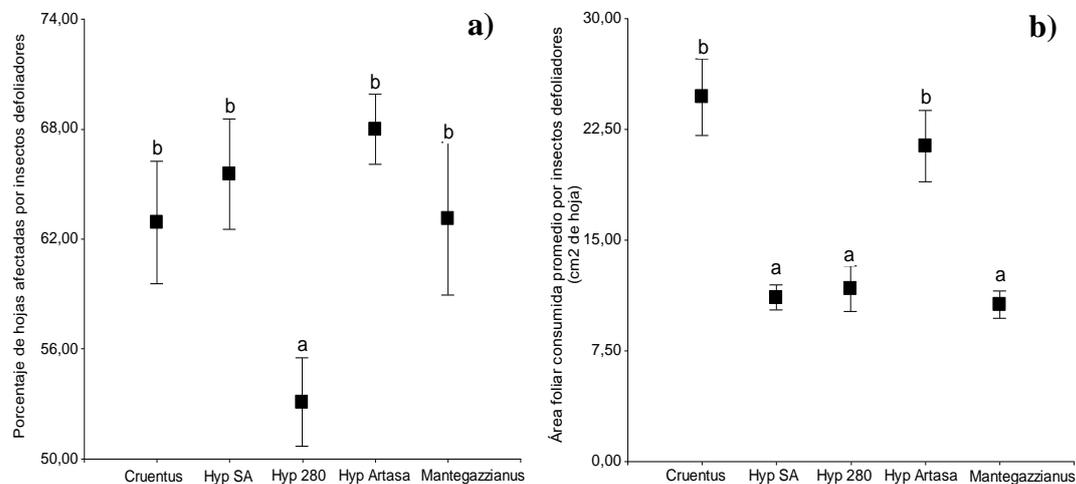


Figura 3.8: a) Porcentaje de hojas afectadas promedio (\pm error estándar) por insectos defoliadores en plantas de *Amaranthus*. b) Área foliar consumida por insectos defoliadores (\pm error estándar) en plantas de *Amaranthus*. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott.

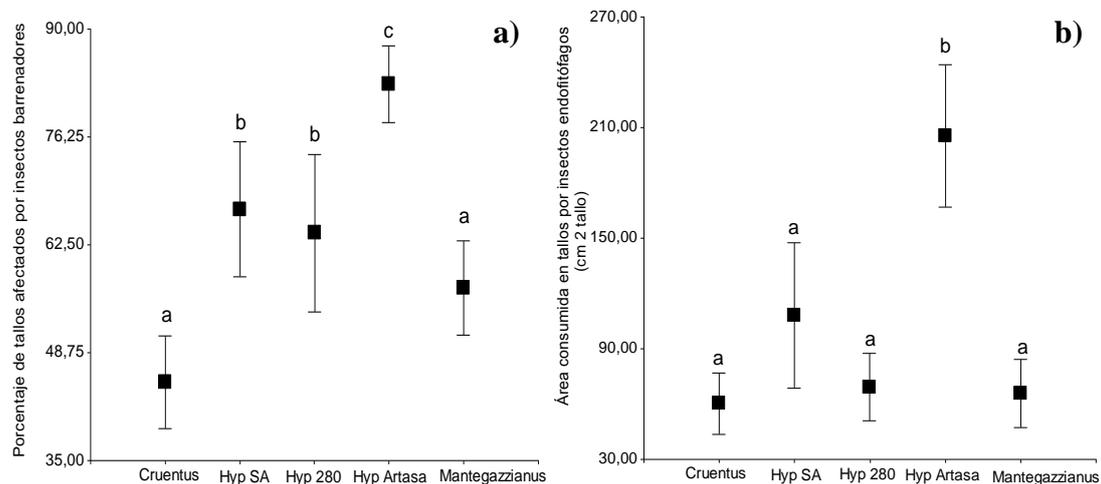


Figura 3. 9: a) Porcentaje de tallos barrenados promedio (\pm error estándar) por insectos barrenadores en plantas de *Amaranthus*. b) Área de tallo consumida por insectos barrenadores (\pm error estándar) en plantas de *Amaranthus*. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott.

3.4.2.3. Herbivoría producida por insectos masticadores ectofitófagos y la composición química en hojas

El análisis multivariado de regresión lineal múltiple indicó una relación significativa entre los metabolitos secundarios y la herbivoría observada en el campo ($R^2 = 0.91$, R ajustado = 0.88, $N = 32$ muestras, $F_{(7,24)} = 33.70$, $P < 0.0001$). De los quince compuestos analizados, seis presentaron una relación significativa con la herbivoría. Los compuestos ácido cumárico, nicotriflorin, amarantina y betanina presentaron relación positiva con la herbivoría en tanto que el ácido cafeico y salicílico presentaron una relación negativa (Tabla 3.4).

Tabla 3.4: Resultados del análisis de regresión múltiple de herbivoría (área foliar dañada) y el contenido de metabolitos secundarios en las hojas (df = grado de libertad; β = coeficiente estandarizado; E.E = error estándar).

VARIABLE PREDICTORA	df.	β	E.E.	F	P
Ácido protocatéquico	1.32	-0.03	0.02	2.91	0.1009
Ácido cumárico	1.32	0.64	0,09	17.83	< 0.0001
Ácido cafeico	1.32	- 0.08	0,01	43.47	< 0.0001
Ácido salicílico	1.32	- 0.94	0.19	23.71	0.0001
Nicotriflorin	1.32	2.5E-03	3.8E-0.4	44.55	< 0.0001
Amarantina	1.32	0.01	2.2E-0.3	18.66	0.0002
Betanina	1.32	0.51	0.15	11.83	0.0021

3.4.2.3. Estimación de producción de los cultivares

Los valores promedios de granos por hectárea en los dos años de estudio fueron 1798.13 ± 392.02 Kg grano/ha y 1260.16 ± 103.54 Kg grano/ha (Tabla 3.5) y no se observaron diferencias significativas entre cultivares ($F_{(4,12)} = 1.65$, $p = 0.20$; $F_{(4, 12)} = 2.08$, $p = 0.10$).

Tabla 3. 5: Valores promedio de producción de grano (\pm error estándar) por unidad de superficie estimados para cinco variedades de *Amaranthus*. Letras diferentes junto a las medias en las mismas columnas son significativamente diferentes según test Scott & Knott ($p < 0.05$).

Cultivar	Producción de grano (kilogramos/ ha)	
	Año 2008	Año 2009
Cruentus	2596.87 \pm 1073.98 a	1158.16 \pm 297.68 a
Hyp SA	459.38 \pm 110.80 a	1088.13 \pm 132.91 a
Hyp 280	1195.31 \pm 590.83 a	1098.13 \pm 174.40 a
Hyp Artasa	1739.06 \pm 583.94 a	1450.47 \pm 278.03 a
Mantegazzianus	3000 \pm 1209.10 a	1505.94 \pm 258.66 a

3.5. Discusión

3.5.1. Atributos morfológicos y fenológicos de los cultivares y su relación con la vulnerabilidad a insectos endo y ectofitófagos.

La afinidad taxonómica de Hyp SA, Hyp 280 y Hyp Artasa, no se correspondió con valores similares en los tres cultivares en ninguno de los atributos morfológicos, sin embargo se observaron similitud de caracteres entre pares, como el área foliar en Hyp SA y Hyp 280, diámetro de tallo en Hyp SA y Artasa y la longitud de la inflorescencia en Hyp 280 y Artasa. De las tres variedades, Hyp SA fue el cultivar de mayor tamaño en tanto que Hyp 280 fue la más pequeña, tanto entre cultivares de la misma especie como entre los de distintas especies. Mantegazzianus se caracterizó por ser el cultivar de mayor tamaño y porte entre todas las variedades analizadas seguido por Cruentus y Hyp SA, cuyos valores fueron similares (Tabla 3.1). En cuanto a la morfología floral y la coloración de los tejidos, se observó que todos los cultivares de la especie *A. hypochondriacus* presentaron morfología similares y los tejidos fueron de coloración rojiza. Esto indicaría que son caracteres específicos y por lo tanto se mantienen constante en los tres cultivares. Mantegazzianus y Cruentus presentaron flores con brácteas y tépalos de menor tamaño y consistencia débiles así como ausencia de la

arístula presente en los cultivares de *A. hypochondriacus* (Figura 3.3). Las diferencias en la morfología floral entre los cultivares podría ser el resultado de procesos de domesticación distintos en los cultivares. Schwanitz (1966) sugiere que algunas plantas cultivadas de *A. caudatus* suelen diferenciarse de sus ancestros de crecimiento espontáneo por la pérdida parcial de características de protección de las flores (brácteas débiles, tépalos y brácteas cortas, ausencia de arístula) lo cual determina una inflorescencia menos espinosa. Se desconoce si las características florales en Mantegazzianus y Cruentus son un atributo propio de las especies o son el resultado de un mayor trabajo de domesticación de los cultivares.

La estructura de la comunidad de insectos fitófagos no se relacionó con la afinidad taxonómica de los cultivares (Figura 3.6). Cruentus, Hyp SA e Hyp Artasa presentaron la mayor abundancia de insectos defoliadores en hojas y a su vez Hyp SA tuvo la mayor riqueza de especies defoliadoras. En tanto que los insectos succionadores se observaron en mayor abundancia en Mantegazzianus (Figura 3.6c) y los barrenadores en Hyp Artasa. La literatura indica que plantas con grandes dimensiones y complejidad arquitectónica presentan en general mayor abundancia y riqueza de insectos fitófagos (Price et al. 1980; Strong et al. 1984; Lawton 1983; Haysom & Coulson 1988; Rudgers & Whitney 2006) lo cual se relacionaría con una mayor disponibilidad de nichos ecológicos para la alimentación y oviposición en las plantas (Lawton 1983; Rudgers & Whitney 2006; Lara et al. 2008). Sin embargo, tanto en el gremio de los barrenadores como en el de succionadores, los niveles altos de densidad no se relacionaron con mayor abundancia de recursos en las plantas. Mantegazzianus, cuyos tallos fueron los de mayor longitud y diámetro, presentó niveles bajos de insectos barrenadores, en tanto que Cruentus y Hyp SA, ambos con los valores más altos en densidad y longitud de la inflorescencia, no presentaron mayor abundancia de insectos succionadores.

En el caso de los insectos defoliadores, si bien se observaron altas densidades de insectos en cultivares con valores medios a altos de área y densidad foliar (Cruentus, Hyp SA), en Mantegazzianus, el cultivar con valores de densidad foliar más altos, no tuvo densidades altas de insectos defoliadores (Tabla 3.1). El mayor porcentaje de hojas dañadas (total de hojas dañadas sobre el total de hojas analizadas) se observó en los tres cultivares más frecuentados por los insectos defoliadores (Cruentus, Hyp SA y Hyp Artasa) y en Mantegazzianus. Sin embargo, el análisis de daño foliar (cm^2 hojas dañada) indicó que Hyp SA y Mantegazzianus fueron especies con menor área foliar consumida

junto con Hyp 280 (Figura 3.8). Los bajos niveles de herbivoría en Mantegazzianus coincidieron con observaciones previas que indican a este cultivar resistente a insectos del gremio de los defoliadores (Covas 1987), en tanto que la menor herbivoría en Hyp 280 se correspondió con las bajas densidades de insectos observadas y bajos porcentaje de hojas dañadas en el cultivar. Si bien Hyp SA tuvo una alta densidad de insectos defoliadores (Figura 3.6a) y porcentajes de hojas dañadas (Figura 3.8a), los bajos niveles de daños en sus hojas (Figura 3.8b) podrían indicar una menor calidad del alimento.

En cuanto al gremio de los succionadores, Mantegazzianus fue el cultivar con mayor densidad y riqueza de insectos (Figura 3.6 c). Como se mencionó en el capítulo anterior, este gremio estuvo presente en estadios tardíos del cultivo (floración y llenado de grano) donde predominó la especie *Chinavia musiva* (Berg) que se alimentó en las inflorescencias. Se sugiere que la morfología de las flores femeninas de Mantegazzianus por ser menos protegidas (brácteas cortas y ausencia de arístula) y permitir mayor acceso a la semilla respecto de los demás cultivares, disminuyó la preferencia de los insectos succionadores. Además, las plantas de este cultivar se diferencian de las demás por presentar inflorescencia en glómérulos muy distinta a la forma amarantiforme típica del género (Tabla 1.1). Evaluaciones previas en diferentes líneas de *Amaranthus*, informaron que la pigmentación de la planta se relacionó con la susceptibilidad a insectos succionadores, siendo menor en plantas de coloración pálida (Umeh et al. 2009). En este trabajo, los resultados indicaron una mayor preferencia de los insectos succionadores por plantas con panojas amarillo-anaranjado (Mantegazzianus) respecto de las amarillo-verdosa de Cruentus o rojas de *A. hypochondriacus*.

La duración del ciclo fenológico fue otro carácter que diferenció a los cultivares (Figura 3.4). Debido al corto ciclo de Hyp 280, la etapa reproductiva comenzó tempranamente y cuando los restantes cultivares todavía se encontraban en estado vegetativo. La exposición temprana de las panojas en el campo pudo evadir en parte al gremio de succionadores (Figura 3.6c) dado que la mayor densidad de este grupo se registró aproximadamente 65 días luego de la emergencia (Figura 2.6). Por el contrario, la floración tardía de los restantes cultivares coincidió con la aparición del gremio de succionadores pero sólo Mantegazzianus presentó diferencias significativas (Figura 3.6c). La mayor duración del ciclo vegetativo en Mantegazzianus, sumada a los bajos niveles de herbivoría observados tanto en hojas como tallos, indicaría una mayor

cantidad de reservas en este cultivar para ser traslocada a los granos, lo cual podría también explicar la mayor densidad de succionadores observados en sus panojas.

La diferencia en la duración del ciclo fenológico evidencia una tasa de crecimiento distinto en los cinco cultivares, muy alta en Hyp 280, baja en Mantegazzianus e intermedia en Cruentus, Hyp SA y Hyp Artasa. Se ha propuesto que la tasa de crecimiento en especies vegetales se relaciona con diferencias en los niveles de defensas de las plantas contra los herbívoros (Coley et al. 1985). Se estima que la inversión de defensas es mayor en especies que crecen lentamente, lo cual se debe principalmente a los costos de defensa (menores en especies de crecimiento lento), y al impacto relativo que tienen los herbívoros (Coley et al. 1985; Gulmon & Mooney 1986). En este trabajo, Mantegazzianus, el cultivar con tasa de crecimiento más lento, presentó bajos niveles de daño tanto en hojas como en tallo, lo cual también se observó en Hyp 280 y en Hyp Artasa. Sin embargo, la diferencia de crecimiento de los tres cultivares pudo comprometer distintas formas de defensa. Debido a que la producción de defensas químicas implica costos a mantener por parte de la plantas, la presencia de estructuras y compuestos inmóviles tales como ligninas y taninos que tienen un costo inicial alto pero una baja tasa de renovación (compuestos no móviles) (Walker 1975), conferirían mayores ventajas adaptativas en las plantas de crecimiento lento. Si bien estos compuestos no fueron cuantificados en este trabajo, es posible que hayan influido en la menor herbivoría de defoliadores y barrenadores observada en Mantegazzianus. Por otra parte, en las plantas con rápido crecimiento, las defensas pueden estar dadas por compuestos con costos iniciales bajos y con tasas alta de renovación (compuestos móviles), tales como alcaloides, glucósidos cianogénicos y compuestos fenólicos entre otros. En las plantas de amaranto, la evaluación de compuestos secundarios indicó que el cultivar Hyp 280 presentó alta concentración en varios de los compuestos analizados. La relación de estos compuestos y los niveles de herbivoría por insectos defoliadores se discute a continuación.

3.5.2. Metabolitos secundarios en *Amaranthus* y su relación con la herbivoría de insectos.

Los análisis de metabolitos secundarios indicaron que los flavonoides fueron los compuestos más importantes en las hojas de amaranto en todos los cultivares analizados

y dentro de este grupo, rutina fue el más abundante. La concentración de rutina superó en gran medida a la del resto de los compuestos detectados en las hojas. Estos resultados fueron consistentes con previos reportes para otras especies de *Amaranthus*, aunque en concentraciones no tan elevadas (Kalinova & Dadakova 2009). Se ha indicado que la edad de la planta puede afectar a los niveles de rutina, que tienden a ser más bajos en las plantas jóvenes respecto de plantas maduras (Steffensen et al. 2011).

Los contenidos de nicotiflorin fueron considerablemente superiores a los de isoquercetina en la mayoría de los cultivares analizados (excepto para Hyp 280), y fue consistente con los niveles reportados en plantas jóvenes (Steffensen et al. 2011). Los altos niveles de isoquercetina en Hyp 280 y de rutina observados en Hyp Artasa fueron las diferencias más marcadas entre los cinco cultivares. La ocurrencia de isoquercetina parece ser dependiente de las especies de amaranto, siendo Cruentus y Mantegazzianus los cultivares con la menor concentración de estos compuestos. De acuerdo con la coloración de los tejidos vegetales (Tabla 3.2), las plantas con hojas rojizas (Hyp Artasa e Hyp 280) presentaron niveles más altos de las tres betalaínas analizadas que Mantegazzianus, y no fueron detectados ni en Cruentus ni en Hyp SA (Tabla 3.3). La diferencia de coloración en los tejidos vegetales es atribuida a pigmentos tales como las antocianinas o betalaínas las cuales son sustancias mutuamente excluyentes en las plantas (Clemment & Mabry 1996; Brockington et al. 2011). En *Amaranthus*, como en la mayoría de las especies pertenecientes al orden Cariofilales, la coloración rojiza en los tejidos vegetales se debe a la presencia de betalaínas (Cai et al. 2001; Strack et al. 2003). Sin embargo, la coloración de la planta no siempre evidencia la presencia de estas sustancias, tal como se observa en Mantegazzianus. Manetas (2006) ha sugerido que cantidades relativamente bajas de antocianinas en plantas no cubrirían el color de la clorofila y por lo tanto las plantas mantienen el color verde. Los resultados de este trabajo también concuerdan con estudios previos sobre contenidos de betacianinas (compuestos rojos) en plantas rojas y amarillas de *Celosia argentea*, otra especie de Amaranthaceae, en la cuales se observaron mayor cantidades de amarantina e isoamarantina en plantas rojizas respecto de las amarillas (Schliemann et al. 2001).

Además de las variaciones observadas en el contenido de betalaínas, también se observó que los contenidos de ácidos fenólicos variaron ampliamente entre las especies e incluso entre los tres cultivares de *A. hypochondriacus* (Tabla 3.3). Hyp 280 se diferenció del resto de los cultivares en cuanto al contenido de metabolitos, siendo sus

muestras completamente diferentes del resto de los cultivares, lo cual se observa en el primer eje del análisis discriminante (Figura 3.5). Hyp 280 se caracterizó por presentar contenidos significativamente bajos de nicotiflorin, (uno de los dos compuestos predominantes en todas las muestras analizadas) respecto de los demás cultivares y por tener los niveles más altos de ácido cafeico y cumárico. De acuerdo al mismo análisis, las muestras de Hyp Artasa también se separaron de los restantes cultivares, y al igual que Hyp 280, todas las muestras fueron correctamente asignadas en el mismo grupo. La ausencia de betalainas fue una característica compartida por las muestras de Cruentus e Hyp SA, mientras que una pequeña cantidad de ácido sinápico fue detectado en Mantegazzianus e Hyp Artasa. Las muestras de Mantegazzianus fueron bastantes homogéneas, sin embargo algunas fueron erróneamente asignadas a Hyp SA y Cruentus por el análisis discriminante, lo que indicaría que no hay una clara diferenciación entre estos tres cultivares.

Cruentus, Hyp SA y Hyp Artasa fueron los cultivares con mayor abundancia de insectos defoliadores (Figura 3.6a), mientras que la herbivoría observada en las plantas fue significativamente menor en Mantegazzianus e Hyp SA respecto de Hyp Artasa (Figura 3.8b). Hyp 280 fue el cultivar menos afectado por los insectos defoliadores, con el menor porcentaje de hojas afectadas y los valores más bajos de área foliar consumida, lo cual puede relacionarse con la menor densidad de insectos presentes en este cultivar.

Los análisis químicos indicaron que el contenido de metabolitos secundarios en hojas varió entre las plantas expuestas a condiciones naturales de herbivoría. La evaluación de estos compuestos en plantas en condiciones de campo es complejo debido a que son sustancias con propiedades antioxidantes y están altamente influenciadas por las condiciones ambientales tales como la temperatura, radiación UV, entre otros (Close & McArthur 2002). Además, se debe considerar que la composición química observada en las hojas representan los contenidos en una etapa en particular en el desarrollo de la planta (final de floración), y no proporciona información acerca de cómo la composición de estos compuestos varían en hojas más jóvenes, las cuales son más susceptibles al daño. Teniendo en cuenta esto, los resultados de los análisis indicaron que seis compuestos detectados en las plantas presentaron relación lineal significativa con la herbivoría (Tabla 3.4), sin que sea posible afirmar que estas sustancias son producidas en respuesta a la herbivoría como una forma de defensa inducida, o si las altas cantidades en las hojas dañadas indican un efecto fagoestimulante.

Los pigmentos rojos como las antocianinas son mencionados como sustancia de defensa contra herbívoros, ya sea por toxicidad directa, o como compuestos de advertencia a través de su coloración. Diferentes hipótesis se han postulado para explicar el rol defensivo de estas sustancias, pero la evidencia es bastante contradictoria. Si bien las plantas de amaranto no contienen antocianinas, la similitud en las propiedades espectrales y antioxidantes entre antocianinas y betalaínas ha permitido especular sobre el papel similar de ambos compuestos (Manetas 2006). Sin embargo, todavía son escasas las investigaciones relacionadas a la función de las betalaínas (Ibdah et al. 2002; Berardi et al. 2013).

Se ha indicado que el color de la planta influye en la preferencia de los insectos fitófagos, tanto en la alimentación como en la oviposición, en favor de las plantas de hojas verdes (Furuta 1986; Karageorgou & Manetas 2006). Algunos autores señalan que los insectos no distinguen fácilmente el color rojizo de las plantas, ya que la mayor sensibilidad de los ojos en insectos defoliadores ocurre entre los 300 a 550 nanómetros (Matic 1983; Kelber et al. 2003; Karageorgou et al. 2008). No obstante, en el caso de que las plantas de hojas rojizas puedan ser detectadas, los insectos tenderían a evadirlas dado que el color rojo indica que la planta está defendida (Hamilton & Brown 2001; Lev-Yadun 2001). Por otra parte se ha sugerido que los compuestos rojizos suelen estar acompañados por otros compuestos incoloros que son los que realmente afectan a los insectos (Close et al. 2001; Karageorgou & Manetas 2006).

Los resultados de este trabajo muestran que Hyp 280 presenta altos niveles de betalaínas y ácidos fenólicos (Tabla 3.3). Sin embargo, las diferencias en los niveles de daño en Hyp 280 y Hyp Artasa, y la similitud en los observados en Hyp Artasa y Cruentus (la última sin pigmentos), no respaldan la hipótesis de que las betalaínas aportan protección contra los herbívoros. Lo cual no descarta la posibilidad de que la acumulación de betalaínas en otras partes de la planta, tales como tallos o inflorescencia pueda ejercer defensa contra otros gremios de insectos. Sin embargo, existe la posibilidad de que la acumulación de betalaínas acompañada por compuestos de ácidos fenólicos como se registra en Hyp 280, explique la menor herbivoría de este cultivar.

Los ácidos fenólicos son citados por su rol de protección contra insectos herbívoros. En particular, los ácidos siríngico, ferúlico, cafeico y salicílico incrementan su concentración en plantas luego de sufrir daño por herbivoría (Bi et al. 1997; Clement & Mabry 1996; Heidel & Baldwin 2004). Todos los ácidos mencionados se observaron

en Hyp 280 en altas concentraciones, y tanto el ácido salicílico, cafeico y cumárico fueron buenos predictores de la herbivoría en las hojas de *Amaranthus* (Tabla 3.4). El ácido salicílico es indicado como un importante compuesto de señalización de defensa en las plantas (Heidel & Baldwin 2004; Hayat et al. 2010), y que en este trabajo fue detectado en altas concentraciones en el cultivar con menor herbivoría, Hyp 280, y en bajas concentraciones en Mantegazzianus y en Hyp Artasa, éste último cultivar con los niveles más altos de herbivoría. A su vez, este cultivar presentó altos niveles de flavonoides, especialmente rutina.

Burghardt et al., (2000) ha señalado que aumentos de nivel de herbivoría por insectos se han relacionado con contenidos de flavonoides en las plantas. Y dentro de este grupo, rutina se menciona como una sustancia fagoestimulante para varias especies de lepidópteros tales como *Heliothis virescens*, *Spodoptera littoralis*, *S. exigua* y *S. exempta* y para algunos ortópteros: *Schistocerca americana*, *S. albolineata* and *Melanoplus differentialis* (Bernays et al. 1991; Blaney & Simmonds 1983).

Si bien los resultados mostraron diferencias en los contenidos de metabolitos y en la herbivoría entre cultivares, la gran variabilidad en la concentración de los compuestos analizados (en particular los ácidos fenólicos) impide detectar un patrón claro para ser relacionado con la herbivoría. Se ha indicado que interacciones sinérgicas y/o antagónicas pueden condicionar el efecto defensivo de estos compuestos (Blaney & Simmonds 1983; Green et al. 2003; Pascacio-Villafán et al. 2014). Estudios previos en especies cultivadas indicaron que la eficacia de los metabolitos secundarios como sustancias defensivas puede modificarse con el grado de domesticación de la planta por cambios en la concentración y en la combinación de los compuestos (Lindig-Cisneros et al. 1997; Lou et al. 2006; Torres-Gurrola et al. 2011). Lindig-Cisneros et al. (1997) mencionan que la diversidad de fitoalexinas en especies de porotos silvestres fue importante en la defensa contra el patógeno *Aspergillus* sp, sin embargo en especies cultivadas de porotos la diversidad de estos compuestos tuvo el efecto contrario en el mismo patógeno.

En este trabajo se observó que las especies Hyp Artasa y Cruentus tuvieron niveles bajos de ácidos fenólico y a su vez presentaron niveles altos de herbivoría, en tanto que en el cultivar Hyp 280 con los niveles más altos de ácidos fenólicos presentó los niveles más bajos de herbivoría. Las diferencias en la concentración de los distintos compuestos en las hojas de los cultivares y los niveles de herbivoría registrados en las

hojas indicarían que en algunos cultivares (*Hyp Artasa* y *Cruentus*) la domesticación pudo haber disminuido las defensas químicas en estas plantas. Se ha indicado que la selección artificial por caracteres importantes para la producción en las planta tales como el tamaño de la planta, tamaño de panojas, producción de grano, etc., pueden disminuir atributos defensivos (físicos y químicos) y en consecuencia las plantas cultivadas son más vulnerables a herbívoros, patógenos y competidores respecto de las especies de crecimiento espontáneo (Harlan 1992; Bai & Lindhout 2007).

A su vez, no hay que descartar que otros compuestos no analizados en este estudio pudieron también influir en las diferencias de herbivoría. En *Amaranthus*, se han reportados ácidos oxálicos o oxalatos, los cuales se presentan en su formas solubles como oxalatos de potasio o oxalatos de magnesio, y también en forma insoluble como oxalatos de calcio (Vityakon & Standal 1989). En esta última forma los oxalatos han demostrado cumplir un rol de defensa contra insectos como compuestos antialimentarios y también como elemento abrasivo al formar cristales que causan lesiones en los insectos masticadores (Franceschi & Nakata 2005; Korth et al. 2006). A su vez, el ácido oxálico, precursor de los oxalatos y presente en forma soluble en las plantas, ha demostrado efectos disuasivos en la alimentación de insectos succionadores (Yoshihara et al. 1980). Se debe señalar que los oxalatos son compuestos indeseables en plantas para consumo humano cuando se encuentran en altas concentraciones debido a que ocasionan trastornos digestivos, problemas renales e incluso envenenamiento (Vityakon & Standal 1989; Gélinas & Seguin 2007). Por lo tanto, el posible papel de los metabolitos secundarios en el control de insectos herbívoros en *Amaranthus* plantea un dilema interesante en cuanto a la utilización de mecanismos de defensa inherentes de las plantas sin perder de vista los efectos que estos compuestos pueden tener en la dieta humana.

3.5.3. Herbivoría por insectos y producción de grano en *Amaranthus*.

La producción de grano por hectárea estuvo dentro de los valores de producción reportados para el cultivo de amaranto (Henderson et al. 2000; Gimplinger et al. 2008; Kumar et al. 2013). En el segundo año se observó una menor variabilidad en la producción de los cultivares evidenciando un fenómeno de aclimatización en las plantas que fue más marcado en los cultivares *Cruentus*, *Hyp SA* y *Mantegazzianus*. Los

rendimientos similares entre cultivares con diferentes niveles de herbivoría sugieren que las plantas más afectadas tuvieron respuestas de compensación al daño por folívoros. De acuerdo a trabajos previos, las plantas de amaranto presentan tolerancia a la defoliación y utilizan estrategias de compensación para evitar la reducción de semilla o que esta se mínima (Martínez-Moreno et al. 1999; Castrillón-Arbeláez et al. 2012; Vargas-Ortiz et al. 2013). El mecanismo subyacente a esta característica se indica en publicaciones recientes y estaría dado por la rápida utilización de reservas de carbono almacenadas durante las etapas de prefloración en hojas, tallos y raíces, en su mayoría en forma de almidón (Castrillón-Arbeláez et al. 2012; Vargas-Ortiz et al. 2013). A su vez, se indica que la tolerancia a la defoliación en amaranto es dependiente de la cantidad del daño producido así como también del ambiente y de la especie de *Amaranthus*. Se reporta que en *A. cruentus* y *A. hypochondriacus* una reducción del follaje por daño mecánico de hasta el 50 % puede ser compensado en ambas especies, sin embargo con niveles de herbivoría superiores se observan diferencias en la recuperación entre las especies y entre cultivares de la misma especie (Vargas-Ortiz et al. 2013). Por lo expuesto, factores genéticos que rigen el almacenamiento de las fuentes de carbono y la movilización de las reservas influirán en la recuperación de las plantas luego de la defoliación (Vargas-Ortiz et al. 2013).

Los datos de producción de grano obtenido en los cultivares y la herbivoría registrada en cada uno de ellos indicaron que las plantas con porcentajes de herbivoría promedio del 25.59 % de daño en hojas y del 27.42 % de daño en tallos (valores promedios de daño estimado entre todos los cultivares Ver Apéndices Tablas 1 y 2) tuvieron producciones acordes a las reportadas previamente para el cultivo (Henderson et al. 2000; Gimplinger et al. 2008; Kumar et al. 2013). Lo cual indica que las plantas soportaron bajos niveles de herbivoría si se tiene en cuenta que estuvieron expuestas a los insectos fitófagos durante todo su ciclo de desarrollo. Se desconoce si con densidades y herbivoría de insectos superiores a las reportadas para estos cultivares las plantas podrán mantener los niveles de producción de grano. Al respecto, Vargas-Ortiz et al. (2013) indicaron que en plantas de *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* que sufrieron diferente grado de defoliación mecánica (20 a 100% de defoliación) la mayor reposición de reservas de carbono en los tallos y raíces ocurrió luego de un plazo de 110 días posteriores a la defoliación.

Capítulo 4

Efecto de prácticas culturales sobre la herbivoría de insectos endofitófagos y ectofitófagos masticadores en *Amaranthus hypochondriacus*.

4.1. Introducción

El control cultural se ha empleado desde tiempos antiguos en la agricultura para prevenir y reducir la incidencia de malezas, enfermedades e insectos en los cultivos manteniéndose su uso a través del tiempo tanto en los sistemas agrícolas intensivos como extensivos. En la actualidad, el control cultural se desarrolla con éxito en diferentes cultivos entre ellos maíz (Levine & Oloumi-Sadeghi 1991; Moyal 1995; Onstad et al. 2001; Echezona 2007; Vasileiadis et al. 2011), trigo (Sotelo et al. 2014), canola (Dosdall et al. 1995; Toepfer et al. 2014), papa (Setiawati 2010; Alyokhin et al. 2014) y en cultivos intensivos (Hilje et al. 2001) constituyendo una de las piedras angulares en el manejo integrado de plagas (MIP).

Por su naturaleza preventiva, las prácticas culturales se basan tanto en el conocimiento de los requerimientos ecológicos de los insectos, como en su comportamiento. Estas prácticas manipulan factores ambientales del agroecosistema generando condiciones menos favorables para la colonización, permanencia y desarrollo de las especies plagas. La implementación de las prácticas culturales puede variar de acuerdo al sistema y al comportamiento de la especie insectil teniendo efectos diferenciales sobre los organismos. En este sentido, la remoción del suelo en general, es indicada como una práctica para disminuir los insectos que cumplen parte de su ciclo en

el suelo (Stinner & House 1990; Capinera 2001). Ya sea por la exposición de los mismos al desecamiento, a sus enemigos naturales (Stinner & House 1990; Capinera 2001) o por la modificación de atributos físicos de los microhábitats (aireación, temperatura, niveles de humedad, etc.) (Amatobi et al. 1988). Sin embargo, también esta práctica puede propiciar ambientes adecuados para especies que prefieren condiciones cálidas y secas (Tahvanainen 1972) como así también la simplicidad del hábitat (Cromartie 1975; Milbrath et al. 1995) que caracterizan a los sistemas de la labranza convencional. En el cultivo de canola, por ejemplo, estas condiciones son aprovechadas por dos especies plagas: *Phyllotreta striolata* y *P. cruciferae* (Coleoptera: Chrysomelidae) y en ese sistema en particular, la implementación del sistema de labranza cero es conveniente respecto de la convencional, si se desea reducir la incidencia de estos insectos (Milbrath et al. 1995; Dossdall et al. 1999).

Para otros insectos, aquellos que tienen preferencia por una estrecha gama de plantas hospederos y que presentan un limitado rango de dispersión, la rotación de cultivos hospedantes con otros no hospedantes en años alternos es otra estrategia de manejo utilizada. Esta práctica es eficaz en el control de *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte y *D. barberi* Smith (Coleoptera: Chrysomelidae) importantes plagas de maíz en América del Norte y en Europa (Onstad et al. 2001; Levine & Oloumi-Sadeghi 1991). Para ambas especies, la alternancia con cultivos de soja disminuye la tasa de supervivencia de las larvas al reducir sus principales fuentes de alimento que son las raíces de maíz y un número muy limitado de hierbas (Ludwig & Hill 1975; Branson & Krysan 1981; Toepfer et al. 2014). A su vez, la rotación de cultivos tiene buenos resultados en el control de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) importante defoliador en cultivos de papa y donde hasta el momento la alternancia con cereales no huésped (centeno o trigo) es el único control cultural que logra reducir hasta el 95% de la población (Lashomb & Ng 1984; Wright 1984; Alyokhin et al. 2014). Además, en este caso particular, el manejo integrado es de suma utilidad por la notable capacidad que tiene *L. decemlineata* a desarrollar resistencia a los insecticidas (Alyokhin et al. 2007; Scott et al. 2014).

Se ha demostrado que la asociación de cultivos también puede ofrecer ventajas en términos del control de insectos plagas y se han propuesto diferentes mecanismos para indicar su efectividad. Entre ellos, se ha señalado que las especies asociadas pueden ocultar a la planta focal de los herbívoros durante el proceso de búsqueda por

interferencia física, visual o por enmascarar los compuestos volátiles generados por la planta huésped (Finch et al. 2003; Finch & Collier 2012). A su vez, los cultivos focales pueden ser intercalados con otras especies vegetales que son aprovechadas por los insectos como huéspedes alternativos, en algunos casos las especies acompañantes puede ser más atractiva para los insectos disminuyendo la preferencia de estos por el cultivo focal. En África, esta metodología ha sido aplicada con éxito en cultivos de maíz que se intercalan con las especies *Pennisetum purpureum* o *Sorghum vulgare sudanense*, ya que los barrenadores *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Pyralidae) y *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) prefieren estas gramíneas para realizar la postura de sus huevos en detrimento de las plantas de maíz (van den Berg et al. 2001; Khan et al. 2006; Cook et al. 2007; Hassanali et al. 2008). En sistemas hortícolas, intercalar cultivos de mayor preferencia para atraer *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) se implementa en cultivos de tomate, poroto y algodón permitiendo reducir los daños de este insecto y la propagación de las enfermedades virales asociadas a este vector (Stansly et al. 1998; Smith et al. 2000). A su vez, las especies asociadas pueden producir el efecto contrario en los insectos, por ejemplo repelencia, y ser igualmente efectivas en el control de insectos. En África se reporta que la asociación de dos especies vegetales nativas del continente, *Melinis minutiflora* (Poaceae) y *Desmodium uncinatum* (Fabaceae), permite disuadir diferentes especies de lepidópteros barrenadores a través de compuestos volátiles emitidos por estas plantas y reducir notablemente el número de oviposaduras en las plantas de maíz (Khan et al. 2000; Hassanali et al. 2008; Poveda & Kessler 2012). Por otra parte, se ha demostrado que la emisión de compuestos volátiles en las plantas puede ser empleada como un mecanismo de comunicación entre plantas vecinas a través del cual envía y recibe información sobre su entorno (Ponzio et al. 2013). Se indica que el intercambio de sustancias volátiles entre plantas no atacadas por insectos puede advertir a especies cercanas sobre daños futuros y generar en el receptor cambios fisiológicos y la inducción de defensas (Heil & Ton 2008; Heil & Karban 2010; Ninkovic et al. 2013). También la producción de compuestos volátiles puede favorecer la presencia de enemigos naturales (Khan et al. 2008; Pickett et al. 2014).

Por otra parte, la literatura cita la manipulación de la fecha y la densidad de siembra como otras estrategias de manejo en insectos (Moyal et al. 1995; Dossdall et al. 1995; Echezona 2007). Estas prácticas tienen un marcado efecto en la capacidad

productiva de las plantas. La variación de la fecha de siembra permite que las plantas se desarrollen en las condiciones térmicas, hídricas y de fotoperiodo óptimas. En zonas tropicales, la siembra temprana de los cultivos en el inicio de la temporada de lluvias es esencial para obtener altos rendimientos los cuales disminuyen a medida que se retrasa la siembra (Amarasingha et al. 2014). A su vez, las plantas sembradas en el inicio de la temporada de lluvias se benefician por una menor competencia con las malezas y por los altos niveles de nitratos presentes en el suelo (Dent 2000).

En *Amaranthus*, varios autores han evaluado estas prácticas con el objetivo de determinar el potencial productivo del cultivo y establecer estrategias de manejo que maximicen el rendimiento de grano (Henderson et al. 2000; Whitehead et al. 2002; Troiani et al. 2004; Gimplinger et al. 2008; Mulandana et al. 2009). Estos trabajos han indicado la gran plasticidad fenotípica que el amaranto tiene para adaptarse a una amplia gama de condiciones ambientales. Sin embargo, poco se sabe sobre cómo estas prácticas influyen en la vulnerabilidad de las plantas a los insectos fitófagos (Torres-Saldaña et al. 2004). Riquelme et al. (2013) indican que la especie barrenadora *Aerenea quadriplagiata* muestra selectividad por diversas características del tallo (en especial el grosor) para realizar sus oviposturas en la planta. Por lo tanto, la utilización de prácticas que modifiquen atributos de las plantas, como la densidad o el momento de siembra, podrían disminuir la incidencia de este gremio de insectos en *Amaranthus*. Por otra parte, debe tenerse en cuenta que la densidad de siembra, aumenta los niveles de competencia intraespecífica entre plantas, y esto podría disminuir sus niveles de defensa (Mole 1994; Karban & Baldwin 1997; Züst et al. 2015).

4.2. Objetivos específicos

En este capítulo se plantea estudiar experimentalmente los efectos del cultivar y de la densidad de siembra (ambos como factores modificadores del grosor de los tallos de *Amaranthus*) sobre la herbivoría causada por insectos endofitófagos y ectofitófagos masticadores. A su vez, se analizan los efectos del cultivar y del momento de siembra (ambos como factores modificadores de la duración del ciclo) sobre la herbivoría en los mismos grupos de insectos. Las hipótesis que se plantean son las siguientes:

Hipótesis 1: El grosor de los tallos de *Amaranthus* afecta la preferencia de los insectos barrenadores por la selectividad de las hembras por la planta hospedadora

(Wright & Samways 1999; Riquelme et al. 2013). Se espera que plantas con tallos gruesos sean más elegidas para la oviposición por parte de estos insectos y, por lo tanto, alberguen un mayor número de larvas barrenadoras que plantas con tallos finos (Dubbert et al. 1998). Se prevé que en siembras densas la mayor delgadez del tallo influya sobre la densidad y la incidencia de insectos barrenadores. El único estudio que probó experimentalmente el efecto de la densidad de siembra en *Amaranthus* ha sido realizado en México, pero no aportó evidencia para apoyar la hipótesis planteada en relación a la densidad de barrenadores y al daño que causan a las plantas (Torres-Saldaña et al. 2004).

Hipótesis 2: Las densidades altas de siembra en amaranto incrementan los niveles de herbivoría por insectos defoliadores. Se predice que en plantas sembradas en densidades altas la competencia intraespecífica de plantas reducen los recursos destinados a defensas (Herms & Mattson 1992; Mole 1994; Karban & Baldwin 1997; Züst et al. 2015) y por lo tanto se incrementan los daños por defoliadores.

Hipótesis 3: El acortamiento del ciclo completo de la planta, y el de cada una de sus etapas fenológicas, disminuye los niveles de herbivoría por insectos fitófagos. Se predice que variedades de ciclo corto disminuye la disponibilidad de recursos en el tiempo para los insectos barrenadores y defoliadores y en consecuencia también disminuyen los niveles herbivoría.

4.3. Materiales y métodos

4.3.1. Ensayo de campo

Se realizaron dos ensayos de campo con diseño bifactorial en bloques al azar con 3 repeticiones por tratamiento. Cada una de las 12 unidades experimentales consistió en cinco surcos de 3.20 m de largo separados entre sí por 0.50 m. La separación entre unidades experimentales fue de 1 m. En el primer ensayo se manejaron dos factores: cultivar y densidad de siembra. Para ello se seleccionaron dos cultivares de la misma especie que, según se analizó en el Capítulo 3, difieren en la característica del grosor de sus tallos. Los cultivares sembrados fueron *Amaranthus hypochondriacus* 280 FK-FH1 (tallos finos) y *A. hypochondriacus* Artasa 9122 (tallos gruesos), mientras que los niveles de siembra fueron 3 kg/ha (baja densidad) y 6 kg/ha (alta densidad).

En la segunda experiencia, los factores controlados fueron cultivar y fecha de siembra, cada uno con dos niveles. Los cultivares sembrados fueron *Amaranthus hypochondriacus* 280 FK-FH1 (ciclo corto) y *A. hypochondriacus* Artasa 9122 (ciclo largo) (ver Capítulo 3), y los momentos de siembra difirieron en 18 días. La fecha de siembra temprana se realizó el 30/11/2010 y la siembra tardía el 18/12/2010. La densidad de siembra para las dos variedades fue de 3.5 kg/ha. Se consideraron datos de temperatura medias mensuales, valores de fotoperíodo (horas de luz) y temperatura del suelo (tomada a 1 cm de profundidad) tomadas mediante una estación meteorológica a 500 m del ensayo, para comparar las condiciones meteorológicas en la cuales se desarrollaron los tratamientos. El valor medio de temperatura del suelo se calculó entre el valor registrado el día de la siembra y dos días previos y posteriores a la siembra, dado a que la temperatura en el suelo fluctúa lentamente. En ambas experiencias las plantas no recibieron aplicación de insecticidas y el desmalezado del cultivo fue manual. Las plantas recibieron riego suplementario cuando se consideró necesario.

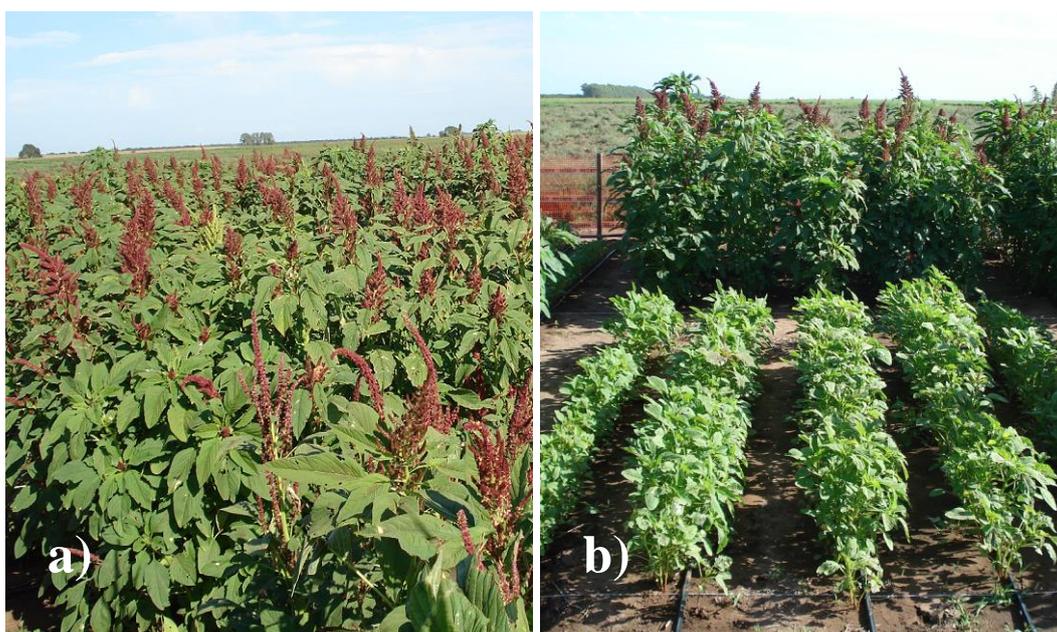


Figura 4.1: Imagen de los ensayos de campo a) con diferentes densidades de siembra. b) con diferentes fechas de siembra.

4.3.2. Variables medidas en los ensayos.

4.3.2.1. Atributos de las plantas.

En ambos ensayos, en una única oportunidad y en el momento de madurez de la panoja, se registraron las siguientes variables para cada unidad experimental, a partir de 5 plantas tomadas al azar: longitud total del tallo (desde el suelo al punto de inicio de la panoja), longitud de la inflorescencia y ancho del tallo (a 50 cm del suelo). En tres oportunidades durante el segundo ensayo, se registró el estado fenológico de 20 plantas a fin de cuantificar diferencias en la duración total del ciclo ontogénico y el momento en que los cultivares alcanzaron el estadio R4 (antesis). Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA y test Scott & Knott a posteriori.

4.3.2.2. Herbivoría causada por endofitófagos barrenadores (tallos y panojas) y ectofitófagos masticadores (hojas).

En cada unidad experimental y fecha de muestreo se estimó la herbivoría por endofitófagos barrenadores tomando al azar diez plantas (en dos momentos: mitad y final del ciclo), cuyos tallos y panojas se seccionaron longitudinalmente para registrar síntomas de oviposición y presencia de galerías. En cada planta ($n = 240$) se cuantificó el número de orificios por planta y las galerías presentes en los tallos. A su vez, se verificó la presencia de larvas activas en la planta y se estimó visualmente el porcentaje de daño producido por los insectos en los tallos e inflorescencias. En los tallos (Apéndice Tabla 3 y 4) los valores se expresaron en cm^2 de tallo dañado (calculado a partir del porcentaje de daño y la superficie promedio del tallo, tal como se explicó en el Capítulo 3). En las inflorescencias, debido a la heterogeneidad del eje, no se calculó el área dañada en cm^2 sino que se consideró el porcentaje de daño estimado visualmente a campo. De este modo, se obtuvieron las siguientes estimaciones de herbivoría por endofitófagos: porcentaje de inflorescencias y tallos afectados (órganos dañados/órganos observados), porcentaje de daño en la inflorescencia, superficie de tallo dañado expresada en cm^2 y el número de larvas promedio por órgano. Esta última medida se expresó en número de larvas promedio por m^2 para la primera experiencia, y número de larvas promedio por día para la segunda experiencia. Se registró además el diámetro y longitud de los tallos disectados para relacionarlos con la presencia y magnitud de herbivoría. El porcentaje de daño estimado en inflorescencias se transformó a raíz cuadrada del arcoseno con el fin de cumplir con los supuestos normalidad.

Para cuantificar la herbivoría por ectofitófagos masticadores se seleccionaron al azar 50 hojas en cada parcela, en tres momentos del ciclo, y se registró la presencia o ausencia de daño. Además, en las mismas hojas se cuantificó visualmente el área consumida por hoja utilizando una escala de 0 a 9 con las siguientes categorías: 0%, 1: 1-5%, 2:6-10%, 3: 11-20%, 4: 21-30%, 5:31-40%, 6: 41-50%, 7: 51-65%, 8: 66-75% 91 y 9: 76-95% de daño foliar. Los porcentajes obtenidos en cada variedad (Apéndice Tabla 5 y 6) se relativizaron al área foliar promedio de cada cultivar a fin de poder comparar el daño (área foliar consumida) en los dos cultivares, ya que poseen áreas foliares diferentes. De esta manera, se obtuvieron dos medidas de herbivoría: porcentaje de hojas afectadas (hojas dañadas/hojas observadas) y área foliar dañada promedio.

Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA para diseño bifactorial y test Scott & Knott a posteriori, considerando la interacción entre los factores en estudio. Los datos de porcentaje de inflorescencias y tallos afectados (órganos dañados/órganos observados) del ensayo de densidad de siembra no pudieron ser analizados por ANOVA por incumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

Se utilizó análisis de regresión múltiple para analizar la relación de las tres estimaciones de herbivoría en los tallos (variables dependientes) con las características del tallo: diámetro y longitud (variables independientes).

4.3.2.3. Estimación de producción.

Al final de la temporada, cuando las plantas se encontraron en estado de madurez fisiológica (R7) (Mujica & Quillihumán 1989), en cada unidad experimental se cortaron todas las panojas, se secaron en invernáculo y luego se trillaron a mano. La cantidad de grano producido se expresó en kg/ha de cultivo. Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA y test Scott & Knott a posteriori.

4.4. Resultados

4.4.1. Ensayos con diferentes densidades de siembra.

4.4.1.1. Atributos de las plantas.

En primer lugar, se comprobó que efectivamente la cantidad de plantas por m² varió entre los tratamientos con diferentes densidades de siembra ($F_{(5,11)} = 13.34$, $p = 0.0034$). En altas densidades, el cultivar Hyp 280 presentó el valor más alto de plantas por m² mientras que el tratamiento Hyp Artasa a baja densidad, tuvo el valor más bajo (Tabla 4.1). Las plantas sembradas en alta densidad presentaron tallos más finos ($F_{(5,11)} = 34.21$, $p = 0.0002$) y panojas de menor longitud ($F_{(5,11)} = 17.85$, $p = 0.0015$) respecto de las plantas sembradas a menor densidad, y las dos características fueron afectadas tanto por el cultivar ($F_{(1,6)} = 93.72$, $p = 0.0001$; $F_{(1,6)} = 13.53$, $p = 0.01$) como por la densidad ($F_{(1,6)} = 69.35$, $p = 0.0002$; $F_{(1,6)} = 71.84$, $p = 0.001$) existiendo interacción entre los factores sólo para el grosor del tallo ($F_{(1,6)} = 7.71$, $p = 0.032$). A su vez, la longitud de los tallos mostró diferencias entre los tratamientos ($F_{(5,11)} = 8.92$, $p = 0.009$), y el efecto del factor cultivar fue significativo ($F_{(1,6)} = 35.95$, $p = 0.0007$) (Tabla 4.1).

Tabla 4.1: Valores promedios (\pm error estándar) observados para atributos morfológicos y densidad de plantas de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en densidades diferentes. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p < 0.05$). BD = Baja densidad; AD = Alta densidad.

Variable	Cultivar - Densidad de siembra			
	Hyp 280 - BD	Hyp 280 - AD	Hyp Artasa - BD	Hyp Artasa - AD
Plantas por m ² (N°)	28.23 \pm 2.53 b	38.02 \pm 3.17 c	17.50 \pm 0.48 a	30.05 \pm 1.38 b
Longitud del tallo (cm)	66.33 \pm 0.51 a	65.86 \pm 4.83 a	83.97 \pm 1.90 b	80.15 \pm 1.75 b
Diámetro del tallo (cm)	1.32 \pm 0.07 b	0.93 \pm 0.07 a	2.21 \pm 0.02 c	1.42 \pm 0.08 b
Longitud de la inflorescencia (cm)	55.0 \pm 0.94 b	46.43 \pm 1.19 a	60.13 \pm 1.37 b	49.59 \pm 1.27 a
Altura de la planta (cm)	120.44 \pm 3.85 a	111.51 \pm 9.10 a	144.10 \pm 3.44 b	128.95 \pm 6.17 a

4.4.1.2. Herbivoría causada por endofitófagos barrenadores (tallos y panojas) y ectofitófagos masticadores (hojas).

Del total de las plantas analizadas (n total = 240), el 97.5 % presentó daños por barrenado en tallos y 90.83 % en panojas, causados por insectos de las familias Cerambycidae y Curculionidae (Coleoptera). Se observaron diferencias significativas para el número de orificios en tallos ($F_{(5,6)} = 13.12$; $p_{\text{tallo}} = 0.003$) y panojas ($F_{(5,6)} = 34.28$; $p_{\text{panojas}} = 0.0002$) (Figura 4.2), número de galerías en tallo ($F_{(5,6)} = 6.8$; $p = 0.01$) (Figura 4.3) y área promedio de tallo dañado ($F_{(5,6)} = 32.27$; $p = 0.0003$) (Figura 4.4). Las tres variables medidas en los tallos se vieron afectadas tanto por la densidad de plantas (orificios en tallos: $F_{(1,6)} = 20.12$, $p_{\text{densidad}} = 0.004$; n° galerías: $F_{(1,6)} = 15.92$, $p_{\text{densidad}} = 0.0007$; área dañada: $F_{(1,6)} = 36.84$, $p_{\text{densidad}} = 0.0009$) como por el cultivar de amaranto ($F_{(1,6)} = 39.11$, $p_{\text{cultivar}} = 0.0008$; $F_{(1,6)} = 14.96$, $p_{\text{cultivar}} = 0.008$; $F_{(1,6)} = 36.84$, $p = 0.0009$ respectivamente), pero en ninguno de los análisis se observó interacción entre los factores de estudio. A su vez, el efecto de ambos factores fue significativo sobre el número de orificios en la inflorescencia ($F_{(1,6)} = 109.12$, $p_{\text{densidad}} = < 0.0001$; $F_{(1,6)} = 47.87$; $p_{\text{cultivar}} = 0.0005$) y existió interacción entre ambos ($F_{(1,6)} = 10.6$, $p_{\text{densidad} \times \text{cultivar}} = 0.01$). Hyp Artasa sembrada a baja densidad fue el tratamiento con mayor número de galerías por tallo (Figura 4.3). En cuanto al área dañada en tallos, Hyp Artasa e Hyp 280 presentaron mayores daños en plantas sembradas en baja densidad ($p_{\text{factor densidad}} = 0.0009$), Hyp Artasa fue el cultivar con los mayores daños (Figura 4.4). Respecto del daño estimado en la inflorescencia, éste difirió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 32.27$; $p = 0.0003$), y ambos factores tuvieron efecto significativo sobre el daño ($F_{(1,6)} = 36.84$, $p_{\text{densidad}} = 0.0009$; $F_{(1,6)} = 116.5$, $p_{\text{cultivar}} = < 0.0001$) pero no se observó interacción entre factores ($F_{(1,6)} = 0.73$, $F_{\text{densidad} \times \text{cultivar}} = 0.42$)

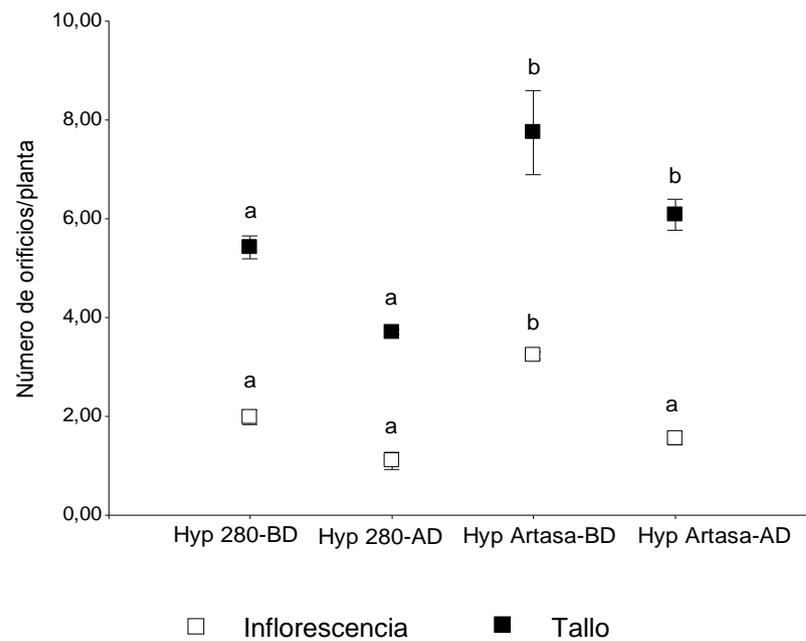


Figura 4.2: Número de orificios (\pm error estándar) presentes en tallos e inflorescencias en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* con dos niveles de densidad de siembra. AD = Alta densidad; BD = Baja densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según test Scott & Knott ($p = 0.01$).

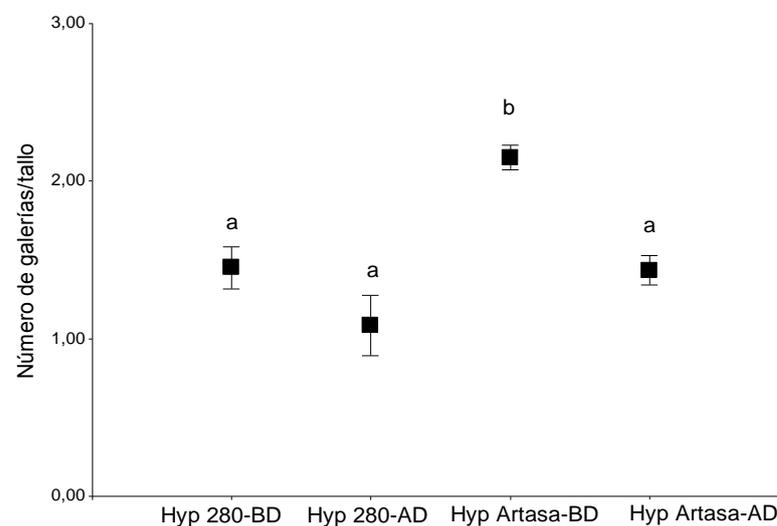


Figura 4.3: Número de galerías en tallos en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* con dos niveles de densidad de siembra. AD = Alta densidad; BD = Baja densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p = 0.01$).

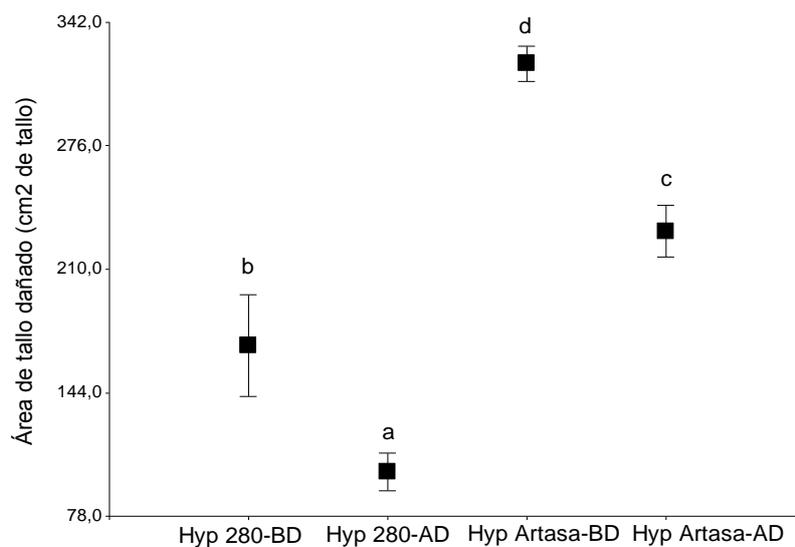


Figura 4.4: Área dañada promedio en tallos (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* con dos niveles de densidad de siembra. AD = Alta densidad; BD = Baja densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p = 0.0003$).

La densidad total promedio de insectos endofitófagos barrenadores en plantas (tallos y panojas juntos) difirió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 5.61$, $p_{\text{larvas totales}} = 0.02$). El efecto de ambos factores, densidad de planta y cultivar de amaranto, fueron significativos ($F_{(1,6)} = 9.2$, $p_{\text{densidad}} = 0.02$; $F_{(1,6)} = 17.25$, $p_{\text{cultivar}} = 0.006$) y no existió interacción entre ellos. Para los dos cultivares, se observó que el número promedio de larvas por m^2 fue menor en plantas sembradas en alta densidad respecto de las de baja densidad. Sin embargo, estas diferencias sólo fueron estadísticamente significativas en Hyp Artasa (Tabla 4.2). Cuando se discriminaron los datos de barrenadores en tallo y en panoja, el análisis de la varianza indicó que sólo la densidad de larvas en panojas por m^2 fue diferente entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 10.33$; $p_{\text{panoja}} = 0.006$). Tanto el efecto del cultivar ($F_{(1,6)} = 22.57$, $p_{\text{cultivar}} = 0.003$) como de la densidad de siembra ($F_{(1,6)} = 23.70$, $p_{\text{densidad}} = 0.002$) fueron significativos sobre la densidad de larvas pero sin registrarse interacción entre los factores de estudio.

La densidad de insectos barrenadores también se analizó separadamente para las dos familias taxonómicas a las que pertenecieron los insectos. Se observó una mayor

densidad de insectos pertenecientes a la familia Curculionidae en plantas sembradas a baja densidad, con diferencias estadísticamente significativa en la variedad Hyp Artasa, tanto en el tallo ($F_{(5,6)} = 4.51$; $p_{\text{tallo}} = 0.04$) como en la inflorescencia ($F_{(5,6)} = 10.75$; $p_{\text{panoja}} = 0.005$) (Tabla 4.2). Respecto a la densidad de insectos barrenadores de la familia Cerambycidae, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para ninguna de las partes analizadas en la planta ($F_{(5,6)} = 1.50$, $p_{\text{tallo}} = 0.31$; $F_{(5,6)} = 1.70$, $p_{\text{panoja}} = 0.26$).

Los análisis de regresión lineal múltiple indicaron relación lineal significativa entre los estimadores de herbivoría y características del tallo. Los análisis de regresión con el número de larvas/m² ($R^2 = 0.74$, $R^2_{\text{ajustado}} = 0.78$, $N=12$, $F_{(2,9)} = 12.96$ $p = 0.002$) y con la superficie de tallo dañados ($R^2 = 0.91$, $R^2_{\text{ajustado}} = 0.89$, $N=12$, $F_{(2,9)} = 4.76$, $p < 0.0001$) indicaron que el diámetro del tallo fue significativo ($F_{(1,9)} = 9.48$, $p_{\text{diámetro}} = 0.01$, $F_{(1,9)} = 30$, $p_{\text{diámetro}} = 0.0004$) (Tabla 4.2).

Tabla 4.2: Resultados del análisis de regresión múltiple de la herbivoría por endofitófagos y las características del tallo (diámetro y longitud). (df = grado de libertad; β = coeficiente estandarizado; E.E = error estándar).

VARIABLE DEPENDIENTE	VARIABLE PREDICTORA	d.f.	β	E.E.	F	P
Número de larvas/m ²	Longitud del tallo	1.12	3E-03	0.01	0.32	0.5845
	Diámetro del tallo	1.12	0.30	0.10	9.43	0.0132
Área tallo dañado (cm ²)	Longitud del tallo	1.12	1.84	1.36	1.83	0.2086
	Diámetro del tallo	1.12	140.84	25.72	30.00	0.0004

Tabla 4.3: Densidad de larvas barrenadoras promedio (N° de larvas por m² ± error estándar) observados en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en densidades diferentes. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott (P <0.05). BD = Baja densidad; AD = Alta densidad.

Variable	Cultivar – Densidad de siembra			
	Hyp 280 - BD	Hyp 280 - AD	Hyp Artasa - BD	Hyp Artasa - AD
Larvas totales	0.29 ± 0.04 a	0.16 ± 0.03 a	0.63 ± 0.09 b	0.37 ± 0.06 a
Larvas en tallo	0.16 ± 0.03 a	0.11 ± 0.02 a	0.32 ± 0.05 a	0.23 ± 0.03 a
Curculiónidos	0.08 ± 0.003 a	0.06 ± 0.01 a	0.24 ± 0.04 b	0.09 ± 0.03 a
Cerambícidos	0.08 ± 0.03 a	0.05 ± 0.01 a	0.08 ± 0.01 a	0.14 ± 0.02 a
Larvas en panoja	0.14 ± 0.01 a	0.05 ± 0.01 a	0.32 ± 0.04 b	0.13 ± 0.04 a
Curculiónidos	0.09 ± 0.01 a	0.01 ± 0.01 a	0.24 ± 0.03 b	0.05 ± 0.03 a
Cerambícidos	0.04 ± 0.01a	0.03 ± 0.02 a	0.05 ± 0.01 a	0.07 ± 0.01 a

El área foliar dañada promedio por ectofitófagos masticadores difirió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 9.07$; $p = 0.009$), sólo el efecto del cultivar fue significativo sobre la herbivoría en hojas ($F_{(1,6)} = 41,74$, $p_{\text{cultivar}} = 0.0007$) y no se observó interacción con la densidad de plantas. La variedad Hyp Artasa presentó los valores más altos de área foliar dañada tanto en baja como alta densidad de siembra ($F_{(5,6)} = 9.07$; $p = 0.009$) (Figura 4.5).

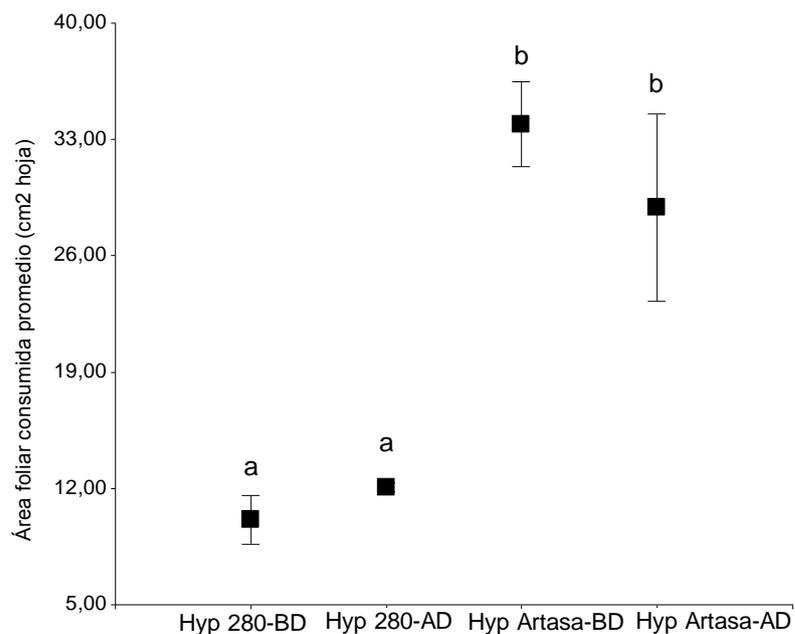


Figura 4.5: Área foliar consumida por insectos defoliadores (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* con dos niveles de densidad de siembra. AD = Alta densidad; BD = Baja densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p = 0.009$).

4.4.1.3. Estimación de producción.

La producción de semilla estimada en kilogramos por hectárea difirió significativamente entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 10.09$; $p_{\text{kg/ha}} = 0.007$) (Tabla 4.3), siendo sólo el efecto del factor cultivar significativo ($F_{(1,6)} = 38.17$, $p_{\text{cultivar}} = 0.0008$). La variedad Hyp Artasa tuvo valores promedios de producción más altos respecto de Hyp 280 tanto en densidades de siembra baja como altas (Tabla 4.3).

Tabla 4.4: Valores promedios (\pm error estándar) de producción de grano en plantas de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en diferentes densidades. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p = 0.007$). BD = Baja densidad; AD = Alta densidad.

Producción de grano	Cultivar – Densidad de siembra			
	Hyp 280 - BD	Hyp 280 - AD	Hyp Artasa - BD	Hyp Artasa - AD
Kilogramos por hectárea.	546.61 \pm 19.23 a	791.09 \pm 63.99 a	1550.26 \pm 303.28 b	2201.09 \pm 363.11 b

4.4.2. Ensayos con diferentes fechas de siembra.

4.4.2.1. Datos meteorológicos.

La temperatura del suelo promedio para la primera fecha de siembra fue de $18.44\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.15$, en tanto que para la segunda fecha fue de $23.44\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.27$. Los valores de temperatura medias mensuales y fotoperíodo se indican en la Tabla 4.4.

Tabla 4.5: Valores de temperatura media (\pm error estándar) y fotoperíodo durante la temporada 2010-2011.

Variable	2010		2011			
	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Temperatura media mensual ($^{\circ}\text{C}$)	19.0 \pm 0.45 (n = 30)	23.1 \pm 0.66 (n = 31)	22.5 \pm 0.55 (n = 31)	21.6 \pm 0.53 (n = 28)	19.6 \pm 0.50 (n = 31)	15.9 \pm 0.51 (n = 30)
Fotoperíodo (Horas de luz) (*)	14.53 -15.43	15.45 - 15.63	15.62 -14.89	14.85-13.82	13.78 - 12.59	12.55 -11.54

(*) Número de horas de luz, mínimo y máximo.

4.4.2.2. Atributos de las plantas.

La cantidad de plantas por m^2 no varió entre los tratamientos con diferentes fechas de siembra ($F_{(5,6)} = 0.51$; $p = 0.76$) (Tabla 4.5). Las plantas sembradas tardíamente (segunda fecha de siembra) alcanzaron el estado de madurez en menor tiempo respecto de plantas de siembras tempranas en los dos cultivares ($F_{(5,6)} = 18.71$; $p < 0.0001$). En Hyp 280 esto ocurrió con una diferencia promedio de 14 días y de 31 días promedio en Hyp Artasa, siendo estas diferencias significativas sólo para el cultivar Hyp Artasa (Figura 4.6). La duración entre la etapa fenológica de emergencia (VE) hasta que las plantas alcanzaron el estado de antesis (R4) difirió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 122.4$; $p < 0.0001$). Hyp 280 de siembra tardía fue el tratamiento que alcanzó en menor tiempo el estadio R4 (aproximadamente en 30 días), mientras que Hyp Artasa de siembra temprana demoró el doble, con un promedio de 64 días. Hyp 280 de siembra temprana y Hyp Artasa de siembra tardía presentaron valores promedio intermedios de 45 y 53 días respectivamente, que también difirieron significativamente.

Se observaron diferencias en la longitud del tallo ($F_{(5,6)} = 5.56$, $p = 0.02$), diámetro del tallo ($F_{(5,6)} = 115.75$, $p < 0.0001$) y longitud de la inflorescencia ($F_{(5,6)} = 70.81$, $p = 0.002$). Las dos características del tallo fueron afectadas tanto por el cultivar (longitud: $F_{(1,6)} = 17.25$, $p_{\text{cultivar}} = 0.006$; Diámetro: $F_{(1,6)} = 215.33$, $p_{\text{cultivar}} < 0.0001$) como por la fecha de siembra (Longitud: $F_{(1,6)} = 6.18$, $p_{\text{fecha}} = 0.04$; $F_{(1,6)} = 17.25$, $p_{\text{cultivar}} = 0.006$; Diámetro: $F_{(5,6)} = 328.32$, $p_{\text{fecha}} < 0.0001$) y se observó interacción entre factores al analizar el diámetro del tallo ($F_{(1,6)} = 32.97$, $p = 0.001$). La longitud de la inflorescencia fue afectada sólo por la fecha de siembra ($F_{(1,6)} = 70.81$, $p_{\text{fecha}} = 0.0002$) y no existió interacción entre los factores. Las plantas de siembras tempranas presentaron los valores más altos en los tres atributos medidos (Tabla 4.5).

Tabla 4.6: Valores promedios (\pm error estándar) observados para atributos morfológicos y densidad de plantas de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($P < 0.05$).

Variable	Cultivar - Fecha de siembra			
	Hyp 280 Siembra temprana	Hyp 280 Siembra tardía	Hyp Artasa Siembra temprana	Hyp Artasa Siembra tardía
Plantas por m ² (N°)	25.26 \pm 5.07 a	23.91 \pm 4.94 a	20.68 \pm 9.62 a	32.81 \pm 1.80 a
Longitud del tallo (cm)	62.18 \pm 1.58 a	54.72 \pm 6.31 a	79.28 \pm 7.09 a	68.35 \pm 1.93 a
Diámetro del tallo (cm)	1.31 \pm 0.02 b	0.99 \pm 0.04 a	1.85 \pm 0.02 c	1.22 \pm 0.01 b
Longitud de la inflorescencia (cm)	48.25 \pm 0.13 b	34.18 \pm 0.57 a	49.33 \pm 4.22 b	27.36 \pm 1.36 a
Altura de la planta (cm)	110.43 \pm 1,45 b	88.89 \pm 3.39 a	128.60 \pm 11.29 b	95.71 \pm 3.16 a

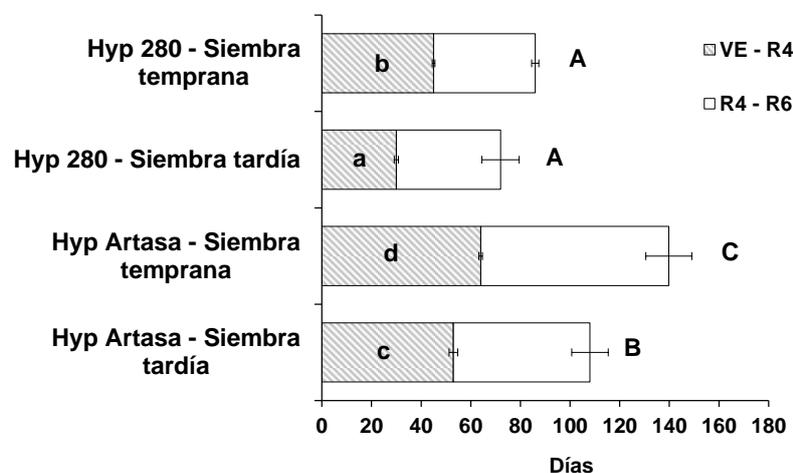


Figura 4.6: Número de días promedio para alcanzar el estado fenológico de antesis (R4) y completar el ciclo ontogénico en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. Las líneas horizontales indican los errores estándar, la de la izquierda corresponde al estado R4, la de la derecha al total del ciclo. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en la duración del ciclo hasta R4 y letras mayúsculas indican diferencias para la totalidad del ciclo, en ambos casos según Test Scott & Knott.

4.4.2.3. Herbivoría causada por endofitófagos barrenadores (tallos y panojas) y ectofitófagos masticadores (hojas).

En los tallos, se observó que el número de orificios ($F_{(5,6)} = 5.36$, $p_{\text{orificios}} = 0.032$) y el número de galerías ($F_{(5,6)} = 7.22$, $p_{\text{galerías}} = 0.016$) producidos por los insectos barrenadores variaron entre los tratamientos, siendo la fecha de siembra el factor que afectó ambas variables ($F_{(1,6)} = 18.66$, $p = 0.005$ y $F_{(1,6)} = 30.36$, $p = 0.015$ respectivamente). La mayor cantidad de orificios por tallo se registró en la variedad Hyp Artasa de siembra temprana, mientras que los demás tratamientos no difirieron. El cultivar Hyp 280 presentó similar número de orificios por tallo en las dos fechas de siembra sin diferencias con los valores de Hyp Artasa de siembra tardía (Figura 4.7). En la inflorescencia, el número de orificios también difirió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 13.87$, $p = 0.003$), con un efecto significativo del factor fecha de siembra ($F_{(5,6)} = 58.28$, $p = 0.0003$). En los dos cultivares, las plantas de siembras tempranas presentaron el mayor número de orificios (Figura 4.7). El número de galerías por tallo en los dos cultivares fue significativamente menor en plantas de siembra tardía respecto de la siembra temprana (Figura 4.8).

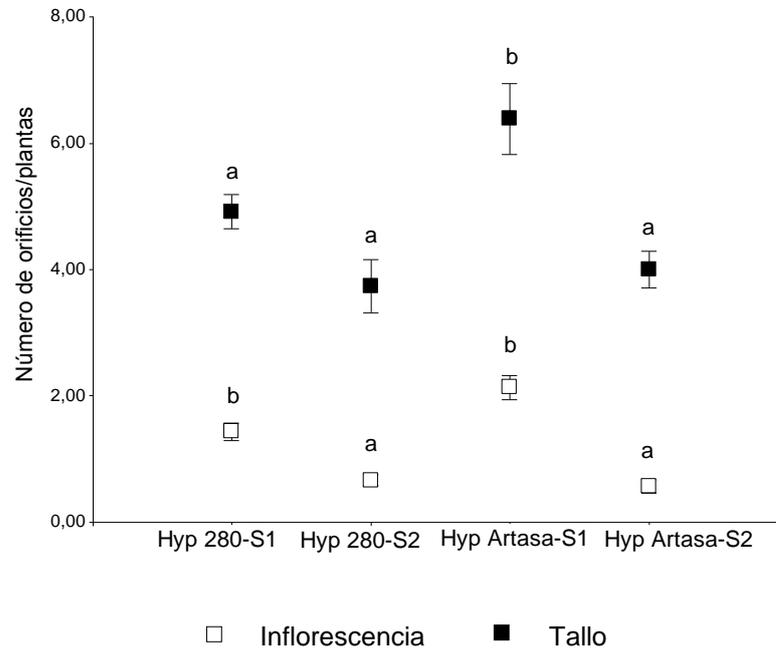


Figura 4.7: Número de orificios (\pm error estándar) presentes en tallos e inflorescencias de dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según prueba Scott & Knott ($p < 0.05$).

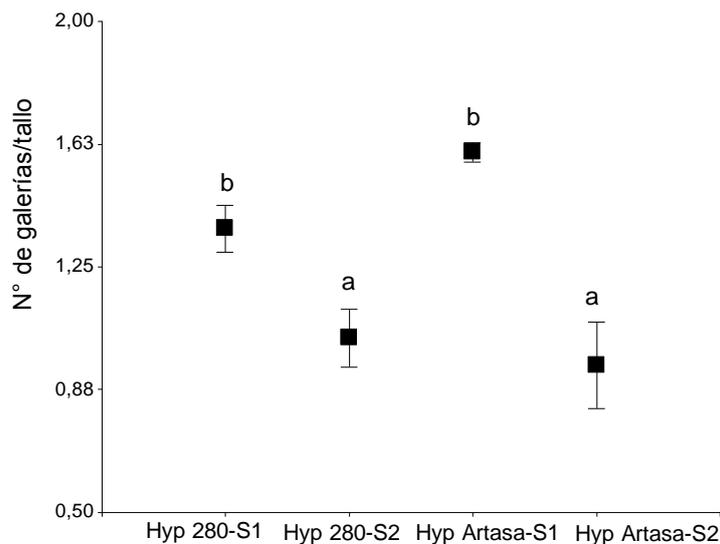


Figura 4.8: Número de galerías en tallos (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p = 0.01$).

La densidad de insectos endofitófagos en planta (tallos y panoja) difirió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 8.6$, $p = 0.01$), y se observó interacción ($F_{(1,6)} = 16.33$, $p_{\text{fecha} \times \text{cultivar}} = 0.006$) entre los factores de estudio, los cuales presentaron efectos significativos sobre la densidad de barrenadores ($F_{(1,6)} = 8.33$, $p_{\text{fecha siembra}} = 0.02$; $F_{(1,6)} = 16.33$, $p_{\text{variedad}} = 0.006$). En el cultivar Hyp Artasa se observó una mayor densidad de larvas por día en siembra temprana que en tardía, sin que se observaran diferencias significativas entre fechas de siembra para Hyp 280 (Figura 4.9). La densidad de insectos barrenadores evaluados por separado, en tallo y panojas, no presentó diferencias significativas entre los tratamientos para ninguna de las partes de la planta evaluadas (Tallo: $F_{(5,6)} = 3.80$, $p = 0.06$; Panoja: $F_{(5,6)} = 3.14$, $p = 0.09$), pero sí se observaron efectos significativos del factor cultivar ($F_{(1,6)} = 8.33$, $p_{\text{cultivar}} = 0.02$) al evaluar la densidad de larvas en tallos y del factor fecha de siembra ($F_{(1,6)} = 12.53$, $p_{\text{fecha}} = 0.01$), al considerar la densidad de larva en panojas.

El análisis de densidad de larvas particionado por familia de barrenadores y por parte de la planta analizada, indicó que la densidad de Curculionidae en tallos no difirió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 2.25$, $p = 0.17$), pero sí se observaron diferencias significativas para la densidad de larvas en la inflorescencia ($F_{(5,6)} = 7.30$, $p = 0.015$),

donde el factor fecha de siembra tuvo efectos significativos ($F_{(1,6)} = 30.20$, $p_{\text{fecha}} = 0.001$). En los dos cultivares, la mayor densidad de larvas de Curculionidae se registró en las panojas de plantas de siembras tempranas. Respecto de la familia Cerambycidae, no se observaron diferencias significativas al evaluar la densidad de larvas en la inflorescencia ($F_{(5,6)} = 1.30$, $p = 0.37$). En este caso, sólo el efecto del factor fecha de siembra fue significativo en la densidad de cerambícidos ($F_{(1,6)} = 5.88$, $p = 0.051$) y no se observó interacción con el factor cultivar. En tanto que al evaluar la densidad de larvas de cerambícidos en tallo no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($F_{(5,6)} = 0.71$, $p = 0.63$) y ninguno de los factores de estudio tuvieron efectos significativos sobre la densidad de larvas en esa parte de la planta ($F_{(1,6)} = 0.27$, $p_{\text{cultivar}} = 0.62$; $F_{(1,6)} = 2.45$, $p_{\text{fecha}} = 0.16$).

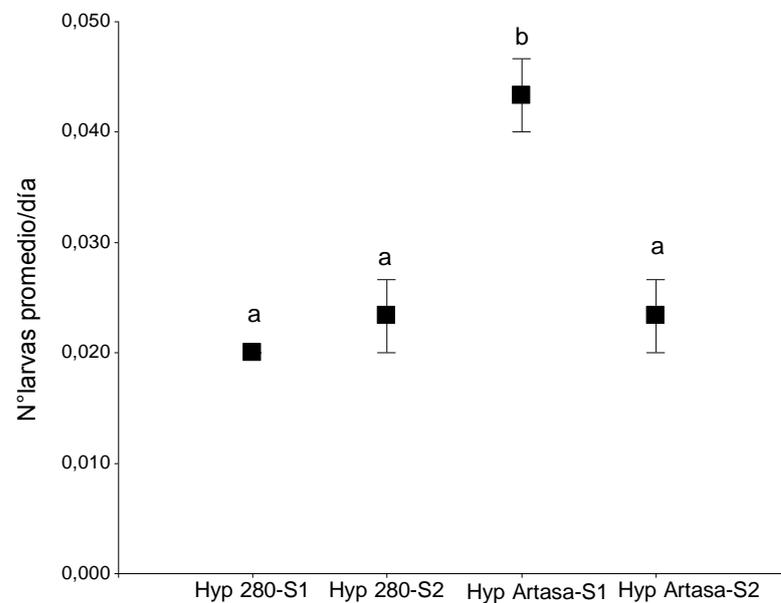


Figura 4. 9: Densidad de larvas barrenadoras promedio (Nº de larvas promedio por día \pm error estándar) observados en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p = 0.01$).

Del total de las plantas analizadas (n total = 240), el 94.16 % presentó daños por barrenado en tallos y 73.75 % en panojas. El porcentaje de panojas afectadas varió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 18.20$, $p_{\text{panoja}} = 0.0014$) a diferencia del porcentaje de tallos afectados ($F_{(5,6)} = 3.23$, $p_{\text{tallo}} = 0.09$). En los dos análisis, sólo el efecto del factor fecha de siembra fue significativo sobre la herbivoría ($F_{(1,6)} = 88.93$, $p_{\text{panoja}} = 0.0001$; $F_{(1,6)} = 13.07$, $p_{\text{tallo}} = 0.01$) y no se registró interacción entre factores. El área dañada registrado en tallos (cm^2 tallo dañado) varió entre los tratamientos ($F_{(5,6)} = 15.11$, $p = 0.002$), y se observó efecto significativo de ambos factores de estudio ($F_{(1,6)} = 9.04$, $p_{\text{cultivar}} = 0.023$ y $F_{(1,6)} = 62.08$, $p_{\text{fecha}} = 0.0002$), sin observarse interacción entre los factores. En los dos cultivares, las plantas de siembras tempranas presentaron mayor nivel de daño respecto de plantas de siembra tardía. Hyp Artasa fue la variedad con mayor superficie de tallo dañado en siembras tempranas respecto de Hyp 280, en tanto que en siembras tardías presentaron valores similares (Figura 4.10). Respecto al daño en la inflorescencia, el porcentaje de daño estimado también presentó diferencias entre tratamientos ($F_{(5,6)} = 13.59$, $p = 0.003$). Y el efecto del factor fecha de siembra fue significativo sobre el nivel de daño ($F_{(1,5)} = 62.93$, $p_{\text{fecha}} = 0.0002$). Para los dos cultivares el mayor porcentaje de daño en panojas se registró en plantas de siembra temprana.

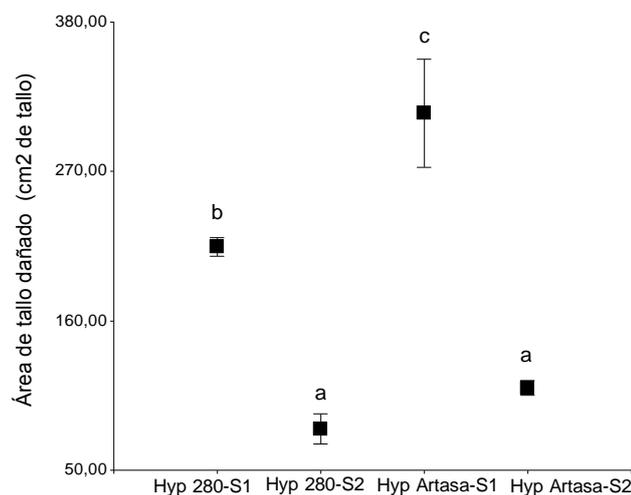


Figura 4. 10: Área dañada promedio en tallos (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p = 0.002$).

El análisis de regresión lineal múltiple indicó una relación lineal significativa entre el porcentaje de tallos afectados y características del tallo ($R^2 = 0.83$, $R^2_{\text{ajustado}} = 0.78$, $N = 12$, $F_{(2,9)} = 17.12$, $p = 0.002$), observándose que sólo el factor longitud tuvo efecto significativo ($F_{(1,9)} = 5.84$, $p_{L,\text{tallo}} = 0.04$; $F_{(1,9)} = 0.20$, $p_{D,\text{tallo}} = 0.66$). Respecto a los restantes estimadores de herbivoría, no se observó relación lineal con características del tallo ni al considerar la densidad de larvas ($R^2 = 0.37$, $R^2_{\text{ajustado}} = 0.21$, $N = 12$, $F_{(2,10)} = 2.34$, $p = 0.15$) ni al evaluar el área dañada en tallos ($R^2 = 0.24$, $R^2_{\text{ajustado}} = 0.05$, $N = 12$, $F_{(2,10)} = 1.24$, $p = 0.33$) (Tabla 4.7). En ambos análisis, las características de los tallos no afectaron significativamente las variables. Respecto al daño en el follaje, se observaron diferencias en el área foliar promedio dañada por endofitófagos masticadores ($F_{(5,6)} = 17.26$, $p = 0.0017$), debidas únicamente al factor cultivar ($F_{(1,6)} = 84.21$, $p_{\text{cultivar}} = 0.0001$; $F_{(1,6)} = 0.05$, $p_{\text{fecha}} = 0.83$), sin que se registrar interacción significativa entre los factores de estudio. Tanto en siembras tempranas como en siembras tardías, la variedad Hyp Artasa presentó los valores más altos de área foliar dañada (Figura 4.11).

Tabla 4.7: Resultados del análisis de regresión múltiple de la herbivoría por endofitófagos y las características del tallo (diámetro y longitud). (df = grado de libertad; β = coeficiente estandarizado; E.E = error estándar).

VARIABLE DEPENDIENTE	VARIABLE PREDICTORA	d.f.	β	E.E.	F	P
Tallos dañados/observados (%)	Longitud del tallo	1.12	-0.47	0.20	-2.42	0.0463
	Diámetro del tallo	1.12	3.38	7.50	0.45	0.6654
Número de larvas/m ²	Longitud del tallo	1.12	1.1E-03	5.2E-04	2.05	0.0749
	Diámetro del tallo	1.12	-0.03	0.02	-1.63	0.1414
Área tallo dañado (cm ²)	Longitud del tallo	1.12	6,18	6,10	1,01	0,3411
	Diámetro del tallo	1.12	-113,29	234,57	-0,48	0,6421

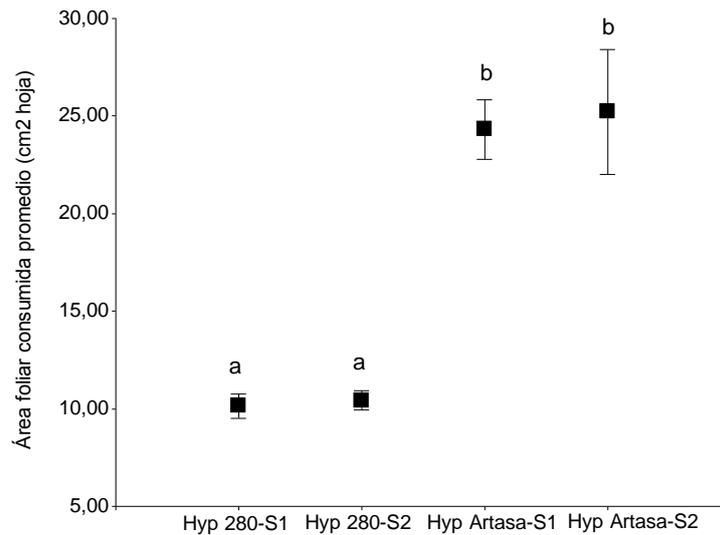


Figura 4. 11: Área foliar consumida por insectos defoliadores (\pm error estándar) en dos cultivares de *Amaranthus hypochondriacus* sembradas en fechas diferentes. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. Letras diferentes indican diferencias significativas según test Scott & Knott ($p = 0.001$).

4.4.2.4. Estimación de la producción.

La producción de semilla estimada en kg/ha no difirió significativamente entre los tratamientos con distintas fechas de siembra ($F_{1,6} = 1.05$; $p = 0.46$) (Tabla 4.6).

Tabla 4. 8: Valores promedios (\pm error estándar) de producción de grano en plantas de *A. hypochondriacus* sembradas en diferentes fechas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($p < 0.05$). S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía.

Producción de grano	Cultivar – Fecha de siembra			
	Hyp 280 - S1	Hyp 280 - S2	Hyp Artasa - S1	Hyp Artasa - S2
Kilogramos por hectárea	670.99 \pm 46.1 a	621.30 \pm 104.5 a	1950.4 \pm 799.3 a	874.95 \pm 297.0 a

4.5. Discusión

4.5.1. Efecto de la densidad de siembra.

La modificación de la densidad de siembra afectó la morfología de las plantas. En los dos cultivares estudiados, el incremento de la densidad produjo disminución del diámetro del tallo y de la longitud de la inflorescencia. La altura de la planta fue mayor en densidades de siembra bajas coincidiendo con resultados en otras especies de *Amaranthus* (Henderson et al. 2000; Law-Ogbomo & Ajayi 2009). La diferencia en el número de plantas logradas, el diámetro del tallo y la altura de la planta entre los tratamientos, sugieren un mayor grado de competencia intraespecífica en el cultivar Hyp Artasa respecto de Hyp 280. Dado que las plantas de amaranto en bajas densidades tienden a expandirse y ocupar el espacio disponible, es posible que la reducción del mismo (en este caso provocado por la densidad de siembra) tenga mayor efecto en plantas grandes (Hyp Artasa) respecto de plantas pequeñas (Hyp 280). En amaranto, la competencia entre plantas comienza muy temprano, aproximadamente a partir de la quinta semana luego de la emergencia (Mnzava & Reuben 1982) y se ha indicado que no sólo influye en la morfología de la planta sino que también puede afectar la producción de grano por la mortalidad de plántulas (Apaza-Gutierrez et al. 2002, Gimplinger et al. 2008). Diferentes investigaciones han intentado determinar la densidad óptima que maximice la producción de grano (Law-Ogbomo & Ajayi 2009; Mulandana et al. 2009; Yarnia et al. 2010), sin embargo las recomendaciones de siembra varían enormemente dependiendo del cultivar y la zona de estudio, por lo que aún no se han generalizado para el cultivo. A su vez, en amaranto, la falta de tecnología para lograr una adecuada distribución de las semillas en la hilera de siembra provoca que los niveles de competencia por recursos (luz, agua y nutrientes) se incrementen aún más en las plantas y por lo tanto las densidades logradas en el campo, en muchos casos, sean inferiores a las procuradas con la siembra.

Como se mencionó anteriormente, la variación de la densidad de siembra influyó en la morfología de las plantas y esto a su vez, incidió en la densidad de los insectos barrenadores. El efecto de caracteres morfológicos de las plantas sobre insectos barrenadores se han reportado en plantas de *Cryptomeria japonica* (Cupressaceae), *Protea* spp. (Proteaceae), especies de la familia Melastomataceae (Shibata et al. 1994;

Wright & Samways 1999; Paulino-Neto et al. 2005) y en *Amaranthus* (Riquelme et al. 2013). Para los dos cultivares de *Amaranthus* aquí evaluados, las plantas en siembras densas (tallos finos) registraron un número menor de larvas barrenadoras respecto de siembras poco densas (tallos gruesos). Si bien la disminución del número de barrenadores por incremento de la densidad sólo fue significativa para *Hyp Artasa*, en los dos cultivares, las siembras densas implicaron una disminución del área dañada en los tallos (Figura 4.4). Las evaluaciones previas del efecto de la densidad en cultivares de *A. hypochondriacus*: Frondosa y Tulyehualco (Torres-Saldaña et al. 2004) sobre insectos barrenadores, fueron distintos a los de este trabajo. En ese estudio, en ninguno de los cultivares evaluados el número de larvas barrenadores o el daño en tallos ocasionado por *Hypolixus truncatulus* (Coleoptera: Curculionidae) y *Amauromyza abnormalis* (Diptera: Agromyzidae) variaron significativamente por incremento de la densidad. Diferencias de selectividad por el cultivar y/o características de la planta entre las especies barrenadores podrían explicar las diferencias encontradas en este trabajo respecto al de Torres-Saldaña et al. (2004). En ese sentido, aquí se observó que variar la densidad de siembra influyó de manera diferente en el número de larvas barrenadoras de Cerambycidae respecto de Curculionidae, observando diferencias significativas sólo para la familia Curculionidae. Varias especies de la familia Cerambycidae son altamente selectivas del diámetro de los tallos para realizar las oviposturas (Coulson 1979; Rice 1995; Caraglio et al. 2001; Paulino Neto et al. 2005), entre ellas se indican a las hembras del cerambícido *A. quadriplagiata* que muestran preferencia para oviponer en plantas con diámetro del tallo a partir de los 5 mm a 7 mm de diámetro (Riquelme et al. (2013). De manera similar, observaciones biológicas sobre esta especie indicaron que en tallos de amaranto con diámetros superiores a 6 mm son más frecuentemente barrenados por *A. quadriplagiata* (Sbravatti 1999). En los ensayos realizados, el diámetro de los tallos superó los valores de preferencia reportados para *A. quadriplagiata*. Sin embargo, no se descarta que la menor abundancia relativa de *A. quadriplagiata* se relacione con su distribución geográfica corrida hacia el noreste bonaerense, donde se la indica como la principal plaga en cultivos de amaranto (Dra. María V. Riquelme, comunicación personal).

La preferencia para oviponer en las hembras de *Conotrachelus*, también podría relacionarse con el diámetro de los tallos. Los resultados muestran que cuando la diferencia en los diámetros de los tallos entre tratamientos fue mayor ($X = 0.79$ cm en

Hyp Artasa) el número de larvas en tallos disminuyó significativamente, en tanto que en plantas con menor diferencia ($X= 0.39$ cm en Hyp 280) no llegaron a detectarse cambios en la densidad de larvas en tallos. Se observó que el factor cultivar fue muy importante en la selectividad de las hembras barrenadoras y estos resultados confirman la diferencia de susceptibilidad entre Hyp 280 e Hyp Artasa señalada en el capítulo previo.

Respecto de los insectos ectofitófagos defoliadores, el incremento de la densidad de siembra no tuvo efectos significativos sobre la tasa de herbivoría en los dos cultivares en estudio y por lo tanto no se respalda la hipótesis de que ante condiciones de competencia intraespecífica las plantas de amarantos sufran mayor herbivoría. Los resultados obtenidos pueden indicar que la asignación de recursos destinados a la defensa contra herbívoros no sea modificada en los amarantos incluso ante condiciones de competencia. Esto puede ocurrir dado que las plantas siempre se han desarrollado en ambientes con alto nivel de competencia, sea por la presencia de malezas o por la alta competencia intraespecífica (Mnzava & Reuben 1982; Gimplinger et al. 2008). Si bien la teoría de la defensa óptima (Blossey & Nötzold 1995) sugiere que existe una asignación de intercambio entre los rasgos para la defensa a la herbivoría y aquellos para el crecimiento y reproducción de las plantas, y que en ambientes donde existe una fuerte selección para mejorar la competitividad, la tolerancia puede verse reducida, algunos autores sugieren que los rasgos que confieren tolerancia también pueden mejorar la competitividad de las plantas o estar relacionados con rasgos responsables del aumento de la capacidad competitiva (Zou et al. 2008; Fornoni 2011). Zou et al. (2008) examinó la correlación entre ambas características y encontró una asociación positiva entre tolerancia y competitividad en plantas de *Sapium sebiferum* L.

El rendimiento de grano no difirió significativamente en los distintos tratamientos de densidad. Esto ha sido reportado previamente en el cultivo de amaranto por Henderson et al. (2000), quienes obtuvieron similares rendimientos de grano en densidades de 7.7, 17.3 y 27.2 plantas por m^2 (distancia entre hileras de 30 y 76 cm) y por Guillen-Portal et al. (1999), cuyo rango de densidad varió de 4 a 200 plantas por m^2 (distancia entre hileras de 37.5 cm). Otros autores indican que los mayores rendimientos de semilla en amaranto se obtuvieron en siembras con bajas densidades en ensayos que variaron de 8, 7, 35 y 70 plantas por m^2 (Gimplinger et al. 2008). Por el contrario, algunos estudios indican que la mayor producción de semilla se obtuvo en densidades

altas de 22 plantas m^2 en comparación a densidades más bajas de 6 plantas por m^2 (distancia entre hileras de 76 cm) (Apaza- Gutierrez et al. 2002) y en siembras de 65 plantas por m^2 respecto de 9 plantas por m^2 (Kübler et al. 2002).

El amplio rango de densidades testeadas en los estudios mencionados dificulta la comparación con los resultados aquí obtenidos. Sin embargo, es posible realizar algunas observaciones al respecto. Debido al carácter competitivo de las plantas de *Amaranthus* (Henderson et al. 2000; Gimplinger et al. 2008), utilizar siembras muy densas pueden mermar el rendimiento de semilla. Cabe señalar sin embargo, que una adecuada distribución de las semillas en de las hileras de siembra y un adecuado distanciamiento entre estas últimas favorecería el rendimiento, incluso a altas densidades de siembra. Esto no siempre es posible en amaranto, ya que el tamaño pequeño de la semilla dificulta la distribución homogénea en las hileras provocando gran mortalidad de plántulas. A su vez, y para disminuir el riesgo de competencia con las malezas, se requieren distancias entre las hileras que permitan tareas de desmalezado, no menores a 50 cm entre hileras. También debe señalarse por otra parte, que utilizar siembras muy poco densas a fin de evitar la competencia intraespecífica, podría disminuir la producción de semillas por la menor cantidad de plantas en el cultivo. Es posible que esta sea la causa de la similitud en los rendimientos de semilla en siembras muy altas y muy bajas, observada en trabajos previos. La óptima densidad de siembra en amaranto es información necesaria para el desarrollo del cultivo a futuro y está íntimamente relacionada con el mejoramiento genético del cultivo. En este estudio, para el rango de densidad y cultivares estudiados, el daño de barrenadores se vio disminuido en siembra a alta densidad, por lo que esta práctica podría ser utilizada para reducir la incidencia de este gremio de fitófagos, especialmente en el cultivar más susceptible (Hyp Artasa). En este cultivar no pudo evidenciarse que los mayores niveles de daño estén relacionados con menor producción de grano, lo que en principio podría sugerir que la herbivoría por barrenadores en estas especies no afecta el traslado de nutrientes durante el llenado de grano. De acuerdo a esto, en Hyp 280, el cultivar menos afectado, podría optarse por la densidad de siembra baja, dado que la utilización de más semillas (siembra densa) implicaría rendimientos similares. No obstante, el daño por barrenadores en amaranto no debería desestimarse dado que debilita los tallos provocando la caída de las plantas con la posterior pérdida de semillas, por lo que se recomienda profundizar los estudios en este sentido.

4.5.2. Efecto de la fecha de siembra.

El retraso de la fecha de siembra afectó la duración del ciclo ontogénico en las plantas de amaranto. En los dos cultivares, las plantas sembradas tardíamente completaron su ciclo en menor tiempo respecto de las plantas de siembras tempranas. Esta respuesta fue favorecida por condiciones climáticas de altas temperaturas y alta luminosidad en la segunda fecha de siembra. Dado que el amaranto posee metabolismo fotosintético C_4 , las plantas alcanzan altas tasas de crecimiento en temperaturas que oscilan entre los 30 a 35 °C (El-Sharkawy et al. 1965; Grubben 1980), y las semillas que germinan en suelos con temperaturas alrededor de los 16 a 21 °C (Weber 1990; Henderson et al. 2000), e incluso valores superiores (21 a 33.8 °C) (Webb et al. 1987; Haas & Schauer 1985; Whitehead et al. 2002) propician el buen establecimiento de las plántulas. El rápido crecimiento también fue favorecido por el fotoperíodo. En general, el amaranto es considerado una “especie de días cortos”, por lo cual acelera la transición del estado vegetativo al reproductivo cuando la longitud de los días comienzan a decrecer (Grubben 1977; Sawhney et al. 1980). La sensibilidad al fotoperíodo es otro carácter variable en *Amaranthus*. Kauffman & Weber (1990) indican que *A. cruentus* es menos sensible a la longitud del día respecto de otras especies, mientras que *A. caudatus*, aunque es sensible, muestra gran adaptabilidad a diversos ambientes y su floración puede ocurrir con 12 horas de luz e incluso con 16 horas (Bermejo 1994). Para *Mantegazzianus* se reportan valores críticos cercanos a 14 horas de luz (Angus et al. 1982) y en cultivares de *A. hypochondriacus* sembrados en 50° latitud Norte, la floración ocurre con 16 horas de luz (Amhed 2005). Para la zona de estudio (36° 37'S 64° 17'O), la floración en los dos cultivares se inició bajo condiciones de 13 a 15 horas de luz. Si bien la condición de días cortos aceleró la iniciación a floración, el cultivar Hyp 280 fue el más sensible al fotoperíodo, iniciando la floración aproximadamente un mes antes que Hyp Artasa, cuya floración tuvo lugar en el mes de Febrero. La inducción temprana en plantas de siembra tardías permitió que éstas alcanzaran la etapa reproductiva en menor tiempo respecto de siembras tempranas y esto fue en detrimento de su desarrollo vegetativo. En consecuencia, las plantas presentaron valores menores en todos los atributos morfológicos medidos (con excepción de la longitud de los tallos), siendo ésto particularmente notorio en Hyp Artasa.

Retrasar la fecha de siembra permitió disminuir el daño por insectos barrenadores en plantas de ambos cultivares. Es posible que esto se haya debido, al menos en parte, a la menor exposición de las plantas en el campo, creando asincronía entre la dinámica poblacional de los insectos y el ciclo del cultivo. Y por otra parte, pudo deberse indirectamente a la modificación de caracteres morfológicos de las plantas, a los cuales el gremio de barrenadores demostró ser susceptible (Tabla 4.2). Se observó que tanto el número de orificios en los tallos, galerías y el área dañada promedio en tallo y panoja fueron menores en plantas de siembras tardías. La modificación de características de los tallos, permitió además reducir la cantidad de oviposturas y la densidad de larvas en plantas de Hyp Artasa (Tabla 4.3), mientras que en Hyp 280 no se observaron diferencias significativas respecto de esta última variable. Las plantas de menor tamaño (siembras tardías) de Hyp 280 soportaron similar densidad de larvas barrenadoras que las plantas de mayor tamaño (siembra temprana), resultado que coincidió con los obtenidos en los ensayos de densidad, y que indica un fuerte efecto del cultivar. La menor herbivoría registrada en las plantas de siembras tardías puede estar relacionada con competencia inter o intraespecífica entre especies de barrenadores dentro del tallo ocasionando que sólo algunos individuos se alimentaran (Stiling & Strong 1984). Aunque también podría indicar que el desarrollo vegetativo diferencial que mostraron las plantas en los tratamientos provocó cambios en la calidad de los tejidos vegetales que redujeron el daño por herbivoría.

Los resultados sugieren que la variación de la fecha de siembra como práctica para reducir el daño por insectos puede ser utilizada en amaranto para disminuir la incidencia de insectos barrenadores, pero no tiene efecto sobre el gremio de defoliadores. Se debe señalar que esta práctica manipula la precocidad de la planta y puede alterar el potencial productivo de las mismas. Esto sucede en primer lugar porque varía la duración de la etapa vegetativa, en la cual es importante el desarrollo de las plantas, en especial el área foliar, que luego en la etapa reproductiva debe ser capaz de sostener una alta actividad fotosintética. En segundo lugar, porque las condiciones lumínicas inducen tempranamente el desarrollo reproductivo, generando un menor tamaño de las inflorescencias y, en consecuencia, menor cantidad de flores y número de granos. Debido a la respuesta que muestran las plantas de amaranto a los cambios fototérmicos, el retraso de la fecha de siembra tendrá que permitir que las etapas fenológicas coincidan con momentos de temperaturas y radiación adecuadas para

permitir óptimos crecimientos y rendimiento final de semillas, y, por lo tanto, no será recomendable la siembra en fechas posteriores. En este sentido, si bien el rendimiento de semilla no presentó diferencias significativas entre los tratamientos de Hyp 280 y de Hyp Artasa, las plantas de este último cultivar sufrieron las mayores modificaciones por cambios de la fecha de siembra.

Capítulo 5

Preferencia de alimentación y desarrollo de lepidópteros seleccionados en cultivares de *Amaranthus*.

5.1. Introducción

En los insectos fitófagos la selección del alimento ocurre a través del relevamiento de distintas características de la planta (Jacquin-Joly & Merlin 2004). Cuando los recursos se encuentran alejados, los insectos utilizan estímulos visuales y olfativos para decidir la aproximación hacia las plantas (Reeves 2011; Beyaert & Hilker 2014). El estímulo visual es caracterizado por la intensidad de la luz y la composición espectral que refleja la planta, lo cual puede diferir entre especie vegetales por atributos morfológicos tales como la presencia de cristales de cera, tricomas o por características químicas como la cantidad de nutrientes. En general la reflectancia espectral de una planta es constante a diferentes distancias y no varía con el movimiento del aire. La concentración de los compuestos volátiles, sin embargo, puede variar, por lo que el insecto sólo toma contacto con paquetes discontinuos de moléculas de olor separados en el espacio y de concentraciones muy bajas respecto a la cercanía de la planta (Beyaert & Hilker 2014). La alta capacidad de los insectos para detectar y discriminar entre estructuras químicas de compuestos volátiles (terpenos, fenilpropanoides, derivados de ácidos grasos, etc) actúa en la selección y conducta alimentaria de los mismos (Laothawornkitkul et al. 2009; Beyaert & Hilker 2014). La importancia relativa de cada uno de estos estímulos varía notablemente entre especies vegetales y entre insectos con diferencias de hábitos y regímenes alimentarios. Se argumenta que en algunos insectos si bien el estímulo visual es importante, sólo luego de recibir estímulos

olfativos es que ocurre la respuesta de selección del insecto (Aluja & Prokopy 1993; Finch & Collier 2001; Rull & Prokopy 2001; Anderson & Anton 2014).

Una vez que el insecto está en contacto con el alimento, la morfología de la planta influye en la alimentación de manera directa, sea por la dureza de los tejidos o por la presencia de estructuras anti-herbívoro (Nabity et al. 2012; Kumar et al. 2013). El contenido de nutrientes influye de forma indirecta (Salim & Saxena 1991; Umbarihowar & Hastings 2002; Shahout et al. 2011) sobre el crecimiento, desarrollo y reproducción del insecto (Saeed et al. 2009; Shobana et al. 2010; Shahout et al. 2011; Tao et al. 2014). En general, los requerimientos nutricionales incluyen proteínas, carbohidratos, esteroides, lípidos y vitaminas (Schiff et al. 1988; Stockhoff 1993; Awmack & Leather 2002; O'Brien et al. 2002). En orugas de lepidópteros, se ha indicado que es importante la relación proteínas/carbohidratos digeribles, para alcanzar altas tasas de crecimiento y alta fecundidad (Behmer 2009; Roeder & Behmer 2014). A su vez, el contenido de agua en el follaje se relaciona con altas tasas de crecimiento en los estadios juveniles de este orden (Scriber & Feeny 1979; Mattson & Scriber 1987; Shobana et al. 2010), mientras que el nitrógeno es un elemento limitante para la formación de los tejidos (Scott-Brown et al. 2002). No obstante, en niveles elevados, este último puede tener efectos negativos para el crecimiento (Zehnder & Hunter 2009; Tao et al. 2014) al generar costos energéticos adicionales para eliminar el exceso del cuerpo (Boersman & Elser 2006). En otros casos, niveles altos de nitrógeno pueden relacionarse con la presencia de sustancias nitrogenadas tales como alcaloides, taninos o cardenólidos foliares (Forkner et al. 2004; Ruuhola et al. 2013; Tao et al. 2014) que interfieren en la digestión y absorción de nutrientes (Lindroth & Peterson 1988).

Numerosos estudios reportan que diversos compuestos dentro del grupo de los metabolitos secundarios en las plantas son detectados por los insectos a través del contacto con el alimento (Schoonhoven & Van Loon 2002; Miles et al. 2005), disminuyendo el consumo cuando éstas se encuentran presentes (Glendinning et al. 2001; Van Loon et al. 2008; Zhou et al. 2010), por tener efectos anti-alimentarios o como inhibidores del crecimiento (Boeckler et al. 2011; Senthil-Nathan 2013; Jessing et al. 2014).

Spodoptera frugiperda (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las especies defoliadoras citadas en el cultivo de amaranto y cuyas larvas se han observado en este trabajo alimentándose en el follaje. Si bien hasta el momento no hay menciones que

indiquen que el daño producido por este insecto provoque mermas importantes en la producción de amaranto, es una especie plaga de varios cultivos agrícolas entre ellos maíz, sorgo, arroz, etc (Sparks 1979; Pogue 2002). La dependencia de insecticidas sintéticos para controlar *S. frugiperda* en los cultivos donde es frecuente, ha llevado a la generación de individuos resistentes a los productos de uso común como carbamatos, piretroides y compuestos organofosforados (Yu 1992; Diez-Rodriguez & Omoto 2001; Yu et al 2003; Carvalho et al. 2014). Por esta razón, se han explorado estrategias alternativas para disminuir la incidencia de este insecto, tales como el uso de nematodos entomopatógenos (Caccia et al. 2014) y cultivos transgénicos (Hernández-Rodríguez et al. 2013; Pinto et al. 2013).

En el género *Amaranthus*, la amplia variabilidad genética se manifiesta en variaciones de compuestos químicos tanto a nivel inter e intraespecífico (Venskutonis & Kraujalis 2013) y a su vez, entre partes (Steffensen et al. 2011; Kraujalis et al. 2013) y etapas de desarrollo de la planta (Steffensen et al. 2011). En este capítulo se evalúa en laboratorio la preferencia de *S. frugiperda* en los cinco cultivares de amaranto y también el aprovechamiento que las formas inmaduras de esta especie hacen de los tejidos vegetales de diferentes cultivares. De esto modo, se intenta reunir evidencia adicional a las obtenidas en el Capítulo 3, en cuanto a la herbivoría que sufren los cultivares a campo por el gremio de folívoros.

5.2. Objetivos específicos

Evaluar la preferencia de alimentación y la tasa de aprovechamiento de tejidos vegetales en larvas seleccionadas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) alimentadas con hojas de cinco cultivares de *Amaranthus*.

5.3. Materiales y métodos

5.3.1. Cría de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en biotero.

La cría se inició con un número aproximado de 20 larvas provenientes de cultivos de maíz las cuales se criaron en cámara de cría, bajo condiciones controladas de fotoperiodo 16:8 hs, temperatura aproximada de 25 °C y humedad relativa del 70%. Las

larvas se alimentaron sobre una dieta artificial a base de harina de poroto, germen de trigo y levadura (Apéndice Apartado 2), hasta que se obtuvo el estado pupal. Las pupas obtenidas se colocaron en una jaula de cría, donde luego de un período aproximado de 15 a 20 días posteriores emergieron los nuevos adultos los cuales fueron alimentados con una solución azucarada a base miel y agua. En cada jaula (2 en total), se colocaron cintas de papel donde la hembras colocaron los huevos. Luego de la oviposición, las cintas se retiraron cuidadosamente una vez presentes los huevos y se colocaron, junto con la dieta artificial, en tubos de ensayos. Para evitar el canibalismo, los huevos fueron colocados individualmente en distintos tubos de ensayos. Esta metodología se repitió hasta obtener la tercera generación de *S. frugiperda*, la cual se utilizó en los ensayos de laboratorio. Las larvas seleccionadas para los ensayos tuvieron un peso y longitud aproximado de $2.25 \text{ cm} \pm 0.22$ y de $0.15 \pm 0.02 \text{ g}$.

5.3.2. Cultivo de plantas en invernáculo

Durante el primer año de ensayo un número de 5 macetas se sembraron con semillas del cultivar Cruentus y otras 5 macetas con semillas de Mantegazzianus. Las plantas se colocaron dentro de jaulas con malla mosquitera para evitar la presencia de insectos fitófagos y las plantas se regaron periódicamente sin aplicar ningún tipo de insecticida. En el segundo año (2012) se repitió la misma metodología con los cinco cultivares de estudio: Cruentus, Hyp SA, Hyp 280, Hyp Artasa y Mantegazzianus. El estado de desarrollo en el cual se utilizaron las plantas fue en el primer año plantas de 40 días y en el segundo plantas con 30 días de desarrollo.

5.3.3. Ensayos en laboratorio

5.3.3.1. Pruebas de elección

Las pruebas de preferencia fueron de dos tipos: de libre elección y sin elección, realizados en cápsulas de Petri, con una larva por cápsula. En el año 2011, en las pruebas de libre elección, un círculo de lámina foliar (2.5 cm de radio) del cultivar Cruentus y otra de Mantegazzianus fueron ofrecidos a las larvas simultáneamente, durante 6 horas (la duración de la experiencia se determinó luego de observaciones

preliminares), con 10 réplicas en cada caso. La variable a medir fue porcentaje de área foliar consumida por unidad de tiempo, mediante una estimación visual. Para las pruebas de preferencia sin elección se colocó un único círculo de hoja de los cultivares mencionados junto a una larva en una cápsula de Petri durante 3 horas, midiéndose la misma variable que en el caso anterior. En el año 2012, se repitió la prueba de preferencia de libre elección con hojas de los cinco cultivares de *Amaranthus* donde se realizaron combinaciones de a pares, entre los cinco cultivares (10 combinaciones). En este caso se utilizaron 5 réplicas para cada caso (n total = 50), cada réplica consistió en una larva y un disco de hoja. La utilización de una larva por réplica se debió a la limitante de larvas y plantas que en igual estado de desarrollo (larvas de 2.25 cm y de 0.15 g y plantas de 30 días de desarrollo)

5.3.3.2. Evaluación del aprovechamiento del alimento

Se realizaron dos pruebas de rendimiento, el primer año con 2 tratamientos y el segundo año con 5 tratamientos, en ambos casos se utilizaron 10 réplicas. Para las pruebas se utilizaron contenedores cilíndricos plásticos con tapa de voile de aproximadamente 15 cm de diámetro y 20 de alto, en las cuales se colocaron 20 hojas del cultivar, con 10 orugas el primer año ($n = 200$ larvas) y 5 hojas del cultivar y 1 larva en el segundo año ($n = 50$ larvas). Las experiencias se siguieron durante 5 días (T). Al término de la experiencia se obtuvieron los siguientes índices (todos basados en peso seco): Índice de consumo (IC) como E/TA donde E es peso seco del alimento ingerido y TA es peso seco promedio de las larvas durante el tiempo que dura la experiencia; tasa relativa de crecimiento (TRC) como P/TA , donde P es aumento de peso seco de las larvas, digestibilidad (D) como $100(E-F)/E$, donde F es el peso seco de las heces producidas, eficiencia de conversión del alimento ingerido (ECAI) como $100 P/E$, eficiencia de conversión del alimento digerido (ECAD) como $100 P/ (E-F)$ (Nathan 2006). Los insectos y el material vegetal se secaron en estufa (48 hs a 60°C) y posteriormente se pesaron en balanza analítica de precisión (± 0.001 g).

5.3.4. Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos en la experiencias de elección fueron analizados mediante Test T para muestras apareadas (experiencias de libre elección) o Test T no apareado (experiencias sin elección). Los datos de índices de aprovechamiento se analizaron mediante ANOVA y test Scott & Knott como test a posteriori.

5.4. Resultados

5.4.1. Pruebas de elección

En las pruebas de preferencia sin elección *S. frugiperda* no manifestó preferencia por ninguno de los cultivares ofrecido ($T = -1.73$, $p = 0.27$) y tampoco se observaron preferencias en las pruebas de libre elección en ninguno de los pares testeado con los cinco cultivares (Tabla 5.1).

5.4.2. Evaluación del aprovechamiento del alimento

En pruebas realizadas con larvas alimentadas en hojas de los cultivares de *Amaranthus* se observó una mayor porcentaje de digestibilidad (DA) en Cruentus respecto de Mantegazzianus ($p = 0.0003$). Las larvas de *S. frugiperda* mostraron un índice de consumo (IC) que no difirió entre los cultivares ($p = 0.82$), mientras que el Índice de eficiencia de conversión del alimento ingerido (ECI) y el Índice de conversión del alimento digerido (ECD) fueron superiores en el cultivar Mantegazzianus ($p_{\text{ECI}} = 0.0003$; $p_{\text{ECD}} = 0.0003$). La tasa relativa de crecimiento (TRC) fue mayor en Mantegazzianus en relación a la obtenida sobre Cruentus ($p = 0.02$) (Tabla 5.2).

La pruebas de rendimiento indicaron mayor Tasa relativa de Crecimiento (TRC) en los insectos alimentados con hojas del cultivar Cruentus y Hyp Artasa ($p = 0.0035$), en tanto que la Digestibilidad del alimento (DA) fue significativamente menor en Hyp SA respecto de los demás cultivares que no se diferenciaron estadísticamente ($p = 0.006$) (Tabla 5.2). El análisis del Índice de Consumo (IC), la eficiencia de conversión del alimento ingerido (ECI) y la eficiencia de conversión del alimento digerido (ECD) no indicaron diferencias entre los tratamientos ($p > 0.05$).

Tabla 5. 1: Preferencia de alimentación de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en cinco cultivares de *Amaranthus*. T = valor del estadístico y P = probabilidad asociada a la Prueba T para muestras apareadas.

PARES ANALIZADOS	T	P
Hyp 280 – Cruentus	-1.82	0.143
Hyp 280 – Hyp SA	-1.00	0.373
Hyp Artasa – Cruentus	0.00	>0.99
Hyp Artasa - Cruentus	1.00	0.37
Hyp Artasa – Hyp SA	-1.30	0.26
Hyp Artasa – Hyp 280	-0.50	0.95
Mantegazzianus – Hyp Artasa	-1.0	0.37
Mantegazzianus – Hyp 280	-1.42	0.22
Mantegazzianus – Hyp SA	-1.00	0.37
Mantegazzianus - Cruentus	0.10	0.91

Tabla 5. 2: Índices nutricionales promedios (\pm error estándar) en larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) alimentadas con hojas de cinco cultivares de amaranto. Letras diferentes junto a las medias en las mismas columnas representan diferencias significativas según prueba Scott & Knott ($P < 0.05$). IC = Índice de consumo, TRC = Tasa relativa de crecimiento, D = Digestibilidad, ECI = Eficiencia de conversión del alimento ingerido, ECD = eficiencia de conversión del alimento digerido.

Ensayo	Variedad	IC	TRC	DA (%)	ECI (%)	ECD (%)
1	Cruentus	47.5 \pm 10.9 a	0.13 \pm 0.01 a	97.5 \pm 0.6 b	0.38 \pm 0.06 a	0.29 \pm 0.06 a
	Mantegaz.	45.7 \pm 21.6 a	0.21 \pm 0.1 b	96.3 \pm 0.6 a	0.46 \pm 0.1 b	0.48 \pm 0.12 b
2	Cruentus	59.8 \pm 8.95 a	0.26 \pm 0.02 b	91.8 \pm 0.7 b	1.33 \pm 0.7 a	1.48 \pm 0.7 a
	Hyp SA	42.28 \pm 4.87 a	0.24 \pm 0.01 a	85.51 \pm 1.4 a	1.03 \pm 0.09 a	1.23 \pm 0.1 a
	Hyp 280	59.32 \pm 6.55 a	0.22 \pm 0.01 a	89.20 \pm 0.6 b	0.73 \pm 0.06 a	0.82 \pm 0.07 a
	Hyp Artasa	49.05 \pm 6.38 a	0.28 \pm 0.01 b	88,67 \pm 0,8 b	0.91 \pm 0.08 a	1.03 \pm 0.10 a
	Mantegaz.	78.46 \pm 12.86 a	0.20 \pm 0.02 a	89.70 \pm 0.9 b	0.62 \pm 0.08 a	0.69 \pm 0.09 a

5.5. Discusión

En estado larval, *S. frugiperda* no mostró preferencia por ninguno de los cultivares de *Amaranthus* en los tests con elección. La baja selectividad del alimento por parte de los insectos indicaría que el estado larval utilizado no reconoció características diferenciales visuales, ni olfativas o de palatabilidad entre las hojas de los cultivares. Se ha informado que en algunas especies de noctuidos las larvas son capaces de discriminar características visuales del alimento ofrecidos (Briscoe & Chittka 2001). Sin embargo, en *S. frugiperda*, no se han observado diferencias en el consumo entre cultivares de coloración rojiza (Hyp 280 e Hyp Artasa) respecto de los de hojas verdes (Mantegazzinus, Cruentus e Hyp SA) coincidiendo este resultado con ensayos de preferencia en dietas con colorantes artificiales (Villegas-Mendoza & Rosas-Garcias 2013). Por otra parte, de acuerdo con los resultados discutidos en el Capítulo 3, la coloración rojiza en las hojas de Hyp 280 e Hyp Artasa implicaría diferencias en cuanto al contenido de betalaínas respecto de los restantes cultivares, y estas sustancias podrían influir en el consumo de las larvas, como sucede con otros compuestos orgánicos (Schoonhoven & Van Loon 2002; Amrein & Thorne 2005; Zhou et al. 2010). Sin embargo, en los ensayos no se observaron diferencias significativas en el consumo de los cultivares.

Posiblemente en este caso y como sucede con varios lepidópteros, la elección del alimento no sea realizada por los estadios juveniles, sino que esta sea determinada por las hembras adultas en la ovipostura a través de características físicas (coloración, textura de la epidermis foliar, etc.) y químicas del alimento (nutrientes, compuestos secundarios) (Potter et al. 2012; Zhang et al. 2013; Pérez-Contreras et al. 2014). En consecuencia, las larvas recién nacidas se encuentran sujetas a la elección de sus madres. Sin embargo, cabe destacar que la literatura sugiere que los estados juveniles en Lepidoptera no siempre aceptan alimentarse en las plantas huésped en las que se encuentran y son capaces de evaluar la comida de manera similar a las hembras adultas señalándose en algunos casos relación negativa entre el grado de aceptación de la larva y del adulto para la ovipostura (Soler et al. 2012; Gamberale-Stille et al. 2014). Si bien hasta el momento poco se conoce sobre la capacidad de los estadios larvales para evaluar plantas huésped (Nylin & Janz 1996; Soler et al. 2012; Gamberale-Stille et al. 2014), se plantea la posibilidad de que en especies generalistas, los estadios juveniles

participen en la elección de la planta huésped como forma de ajuste y/o actualización del micro-hábitat seleccionado por sus madres (Gamberale-Stille et al. 2014).

La falta de preferencia de *S. frugiperda* por los cultivares se correspondió con los resultados del índice de consumo (IC) que no difirieron entre tratamiento. Estos resultados en laboratorio presentan discrepancias respecto de la herbivoría observada en el campo por el grupo de los defoliadores (Capítulo 3). Sin embargo, puede suceder que *S. frugiperda*, especie que constituyó un grupo pequeño dentro del gremio (2% del gremio defoliador) no refleje el comportamiento de las especies mayoritarias en el campo: *Epicauta adspersa*, *Achyra similalis* y *Naupactus verecundus*.

Las diferencias observadas en la TRC, DA y ECI sugieren variaciones en la calidad nutricional de los cultivares. En el primer ensayo las TRC más altas se obtuvieron en larvas alimentadas con hojas de Mantegazzianus, en tanto que en el segundo ensayo se obtuvieron con hojas del cultivar Cruentus y Hyp Artasa. Esta diferencia podría obedecer a cambios en la calidad de las plantas entre los años de ensayo.

La ECI y la ECD no indicaron diferencias significativas entre los cultivares de amaranto en el segundo ensayo, por lo que la calidad nutricional sería similar en los cinco cultivares estudiados. No obstante, en larvas alimentadas durante el primer ensayo los valores más altos de ECI se obtuvieron con Mantegazzianus respecto de Cruentus. La densidad de defoliadores y la herbivoría observadas en el campo (Capítulo 3) indicó que la especie Mantegazzianus es uno de los cultivares menos afectados por este gremio en condiciones naturales, sin embargo esto no se observó en los ensayos de preferencia en el laboratorio para *S. frugiperda*. La mayor TCR y ECI en larvas alimentadas con Mantegazzianus respecto de Cruentus, indican que ante igual cantidad de alimento los insectos folívoros obtuvieron mayor energía y nutrientes en Mantegazzianus respecto de Cruentus. Esto podría relacionarse con la mayor herbivoría registrada en el campo en Cruentus respecto de Mantegazzianus, donde los incrementos de consumo en el primero obedecerían a obtener un mayor nivel de aprovechamiento. En este sentido, se reporta que el contenido de proteína en las especies de *Amaranthus mantegazzianus* son superiores a las de *Amaranthus cruentus* (Sauer 1967).

Capítulo 6

Discusión general y conclusiones

6.1. Discusión de los principales resultados.

A través del desarrollo de esta tesis se logró ampliar el conocimiento de las potenciales plagas de insectos asociadas al cultivo de *Amaranthus* en Argentina (Capítulo 2), y a su vez, se avanzó en la comprensión de la interacción insecto fitófago-*Amaranthus* spp. en relación a estrategias defensivas en las plantas, evaluando el modo en que ciertos caracteres de las plantas, propios de los cultivares o generados a través de prácticas agrícolas, influyeron sobre la riqueza, abundancia y herbivoría de sus insectos asociados (Capítulo 3, 4 y 5).

Los resultados obtenidos permitieron describir detalladamente las especies fitófagas en los *Amaranthus* para grano, indicándose el daño producido en cada caso. También se señaló la ocurrencia de los gremios de fitófagos a lo largo del ciclo fenológico del cultivo y se comparó la estructura de las comunidades de insectos herbívoros observadas en los ensayos de esta tesis con la reportada en otras partes del mundo. Aunque preliminarmente, y con limitantes debidas a la escasa información disponible, los análisis sugieren que plantas de amaranto cultivados en lugares donde fueron introducidos (países no americanos) presentan menor número de especies fitófagas respecto los insectos reportados en América.

De acuerdo a los muestreos realizados en los amarantos cultivados, tres gremios de insectos fitófagos fueron importantes: defoliadores, succionadores y barrenadores, en tanto que otros grupos menores citados para amaranto (insectos pegadores, enruladores y minadores) no se observaron en los cultivares evaluados. Respecto de los gremios prevalentes en el cultivo, el gremio de defoliadores fue el grupo de mayor densidad y con mayor riqueza de especies, en tanto que el grupo de los barrenadores fue un gremio poco denso pero que se destacó por estar presente en casi la totalidad de las plantas evaluadas. Este gremio se distinguió además porque, incluso con menores densidades de individuos respecto de los demás, dispuso a las plantas afectadas a posibles quiebres y caída con la

eventual pérdidas de rendimiento. La ocurrencia de los gremios fitófagos varió a lo largo del ciclo fenológico del cultivo y se observó que las densidades máximas de los insectos barrenadores y succionadores coincidieron en fechas puntuales al final del estado vegetativo e inicio de formación de panojas.

En esta tesis se observó una gran variabilidad y diversidad genética inter e intraespecífica en los cultivares de *Amaranthus* que se manifestó en la morfología, coloración de los tejidos vegetales, fenología y composición química, caracteres que influyeron en los grupos funcionales de insectos asociados al amaranto en diferentes grados. La morfología floral y la duración del ciclo fenológico fueron los atributos de mayor importancia para los insectos succionadores, lo cual se relacionó con la disponibilidad del alimento (flores y frutos) para este grupo y con la accesibilidad al mismo. En especial, las brácteas largas y la presencia de arístula en las flores femeninas generarían una protección física en contra de los insectos succionadores. Por lo tanto, la ausencia de protección en las flores parece ser un factor determinante en la vulnerabilidad de los cultivares a este gremio de insectos. Sin embargo, se ha indicado que la selección artificial en los amarantos cultivados se ha realizado en contra de esta característica defensiva en las plantas con el fin de facilitar la cosecha del grano (Sauer 1967; Schwanitz 1966). Por otra parte, la fenología y las características del tallo (en especial el diámetro) fueron los caracteres con mayor incidencia en el gremio de los barrenadores debido a la selectividad que las hembras adultas presentaron por las plantas huésped en la oviposición. Este comportamiento de los barrenadores permitió que dos prácticas de manejo evaluadas en esta tesis, como son la manipulación de la densidad de siembra y de la fecha de siembra (ambas modificadores de la estructura de la planta), sean efectivas para minimizar el impacto de este gremio en las plantas de *A. hypochondriacus*. Este conocimiento es útil en cuanto plantea una alternativa de manejo para este gremio de insectos, al cual el amaranto es particularmente vulnerable y para el cual, el control de tipo químico ve reducida su efectividad, tanto por el hábito nocturno de las especies, como por el menor alcance que tienen los insecticidas luego de que el insecto ha ingresado en la planta.

El gremio de los defoliadores, a diferencia de los succionadores y barrenadores, no pareció ser afectado por los atributos morfológicos e incluso, ante variaciones muy marcadas de la morfología (por ejemplo Hyp 280 vs. Mantegazzianus), la densidad y riqueza de insectos fueron similares. De manera análoga, las diferencias de coloración de los tejidos vegetales no se relacionaron con la abundancia y herbivoría en los ensayos de

campo. A su vez, la duración del ciclo fenológico de los cultivares no tuvo efectos sobre la densidad y la riqueza de defoliadores y se observó que la cantidad de biomasa en las plantas no implicó mayores niveles de herbivoría.

Contrariamente a lo observado para los caracteres morfológicos, se observó relación entre la herbivoría de defoliadores y la composición de metabolitos secundarios en hojas. Los resultados aquí obtenidos indicaron que la concentración de 6 de los 15 compuestos analizados en las hojas de plantas expuestas a diferentes insectos en el campo fueron buenos predictores de la herbivoría en *Amaranthus*, sin poder afirmar en esta instancia que las sustancias son producidas en respuesta a la herbivoría como una forma de defensa inducida o si las altas cantidades en las hojas tienen un efecto fagosestimulante en los insectos. Los resultados de este trabajo son un primer aporte al estudio de la relación de respuestas de resistencia química generadas en las plantas de *Amaranthus* ante la herbivoría por insectos en condiciones naturales. Los resultados obtenidos son interesantes en cuanto a que los compuestos que utilizarían las plantas de *Amaranthus* como mecanismo de defensas ante herbívoros no afectaría la calidad del alimento, y por el contrario, poseen propiedades nutritivas y antioxidantes (Cai et al. 2003; Robaszkiewicz et al. 2007; Russell & Duthie 2011; Esatbeyoglu et al. 2014). Por lo tanto, el potencial defensivo que estos compuestos podrían tener en el control de los insectos en amaranto debería ser considerado en los procesos de selección artificial para evitar reducir características defensivas inherentes a la planta a cambio de incrementos en la producción. En este trabajo, se observó que dos cultivares con nivel altos de producción (Cruentus y Hyp Artasa) presentaron menor concentración de metabolitos secundarios (en especial ácidos fenólicos). A su vez, ambos cultivares tuvieron los niveles más altos de herbivoría en hojas lo que parecería indicar que la domesticación en estos cultivares ha disminuido sus defensas químicas, algo similar a lo que sucede con la morfología de las flores, como se mencionó previamente.

A fin de reunir información adicional respecto a la herbivoría de los cultivares en el campo por el gremio defoliador, se realizaron ensayos de laboratorio donde se evaluó la preferencia y la tasa de aprovechamiento de los tejidos vegetales en larvas de *Spodoptera frugiperda* (Capítulo 5). Para la primera evaluación, los resultados de laboratorio no indicaron preferencias de *S. frugiperda* para ninguno de los cultivares y el índice de consumo fue similar en todos los casos. Sin embargo, se observaron diferencias en las tasas de aprovechamiento de las hojas, que resultó mayor cuando las larvas se alimentaron en

Mantegazzianus en comparación con Cruentus, lo cual podría relacionarse con las diferencias en la herbivoría observadas en el campo para estos cultivares.

Los resultados de herbivoría obtenidos en el campo indicaron que las plantas soportaron porcentajes de daño en hojas promedio del 25.59% y del 27.42% en tallos (valores promedios de daño estimado entre todos los cultivares - Apéndices Tablas 1 y 2), los cuales son porcentajes relativamente bajos en plantas que crecieron en condiciones de campo con alta exposición al daño de herbívoros. Los resultados referidos a la producción de grano en los cultivares en relación a la densidad de insectos defoliadores y barrenadores y a la herbivoría registradas en tallos y hojas en las plantas, constituyen un aporte preliminar en relación a los umbrales de daño en amaranto, que actualmente no están desarrollados para el cultivo.

Finalmente, los resultados de esta tesis indican que el manejo del cultivo por parte del hombre, tanto por la selección artificial, en favor o en contra de atributos defensivos (físicos o químicos), y/o por la utilización de prácticas culturales (variación de fecha o densidad de siembra) pueden incrementar o reducir la vulnerabilidad de las plantas a insectos fitófagos asociados.

6.2. Futuros estudios.

La gran variabilidad del género *Amaranthus* en la composición de metabolitos secundarios plantea interrogantes en cuanto al efecto de estos compuestos sobre los insectos fitófagos que merecen ser profundizados. En este sentido, estudios referidos a la herbivoría y composición de metabolitos secundarios podrían conducirse entre especies silvestres de *Amaranthus* (*A. hybridus*, *A. spinosus*) y especies domesticadas lo cual permitiría obtener información contrastante respecto de estas dos variables. Asimismo, sería interesante evaluar la variación de estos compuestos a través de los diferentes momentos fenológicos en la planta y ampliar su estudio a otros órganos vegetales no evaluadas en este trabajo pero que pudieran tener influencia en otros gremios de insectos, por ejemplo los insectos barrenadores. En este sentido, las consideraciones realizadas en este trabajo sobre la evaluación de pigmentos del grupo de las betalaínas sólo pueden tenerse en cuenta para los insectos defoliadores, pero no se conoce lo ocurre con los insectos que afectan tallos, panojas e incluso raíces, y donde la acumulación de estas sustancias podría ser diferencial. En especial en aquellos cultivares con mayor nivel de

pigmentación tales como *Amaranthus cruentus* var. Candil y *Amaranthus hypochondriacus* cv. Nutrisol donde estas sustancias podrían ejercer una función defensiva.

Otro interrogante que surge de esta tesis es la relación entre las características de los cultivares de *Amaranthus* y el efecto de especies en los niveles tróficos superiores (parasitoides y predadores) sobre los insectos fitófagos. Hasta el momento, algunos estudios han demostrado evidencias al respecto en plantas de *Populus nigra* L., *Solidago altissima*, *Brassica oleracea*, donde se mencionan efectos directos de compuestos químicos en las plantas sobre los enemigos naturales (Harvey et al. 2007; Clavijo McCormick et al. 2014; Rani & Pratyusha 2014) y de manera indirecta a través de alteraciones de la planta huésped (calidad, tamaño, tasa de crecimiento, etc.) (Hunter 2003; Johnson 2008; Gols et al. 2008; Kos et al. 2011). El estudio de las interacciones entre los tres niveles, planta-herbívoro y enemigos naturales, permitiría determinar con mayor exactitud el efecto que tienen los distintos atributos de las plantas sobre los insectos fitófagos, en especial en aquellos cultivares que presentaron mayor abundancia de recursos para los insectos y que presentaron menor nivel de daño. A su vez, permitiría saber de qué manera se podría incrementar el atractivo de las plantas (por selección de las características adecuadas) para los agentes de control biológico. Esto es relevante en cuanto se podrían seleccionar atributos de las plantas que disminuyan la incidencia de los insectos fitófagos y que a su vez fomenten el desempeño de controladores biológicos presentes en los ecosistemas naturales circundantes.

Como tercera línea de trabajo, sería necesaria la estimación de umbrales de daño en amaranto, en estudios futuros. En este sentido, sería relevante evaluar la incidencia que tienen los insectos succionadores en la producción de grano, dado que se reportan disminuciones en el peso de semilla por algunas especies de este gremio (Olson & Wilson 1990); y además porque al presentarse en etapas avanzadas del desarrollo del cultivo (floración y llenado de grano) las plantas podrían no compensar el daño de estos insectos.

Bibliografía

- Agrawal A.A. & Fishbein M. (2006) Plant defense syndromes. *Ecology* 87: 132–149.
- Agrawal A.A. (2004) Resistance and susceptibility of milkweed: competition, root herbivory, and plant genetic variation. *Ecology* 85: 2118–2133.
- Agrawal A.A. (2011) Current trends in the evolutionary ecology of plant defence. *Functional Ecology* 25: 420–432.
- Agrawal A.A., Petschenka G., Bingham R.A., Weber M.G. & Rasmann S. (2012) Toxic cardenolides: chemical ecology and coevolution of specialized plant–herbivore interactions. *New Phytologist* 194: 28–45.
- Akaneme F.I. & Ani G.O. (2013) Morphological assessment of genetic variability among accessions of *Amaranthus hybridus*. *World Applied Sciences Journal*, 28: 568–577.
- Akin-Idowu P.E., Odunola O.A., Gbadegesin M.A., Oke A. & Orkpeh U. (2013). Assessment of the protein quality of twenty nine grain amaranth (*Amaranthus* spp. L.) accessions using amino acid analysis and one-dimensional electrophoresis. *African Journal of Biotechnology*, 12: 1802–1810.
- Alex J.F. & Heal K.P. (1994) Preliminary investigations towards the biological control of annual weeds of row crops in Ontario. In: Final report for the Agricultural Research Institute of Ontario. University of Guelph, ON, 114 pp.
- Allyson S. (1984) Description of last-instar larvae of 22 species of North American Spilomelini (Lepidoptera: Pyralidae: Pyraustinae) with a key to species. *Canadian Entomologist* 116: 1301–1334.
- Alonso C. & Herrera C.M. (1996) Variation in herbivory within and among plants of *Daphne laureola* (Thymelaeaceae): correlation with plant size and architecture. *Journal of Ecology* 84: 495–502.
- Aluja M. & Prokopy R. (1993) Host odor and visual stimulus interactions during intratree host finding behavior of *Rhagoletis pomonella* flies. *Journal of Chemical Ecology* 19: 2671–2696.
- Alvarado L.J., Hogg D.B. & Wedberg J.L. (1989) Effects of corn and selected weed species on feeding behaviour of the stalk borer, *Papaipema nebris* (Lepidoptera: Noctuidae). *Great Lakes Entomologist* 22: 65–70.
- Alyokhin A., Dively G., Patterson M., Castaldo C., Rogers D., Mahoney M. & Wollam J. (2007). Resistance and cross-resistance to imidacloprid and thiamethoxam in the

- Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest Management Science* 63: 32-41.
- Alyokhin A., Mota-Sanchez D., Baker M., Snyder W. E., Menasha S., Whalon M., Dively G. & Moarsi W.F. (2014) The Red Queen in a potato field: integrated pest management versus chemical dependency in Colorado potato beetle control. *Pest Management Science* DOI: 10.1002/ps.3826.
- Amarasingha R.P.R.K., Galagedara L.W., Marambe B., Silva G.L.L.P., Punyawardena R., Nidumolu U. et al. (2014). Aligning sowing dates with the onset of rains to improve rice yields and water productivity: modelling rice (*Oryza sativa* L.) yield of the Maha season in the dry zone of Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research* 25: 277-286.
- Amatobi C.I., Apeji S.A. & Oyidi O. (1988) Effects of farming practices on populations of two grasshopper pests (*Kraussaria angulifra* Krauss and *Oedaleus senegalensis* Krauss (Orthoptera: Acrididae) in Northern Nigeria. *Tropical Pest Management* 34:173-179.
- Amhed A.H.K.A. (2005) Determination of the critical day length of *Amaranthus* (*Amaranthus* sp.). *Agricultura Tropica et Subtropica* 38:3-4.
- Amrein H. & Thorne N. (2005) Gustatory Perception and Behavior in “*Drosophila melanogaster*”. *Current Biology* 15: 673-684.
- Anderson P. & Anton S. (2014) Experience-based modulation of behavioral responses to plant volatiles and other sensory cues in insect herbivores. *Plant, Cell & Environment* 37: 1826-1835.
- Angus J.F., Mackenzie D.H., Myers R.J.K. & Foale M.A. (1982) Phasic development in field crops III. The pseudocereals, buckwheat and grain amaranth. *Field Crops Research* 5: 305-318.
- Anno-Nyako F.O., Adebajo A. & Agunloye O. (1991) Brown rot and die-back disease induced by a curculionid (*Lixus camerunus* Klobe) in amaranth (*Amaranthus hybridus* L.) in Nigeria. *Ghana Journal of Agricultural Science* 24-27: 87-91.
- Apaza-Gutierrez V., Romero-Saravia A., Guillen-Portal F.R. & Baltensperger D.D. (2002) Response of grain amaranth production to density and fertilization in Tarija, Bolivia. In: Janick, J., Whipkey, A. (Eds.), *Trends in New Crops and New Uses*. ASHS Press, Alexandria, VA, pp. 107–109.
- Aragón-García A., Huato M.A.D., Huerta-Lara M., Sáenz de Cabezón F.J., Pérez-Moreno I., Marco-Mancebón V. & López-Olguín J.F. (2011). Insect occurrence and losses

- due phytophagous species in the amaranth *Amaranthus hypochondriacus* L. crop in Puebla, Mexico. *African Journal of Agricultural Research* 6: 5924-5929.
- Awmack C.S. & Leather S.R. (2002). Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 817-844.
- Bai Y. & Lindhout P. (2007). Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? *Annals of Botany* 100: 1085-1094.
- Bajwa W.L. & Kogan M. (2004) Cultural practices: Springboard to IPM. Integrated pest management: Potential constraints and challenges. CABI- Publishing, Wallingford. UK.
- Baloch G.M., Khan A.G. & Zafar T. (1981) Natural enemies of *Abutilon*, *Amaranthus*, *Rumex* and *Sorghum* in Pakistan. Commonwealth Institute of Biological Control. Report September 1975–September 1980, Pakistan Station, Rawalpindi, Pakistan, 88 pp.
- Balsbaugh E.U. Jr, Frye R.D., Scholl C.G. & Anderson A.W. (1981) Insects for weed control: status in North Dakota. *North Dakota Farm Research* 39: 3–7.
- Baltensperger D.D., Weber L.E. & Nelson L.A. (1992) Registration of ‘Plainsman’ grain amaranth. *Crop Science* 32:1510–1511.
- Banjo A.D. (2007) Bio-ecology and life history of *Gasteroclisus rhomboidalis* (Coleoptera: Curculionidae) a pest of *Amaranthus cruentus* (L.) Sauer. *Journal of Entomology* 4: 308-316.
- Barba de la Rosa A.P., Fomsgaard I.S., Laursen B., Mortensen A.G., Olvera-Martínez L., Silva-Sánchez C., Mendoza-Herrera A., González-Castañeda J., De León-Rodríguez A. (2009). Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science* 49:117–21.
- Barton K.E. & Koricheva J. (2010) The ontogeny of plant defense and herbivory: characterizing general patterns using meta-analysis. *American Naturalist* 175: 481-493.
- Basset Y. (2001) Communities of insect herbivores foraging on saplings versus mature trees of *Pourouma bicolor* (Cecropiaceae) in Panama. *Oecologia* 129: 253–260.
- Bayón N.D. & Peláez, C. (2012) A New Species of *Amaranthus* (Amaranthaceae) from Salta, Argentina. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature* 22: 133-136.

- Bayón N.D. (2007) *Amaranthus hunzikeri* (Amaranthaceae), a new species from northwestern Argentina. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature* 17: 294-297.
- Becker R., Wheeler E.L., Lorenz K., Stafford A.E., Gilosjean O.K., Betschart A.A. & Saunders R.M. (1981) A compositional study of Amaranth grain. *Journal of Food Science* 46: 1175-1180.
- Beevi S.P. & Abraham C.C. (1986) New record of *Hypurus* sp. (Coleoptera: Curculionidae) as a pest of *Amaranthus tricolor* Linn. *Agricultural Research Journal of Kerala* 24: 219-220.
- Behmer S.T. (2009) Insect herbivore nutrient regulation. *Annual Review of Entomology* 54: 165–187.
- Bendixen L.E., Kim K.U., Kozak C.M. & Horn D.J. (1981) An annotated bibliography of weeds as reservoirs for organisms affecting crops. Ila. Arthropods. Research Bulletin 1125, Ohio Agricultural Research and Development Centre, Wooster, OH, 117 pp.
- Berardi A.E., Frey F.M., Denton E.M. & Wells J.H. (2013). Betalain color morphs exhibit differential growth, defensive ability, and pollen tube growth rates in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *International Journal of Plant Sciences* 174: 1229-1238.
- Berenbaum M.R. & Zangerl A.R. (2008) Facing the future of plant-insect interaction research: le retour a la “Raison d’Etre”. *Plant Physiology* 146: 804–811.
- Bermejo H. & León J. (eds.) (1994). *Neglected Crops: 1492 from a Different Perspective*. 1994. Plant Production and Protection Series No. 26. FAO, Rome, Italy. P. 93-101.
- Bernays E.A. & Chapman R.F. (1987) The evolution of deterrent responses in plant-feeding insects, pp. 150-174. En R. F. Chapman, E. A. Bernays, and J. G. Stoffolano (eds.). *Perspectives in Chemoreception and Behavior*. Springer-Verlag, New York.
- Bernays E.A. & Chapman R.F. (2000) Plant secondary compounds and grasshoppers beyond plant defences. *Journal of Chemical Ecology* 26: 1773-1794.
- Bernays E.A., Howard J.J., Champagne D. & Estes B.J. (1991) Rutin: a phagostimulant for the polyphagous acridid *Schistocerca americana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 60: 19–28.
- Beyaert I. & Hilker M. (2014). Plant odour plumes as mediators of plant–insect interactions. *Biological Reviews*, 89(1), 68-81.
- Bi J.L., Murphy J.B. & Felton G.W. (1997) Antinutritive and oxidative components as mechanisms of induced resistance in cotton to *Helicoverpa zea*. *Journal of Chemical Ecology* 23: 97-117.

- Blaney W.M. & Simmonds M.S.J. (1983) Electrophysiological activity in insects in response to antifeedants. COPR report project 9; Overseas Development Organisation. UK, London, pp. 219.
- Blossey B. & Notzold R. (1995). Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. *Journal of Ecology*, 887-889.
- Boeckler G.A., Gershenson J. & Unsicker S.B. (2011). Phenolic glycosides of the Salicaceae and their role as anti-herbivore defenses. *Phytochemistry* 72: 1497-1509.
- Boeckler G.A., Gershenson J. & Unsicker S.B. (2013) Gypsy moth caterpillar feeding has only a marginal impact on phenolic compounds in old-growth black poplar. *Journal of Chemical Ecology* 39: 1301-1312.
- Boersma M. & Elser J. J. (2006). Too much of a good thing: on stoichiometrically balanced diets and maximal growth. *Ecology* 87: 1325-1330.
- Borstlap S. & Entz M.H. (1994) Zero-tillage influence on canola, field pea and wheat in a dry subhumid region: agronomic and physiological responses. *Canadian Journal of Plant Science*. 74: 411-420.
- Bosq J.M. (1943). Segunda lista de coleópteros de la República Argentina dañinos a la agricultura. Ministerio de Agricultura de la Nación. Dirección de Sanidad Vegetal. 4: 1-80.
- Branson T.F. & Krysan J.L. (1981) Feeding and oviposition behavior and life cycle strategies of *Diabrotica*: an evolutionary view with implications for pest management. *Environmental Entomology* 10: 826-831.
- Brenner D. (1992) The Plainsman story. *Legacy* 1 (5): 12-13.
- Brenner D., Baltensperger D., Kulakow P., Lehmann J., Myers R., Slabbert M. & Sleugh B. (2000) Genetic resources and breeding of *Amaranthus*. *Plant Breeding Review* 19: 227-285.
- Briscoe A.D. & Chittka L. (2001) The evolution of color vision in insects. *Annual Review of Entomology* 46: 471-510.
- Brockington S.F., Walker R.H., Glover B.J., Soltis P.S. & Soltis D.E. (2011) Complex pigment evolution in the Caryophyllales. *New Phytologist* 190: 854-864.
- Burghardt F., Knüttel H., Becker M. & Fiedler K. (2000) Flavonoid wing pigments increase attractiveness of female common blue (*Polyommatus icarus*) butterflies to mate-searching males. *Naturwissenschaften* 87: 304–307.

- Burghardt F., Proksch P. & Fiedler K. (2001) *Polyommatus icarus*: quantitative intraspecific variation in relation to larval hostplant, sex and body size. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 875–889.
- Bürki C.B. & Nentwig W. (1997) Comparison of herbivore insect communities of *Heracleum sphondylium* and *H. mantegazzianum* in Switzerland (Spermatophyta: Apicaceae). *Entomologia Generalis* 22: 147-155.
- Bürki H.M., Lawrie J., Greaves M.P., Down V.M., Jüttersonke B., Cagán L., Vráblová M., Ghorbani R., Hassan E.A. & Shroeder D. (2001). Biocontrol of *Amaranthus* spp. in Europe: state of the art. *Biocontrol* 46: 197-210.
- Bürki H.M., Schroeder D., Lawrie J., Cagán L., Vráblová M., El-Aydam M., Szentkiralyi F., Ghorbani R., Jüttersonke B. & Ammon H.U. (1997) Biological control of pigweeds (*Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S. Watson and *A. bouchonii* Thell.) with phytophagous insects, fungal pathogens and crop management. *Integrated Pest Management Reviews* 2: 51–59.
- Caccia M.G., Del Valle E., Doucet M.E. & Lax P. (2014) Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa gelatopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomopathogenic nematode *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research* 74: 1.
- Cagán L., Tóth P. & Tóthová M. (2006) Population Dynamics of *Chaetocnema tibialis* Illiger and *Phyllotreta vittula* (Redtenbacher) on the Weed *Amaranthus retroflexus* L. and Cultivated *Amaranthus caudatus* L. *Plant Protection Science* 42: 73-80.
- Cai Y., Sun M. & Corke H. (2003) Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2288-2294.
- Cai Y.Z., Sun M. & Corke H. (2001) Identification and distribution of simple and acylated betacyanins in the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:1971–1978.
- Cai Y.Z., Sun M. & Corke H. (2005) Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae: Pigments in Food. *Trends in Food Science & Technology* 16: 370-376.
- Capinera J.L. (2001) *Handbook of Vegetable Pest*. Academic Press, New York, 728 pp.
- Capinera J.L. (1978) Consumption of sugarbeet foliage by the Palestriped Flea Beetle. *Journal of Economic Entomology* 71: 301-303.

- Caraglio Y., Nicolini E. & Petronelli P. (2001) Observations on the links between the architecture of a tree (*Dicorynia guianensis* Amshoff) and Cerambycidae activity in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology* 17: 459-463.
- Carlsen S.C.K. & Fomsgaard I.S. (2008) Biologically active secondary metabolites in white clover (*Trifolium repens* L.) a review with focus on concentration in the plant, plant-pest interactions and transformation. *Chemoecology* 18:129–170.
- Carmona D., Lajeunesse M.J. & Johnson M.T.J. (2011) Plant traits that predict resistance to herbivores. *Functional Ecology* 25: 358–367.
- Carr D. E. & Eubanks M. D. (2014). Interactions between Insect Herbivores and Plant Mating Systems. *Annual Review of Entomology* 59, 185-203.
- Carrasco E. (1987) Insectos en la «kiwicha» cultivada en Cusco y Apurímac. *Revista Peruana de Entomología* 30: 38-41.
- Carvalho R.A., Omoto C., Field L.M., Williamson M.S. & Bass C. (2013). Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. *PloS one* 8: e62268.
- Castrillón-Arbeláez P. A., Martínez-Gallardo N., Arnaut H. A., Tiessen A. & Délano-Frier J.P. (2012) Metabolic and enzymatic changes associated with carbon mobilization, utilization and replenishment triggered in grain amaranth (*Amaranthus cruentus*) in response to partial defoliation by mechanical injury or insect herbivory. *BMC Plant Biology* 12: 163.
- Choo H.Y., Woo K.S., Shea P.J. & Park Y.D. (1992) Phytophagous fauna of Dicotyledoneae (Tracheophyta: Angiospermae) weeds. *Korean Journal of Applied Entomology* 31: 496-508.
- Clark T.L. & Messina F.J. (1998) Plant architecture and the foraging success of ladybird beetles attacking the Russian wheat aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86: 153-161.
- Clarke-Harris D., Fleischer S.J., Fuller C. & Bolton J. (2004) Evaluation of the efficacy of new chemistries for controlling major lepidoptera pests on vegetable amaranth in Jamaica. *Caribbean Agricultural Research and Development Review* 4: 12-19.
- Clavijo McCormic A., Irmisch S., Reinecke A., Boeckler G.A., Veit D., Reichelt M., Hansson B.S., Gershenzon J., Köllner T.G. & Unsicker S.B. (2014) Herbivore-induced volatile emission in black poplar: regulation and role in attracting herbivore enemies. *Plant, Cell & Environment* 37: 1909-1923.

- Clement J.S. & Mabry T.J. (1996) Pigment evolution in the Caryophyllales: a systematic overview. *Botanica Acta* 109: 360–367.
- Close D.C. & McArthur C. (2002) Rethinking the role of many plant phenolics—protection from photodamage not herbivores? *Oikos* 99: 166–172.
- Close D.C., Davies N.W. & Beadle C.L. (2001) Temporal variation of tannins (galloglucoses), flavonols and anthocyanins in leaves of *Eucalyptus nitens* seedlings: implications for light attenuation and antioxidant activities. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 269–278.
- Colautti R.I., Ricciardi A., Grigorovich I.A. & MacIsaac H.J. (2004) Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters* 7: 721–733.
- Coley P.D. (1980) Effects of leaf age and plant life history patterns on herbivory. *Nature* 284: 545–546.
- Coley P.D., Bryant J.P. & Chapin F.S. (1985) Resource availability and plant antiherbivore defence. *Science* 230: 895–899.
- 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: 375–400.
- Coons M.P. (1982) Relationships of *Amaranthus caudatus*. *Economic Botany* 36: 129–146.
- Cornelissen T. & Stiling P. (2011) Similar responses of insect herbivores to leaf fluctuating asymmetry. *Arthropod-Plant Interactions* 5: 59–69.
- Costea M., Sanders A. & Waines G. (2001) Preliminary results toward a revision of the *Amaranthus hybridus* species complex (Amaranthaceae). SIDA, Contribution to Botany 931–974
- Coulson R.N. (1979) Population dynamics of bark beetles. *Annual Review of Entomology* 24: 417–447.
- Covas G. (1987) Fitomejoramiento de los amarantos. I Jornadas Nacionales sobre Amarantos. UNLPam. Fac. de Agron. La Pampa, Argentina, July 26–27, pp 50–62.
- Cromartie Jr. W.J. (1975) The effect of stand size and vegetational background on the colonization of cruciferous plants by herbivorous insects. *Journal of Applied Ecology* 12: 517–533.
- Cyr H. & Pace M.L. (1993) Magnitude and patterns of herbivory in aquatic and terrestrial ecosystems. *Nature* 361: 148–150.

- Da Silva E.C, Ferreira D.F, Bearzoti E. 1999. Evaluation of power and type I error rates of Scott- Knotts test by the method of Monte Carlo. *Ciência e Agrotecnologia* 23: 687-696.
- Das S. (2012) Domestication, phylogeny and taxonomic delimitation in underutilized grain *Amaranthus* (Amaranthaceae)—a status review. *Feddes Repertorium* 123: 273-282.
- De Haro A.M. & Martínez C.L. (1995) Especies animales asociadas al cultivo de *Amaranthus sp.* En: Actas del III Congreso Argentino de Entomología, Mendoza, Argentina, p. 165.
- De Oliveira C.M. de, Ribeiro-Junior W.Q., de Camargo A.J.A. & Frizzas M.R. (2012). First record of damage by an insect pest in a commercial amaranth crop in Brazil. *Scientia Agricola* 69: 271-274.
- De Troiani R.M., Sánchez T.M., Reinaudi N.B. & De Ferramola L.A. (2004) Optimal sowing dates of three species of grain-bearing amaranth in the semi-arid Argentine Pampa. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2: 385-391.
- Delano-Frier J., Martínez-Gallardo N., Martinez de la Vega O., Salas-Araiza M., Barbosa-Jaramillo E., Torres A., Vargas P. & Borodanenko A. (2004) The effect of exogenous jasmonic acid on induced resistance and productivity in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) is influenced by environmental conditions. *Journal for Chemical Ecology* 30: 1001-1034.
- Delano-Frier J.P., Aviles-Arnaut H. & Casarrubias-Castillo K. et al. (2011) Transcriptomic analysis of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) using 454 pyrosequencing: comparison with *A. tuberculatus*, expression profiling in stems and in response to biotic and abiotic stress. *BMC Genomics* 12, 363.
- Dent D. (2000). *Insect pest management*. Cabi. 410 p.
- Després L., David J. P. & Gallet C. (2007). The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology & Evolution*, 22: 298-307.
- Di Iorio O.R., Cordo H.A., Logarzo G.A. & Gandolfo D.E. (1998) Cerambycidae (Coleoptera) root and stem borers in living plants from Argentina: a bibliographical review and new host plant records. *Giornale italiano di Entomologia* 9: 73-95.
- Diez-Rodrigues G.I. & Omoto C. (2001) Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) *Neotropical Entomology* 30: 311–316.

- Dosdall L.M. & Stevenson F.C. (2005) Managing flea beetles (*Phyllotreta* spp.) (Coleoptera: Chrysomelidae) in canola with seeding date, plant density and seed treatment. *Agronomy Journal* 97: 1570–1578.
- Dosdall L.M., Dolinski M.G., Cowle N.T. & Conway P.M. (1999) The effect of tillage regime, row spacing, and seeding rate on feeding damage by flea beetles, *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae), in canola in central Alberta, Canada. *Crop Protection* 18: 217-224.
- Dosdall L.M., Herbut M.J., Cowle N.T. & Micklich T.M. (1995) The effect of seeding date and plant density on infestations of root maggots, *Delia* spp. (Diptera: Anthomyiidae), in canola. *Canadian Journal of Plant Science* 76: 169-177.
- Downton W.J.S. (1973) *Amaranthus edulis*: A high lysine grain amaranth. *World Crops* 25: 20.
- Drzewiecki J. (2001) Similarities and differences between *Amaranthus* species and cultivars and estimation of outcrossing rate on the basis of electrophoretic separations of urea-soluble seed proteins. *Euphytica* 119: 279–287
- Dubbert M., Tschardtke T. & Vidal S. (1998) Stem-boring insects of fragmented *Calamagrostis* habitats: herbivore–parasitoid community structure and the unpredictability of grass shoot abundance. *Ecological Entomology* 23: 271–280.
- Echezona B.C. (2007) Corn-stalk lodging and borer damage as influenced by varying corn densities and planting geometry with soybean (*Glycine max.* L. Merrill). *International Agrophysics* 21: 133-143.
- Ehrlich P. & Raven P. (1964) Butterflies and plants: a study in plant coevolution. *Evolution* 18: 586–608.
- El-Aydam M. & Bürki H.M. (1997) Biological control of noxious pigweeds in Europe: a literature review of the insect species associated with *Amaranthus* spp. worldwide. *Biocontrol* 18: 11-20.
- Elger A., Lemoine D.G., Fenner M. & Hanley M.E. (2009) Plant ontogeny and chemical defence: older seedlings are better defended. *Oikos* 118: 767–773.
- El-Sharkawy M.A. & Hesketh J.D. (1965) Photosynthesis among species in relation to characteristics of leaf anatomy and CO₂ diffusion resistances. *Crop Science* 5: 517-21.

- Esatbeyoglu T., Wagner A.E., Schini-Kerth V.B. & Rimbach G. (2014) Betanin-A food colorant with biological activity. *Molecular Nutrition & Food Research*. DOI: 10.1002/mnfr.201400484.
- Espírito-Santo M.M., Fernandes G.W., Allain L. R. & Reis T.R.F. (1999) Tannins in *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae): effects of seasonality, water availability and plant sex. *Acta Botanica Brasílica* 13: 167–74.
- Espitia R.E. (1991) Revancha: variedad mejorada de amaranto para los valles altos de México. *En: Primer Congreso Internacional del Amaranto*. Oaxtepec, Morelos. p. 64.
- Farvin K.H.S., Anandan R., Kumar S.H.S., Shiny K.S., Sankar T.V. & Thankappan T.K. (2004). Effect of squalene on tissue defence system in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Pharmacology Research* 50: 231-236.
- Feeny P. (1969) Inhibitory effect of oak leaf tannins on the hydrolysis of proteins by trypsin. *Phytochemistry* 8: 2119–2126.
- Feeny P. (1976) Plant apparency and chemical defense. *Biochemical interaction between plants and insects* (eds J.W.Wallace& R. L.Mansell), pp. 1–40, Plenum, New York.
- Feeny, P. (1970) Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology*, 51, 565-581.
- Finch S. & Collier R.H. (2001) Host-plant selection by insects a theory based on “appropriate/inappropriate landings” by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96: 91-102.
- Finch S. & Collier R.H. (2012) The influence of host and non-host companion plants on the behaviour of pest insects in field crops. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 142: 87-96.
- Finch S., Billiald H. & Collier R.H. (2003) Companion planting do aromatic plants disrupt host-plant finding by the cabbage root fly and the onion fly more effectively than non-aromatic plants? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 109: 183-195.
- Fisher J.R. & O’Keeffe L.E. (1979) Host potential of some cultivated legumes for the pea leaf weevil, *Sitona lineatus* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae). *Pan-Pacific Entomologist* 55: 99–201.
- Forkner R., Marquis R. & Lill J. (2004) Feeny revisited: condensed tannins as anti-herbivore defences in leaf-chewing herbivore communities of *Quercus*. *Ecological Entomology* 29: 174–187.

- Fornoni J. (2011). Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Functional Ecology* 25: 399-407.
- Forsyth (1966) *Agricultural Insects of Ghana*. Shaman University Press. Accra, pp: 163.
- Franceschi V., Nakata P. (2005) Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annual Review of Plant Biology* 56: 41–71.
- Fürstenberg-Hägg J., Zagrobelny M. & Bak, S. (2013). Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 10242-10297.
- Furuta K. (1986) Host preference and population dynamics in an autumnal population of the maple aphid, *Periphyllus californiensis* Shinji (Homoptera, Aphididae). *Journal of Applied Entomology* 102: 93–100.
- Gamberale-Stille G., Söderlind L., Janz N. & Nylin S. (2014), Host plant choice in the comma butterfly–larval choosiness may ameliorate effects of indiscriminate oviposition. *Insect Science* 21:499–506.
- Gélinas B. & Seguin P. (2007) Oxalate in grain amaranth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 4789-4794.
- George D.R., Collier R.H., & Whitehouse D.M. (2013) Can imitation companion planting interfere with host selection by Brassica pest insects?. *Agricultural and Forest Entomology* 15: 106-109.
- Gibson L.P. (1964) Biology and life history of acorn-infesting weevils of the genus *Conotrachelus* (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America* 57: 521–526.
- Gilbert L.E. (1971) Butterfly-plant coevolution: Has *Passiflora adenopoda* won the selectional race with heliconiine butterflies?. *Science* 172: 585-586.
- Gimplinger D.M., Schulte auf'm Erley G., Dobos G. & Kaul H.P. (2008) Optimum crop densities for potential yield and harvestable yield of grain amaranth are conflicting. *European Journal of Agronomy* 28: 119–125.
- Glendinning J.I., Domdom S. & Long E. (2001) Selective adaptation to noxious foods by an insect. *Journal of Experimental Biology* 204: 3355–3367.
- Gols R., Wagenaar R., Bukovinszky T., van Dam N.M., Dicke M., et al. (2008) Genetic variation in defence chemistry in wild cabbages affects herbivores and their endoparasitoids. *Ecology* 89: 1616–1626.

- González R., Tosi E, Re E., Añón M.C., Pilosof A.M.R. & Martinez K. (2007) Amaranth starch-rich fraction properties modified by high-temperature heating. *Food Chemistry* 103:927–34.
- Goodger J.Q., Heskes A. M. & Woodrow I. E. (2013). Contrasting ontogenetic trajectories for phenolic and terpenoid defences in *Eucalyptus froggattii*. *Annals of Botany* 112: 651-659.
- Gopar A. & Ves Losada J.C. (2004) Publicaciones Técnicas n° 57: Estudios sobre la fluctuación poblacional de gorgojos (Coleoptera: Curculionidae) adultos que afectan a la alfalfa (*Medicago sativa*, L.). La Pampa, INTA, 20 p.
- Gorb E., Voigt D., Eigenbrode S. D. & Gorb S. (2008) Attachment force of the beetle *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera, Coccinellidae) on leaflet surfaces of mutants of the pea *Pisum sativum* (Fabaceae) with regular and reduced wax coverage. *Arthropod-Plant Interactions* 2: 247–259.
- Green P., Stevenson P., Simmonds M. & Sharma H. (2003) Phenolic compounds on the pod-surface of pigeonpea, *Cajanus cajan*, mediate the feeding behaviour of larvae of *Helicoverpa armigera*. *Journal of Chemical Ecology* 29: 811–821
- Green P.W.C., Veitch N.C., Stevenson P. C. & Simmonds M.S.J. (2011) Cardenolides from *Gomphocarpus sinaicus* and *Pergularia tomentosa* (Apocynaceae: Asclepiadoideae) deter the feeding of *Spodoptera littoralis*. *Arthropod-Plant Interactions* 5: 219–225.
- Grime J.P. (2001) *Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties*, 2nd edn. Wiley, Chichester.
- Grubben G. J. H. (1980). Cultivation methods and growth analysis of vegetable amaranth, with special reference to South-Benin. In *Proceedings of the Second Amaranth Conference*. (pp. 63-67). Rodale Press.
- Grubben G.J.H. (1976) The cultivation of amaranth as a tropical leaf vegetable with special reference to South Dahomey. Communication Department of Agricultural Research, Royal Tropical Institute, Amsterdam, Bulletin 67.
- Grubben G.J.H. (1977). Leaf vegetables In: Tindall, H. D., & Williams, J. T (eds.). *Tropical vegetables and their genetic resources*. Intl. Board for Plant Genetics, Rome.
- Guerrero M.A., Lamborot L., Araya J.E. (2000) Observaciones biológicas de *Achyra similalis* (Guenée) (Pyralidae) y otros lepidópteros en amaranto, *Amaranthus*

- cruentus* L. (Amaranthaceae), en la Región Metropolitana de Chile. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 26: 591-598.
- Guillen-Portal F.R., Baltensperger D.D. & Nelson L.A. (1999) Plant population influence on yield and agronomic traits in 'Plainsman' grain amaranth. In: Janick, J. (Ed.), Perspectives on New Crops and New Uses. ASHS Press, Alexandria, VA, pp. 190–193.
- Gulmon S.L. & Mooney H.A. (1986) Costs of defense on plant productivity. In: Givnish TJ (ed) On the economy of plant form and function. Cambridge University Press, Cambridge, pp 681–698.
- Gültekin L. & Korotyaev B.A. (2012) New data on *Cosmobaris discolor* (Boheman) and *Hypolixus pica* (F.) (Coleoptera: Curculionidae) associated with *Amaranthus* (L.) (Amaranthaceae). The Coleopterists Bulletin 66: 226-232.
- Güneş F.E. (2013) Medical use of squalene as a natural antioxidant. Journal of Marmara University Institute of Health Sciences 3.
- Gupta R.L. & Rawat R.R. (1954) Life-history of *Hypolixus truncatulus* (Boh.) (*Lixus branchyrhinus* Boh.) The Rajgira Weevil. Indian Journal of Entomology 16: 142-144.
- Haas P.W. & Schauer A. (1985) Summary of 1984 amaranth time of planting research trial. RRC/NC-85/11. Rodale Press, Emmaus, Pa.
- Hamilton W.D. & Brown S.P. (2001) Autumn tree colours as a handicap signal. Proceedings of the Royal Society of London, Serie B 268:1489–1493.
- Hanley M.E. & Fegan E.L. (2007) Timing of cotyledon damage affects growth and flowering in mature plants. Plant, Cell and Environment 30: 812–819
- Hanley M.E., Lamont B.B., Fairbanks M.M. & Rafferty C.M. (2007) Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 8: 157-178.
- Harborne J.B. & Grayer R.J. (1994) Flavonoids and insects. En: Harborne JB (ed) The flavonoids, advances in research since 1986. Chapman and Hall, London, pp 589-618.
- Harborne J.B. (2000) Arsenal for survival: secondary plant products. Taxon 49: 435-449.
- Harlan J.R. (1992). Origins and processes of domestication. Evolution and Domestication Chapman G.P. (ed.), Grass. Cambridge University Press, New York, pp: 159-175.

- Harvey J.A., van Dam N.M., Witjes L.M.A, Soler R., Gols R. (2007) Effects of dietary nicotine on the development of an insect herbivore, its parasitoid and secondary hyperparasitoids over four trophic levels. *Ecological Entomology* 32: 15–23.
- Hassanali A., Herren H., Khan Z.R., Pickett J.A. & Woodcock C.M. (2008) Integrated pest management: the push–pull approach for controlling insect pests and weeds of cereals, and its potential for other agricultural systems including animal husbandry. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363: 611–621.
- Hayat Q., Hayat S., Irfan M. & Ahmad A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and experimental botany* 68: 14-25.
- Hayson K.A. & Coulson J.C. (1998) The Lepidoptera fauna associated with *Calluna vulgaris*: effects of plant architecture on abundance and diversity. *Ecological Entomology* 23: 377–385.
- Hayward K. (1944) Primera lista de insectos tucumanos perjudiciales. EEA Tucumán, Publ. Miscel. 1° supl.: 12-13.
- Hayward K.J. (1960) Insectos tucumanos perjudiciales. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 42: 3-145.
- He H.P. & Corke H. (2003) Oil and Squalene in *Amaranthus* grain and leaf. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7913-7920.
- He H.P., Cai Y., Sun M. & Corke H. (2002) Extraction and purification of squalene from *Amaranthus* grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 368-372.
- Heidel A.J. & Baldwin I.T. (2004) Microarray analysis of salicylic acid and jasmonic acid signalling in responses of *Nicotiana attenuata* to attack by insects from multiple feeding guilds. *Plant, Cell & Environment* 27: 1362–1373.
- Heil M. & Karban R. (2010) Explaining evolution of plant communication by airborne signals. *Trends in Ecology & Evolution* 25: 137-144.
- Heil M. & Ton J. (2008) Long-distance signalling in plant defence. *Trends in plant science* 13: 264-272.
- Heil, M. (2010). Plastic defence expression in plants. *Evolutionary ecology* 24: 555-569.
- Henderson T.L., Johnson B.L. & Schneiter A.A. (2000) Row spacing, plant population, and cultivar effects on grain amaranth in the northern Great Plains. *Agronomy Journal* 92: 329–336.

- Henderson T.L., Schneiter A.A. & Johnson B.L (1993) Production of amaranth in the northern Great Plains. p. 22-30. In *Alternative crop research: a progress report*. North Dakota State University. Fargo.
- Hering E.M. (1957) *Bestimmungstabellen der Blattminen von Europa*. Vol I. Sgravenhage, Netherlands, Uitgeverij Dr W. Junk, pp. 72-74.
- Herms D.A. & Mattson W.J. (1992) The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology* 67: 478–478.
- Hernández-Rodríguez, C. S., Hernández-Martínez, P., Van Rie, J., Escriche, B., & Ferré, J. (2013) Shared midgut binding sites for Cry1A. 105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important corn pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda*. *PloS one* 8: e68164.
- Hilje L., Costa H.S. & Stansly P. A. (2001) Cultural practices for managing *Bemisia tabaci* and associated viral diseases. *Crop Protection* 20: 801-812.
- Hoffman G.D. & McEvoy P.B. (1985) The mechanism of trichome resistance in *Anaphalis margaritacea* to the meadow spittlebug *Philaenus spumarius*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 39: 123-129.
- Houard C. (1908) *Les zoocécidies des plantes d'Europe et du bassin de la Méditerranée*. Paris. Librairie Scientifique A. Hermann, pp. 400-401.
- Hunter M.D. (1992) A variable insect-plant interaction: the relationship between tree budburst phenology and population levels of insect herbivores among trees *Ecological Entomology*. 16: 91-95.
- Hunter M.D. (2003) Effects of plant quality on the population ecology of parasitoids. *Agricultural and Forest Entomology* 5: 1-8.
- Hunziker A.T. (1943) Las especies alimenticias de *Amaranthus* y *Chenopodium* cultivados por los indios de América. *Revista Argentina de Agronomía* 10: 297-355.
- Hunziker A.T. (1952) *Las pseudocereales de la agricultura indígena de América*. Dirección de Publicación. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.
- Ibdah M., Krins A., Seidlitz H.K., Heller W., Strack D. & Vogt T. (2002) Spectral dependence of flavonol and betacyanin accumulation in *Mesembryanthemum crystallinum* under enhanced radiation. *Plant, Cell & Environment* 25:1145-1154
- Ishii-Eiteman M.J. & Power A.J. (1997) Response of green rice leafhoppers to rice-planting practices in northern Thailand. *Ecological Applications* 7: 194-208.

- Jena B.C., Mohanty S.K. & Mishra P.R. (2000) Grain *Amaranthus* varieties and their insect pests. *Indian Journal of Entomology* 62: 314-316.
- Jena B.C., Mohanty S.K., Jena S.N. & Mishra P.R. (2002) Coreid bug infestation in grain *Amaranthus*. *Indian Journal of Entomology* 64: 380-382.
- Jessing K.K., Duke S.O. & Cedergreen N. (2014). Potential Ecological Roles of Artemisinin Produced by *Artemisia annua* L. *Journal of Chemical Ecology* 40: 100-117.
- Jha P.K., Sah J.P. & Chettri M.K. (1992) Amaranth productivity under biological stresses. *Crop Research* 5: 195-198.
- Johnson B.L. & Henderson T.L. (2002) Water use patterns of grain amaranth in the northern Great Plains. *Agronomy Journal* 94:1437–1443.
- Johnson M.T.J. & Agrawal A.A. (2005). Plant genotype and the environment interact to shape a diverse arthropod community on evening primrose (*Oenothera biennis*). *Ecology* 86: 874-885.
- Johnson M.T.J. (2008) Bottom-up effects of plant genotype on aphids, ants and predators. *Ecology* 89: 145-154.
- Julien M.H. (1992) Biological control of weeds: a world catalogue of agents and their target weeds. CAB International, Wallingford, UK.
- Kalinova J. & Dadakova E. (2009) Rutin and total quercetin content in Amaranth (*Amaranthus* spp.). *Plant Food for Human Nutrition* 64: 68-74
- Karageorgou P. & Manetas Y. (2006) The importance of being red when young: field evidence that anthocyanins in young leaves of *Quercus coccifera* afford considerable protection against insect consumers in addition to a slight protection against excess light. *Tree Physiology* 26: 613-621.
- Karban R. & Baldwin I.T. (1997) *Induced Responses to Herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.
- Karban R. (2011) The ecology and evolution of induced resistance against herbivores. *Functional Ecology* 25: 339–347.
- Karban R., Agrawal A.A. & Mangel M. (1997) The benefits of induced defenses against herbivores. *Ecology* 78: 1351–1355.
- Karban R., Yang L.H. & Edwards K.F. (2014) Volatile communication between plants that affects herbivory: a meta-analysis. *Ecology letters* 17: 44-52.

- Kareiva P. & Sahakian R. (1990) Tritrophic effects of simple architectural mutation in pea plants. *Nature* 345: 433-434.
- Kauffman C.S. & Weber L.E. (1990) Grain amaranth. In: J. Janick and J.E. Simon (eds), *Advances in new crops*. pp. 127-139. Timber Press, Portland, Oregon.
- Kauffman C.S. & Hass P.W. (1984) Grain amaranth: an overview of research and production methods. (RRC/NC 84/85). Rodale Research Center, Kutztown, Pennsylvania, USA.
- Kauffman C.S. (1986) Observaciones sobre las investigaciones preliminares para el desarrollo de variedades mejoradas de amaranto de grano en cinco países. p. 280-285. Primer Seminario Nacional del Amaranto. Chapingo, México.
- Keane R.M. & Crawley M.J. (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 164-170.
- Kelber A., Vorobyev M. & Osorio D. (2003) Animal colour vision–behavioural tests and physiological concepts. *Biol Rev* 78: 81–118.
- Khan Z.R., Chiliswa P., Ampong-Nyarko K., Smart L.E., Polaszek A., Wandera J. & Mulaa M. A. (1997). Utilisation of wild gramineous plants for management of cereal stem borers in Africa. *International Journal of Tropical Insect Science* 17: 143-150.
- Khan Z.R., James D.G., Midega C.A. & Pickett J.A. (2008) Chemical ecology and conservation biological control. *Biological control* 45: 210-224.
- Khan Z.R., Midega C.A.O., Hutter N.J., Wilkins R.M. & Wadhams L.J. (2006) Assessment of the potential of Napier grass (*Pennisetum purpureum*) varieties as trap plants for management of *Chilo partellus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 119: 15–22.
- Khan Z.R., Pickett J.A., van den Berg J., Wadhams L.J. & Woodcock C.M. (2000) Exploiting chemical ecology and species diversity: stem borer and striga control for maize and sorghum in Africa. *Pest Management Science* 56: 957–962.
- Khanam U.K.S. & Oba S. (2014) Phenotypic Plasticity of vegetable amaranth, *Amaranthus tricolor* L. under a natural climate. *Plant Production Science* 17: 166-172.
- Kobayashi S., Asai T., Fujimoto Y. & Kohshima S. (2008) Anti-herbivore structures of *Paulownia tomentosa*: morphology, distribution, chemical constituents and changes during shoot and leaf development. *Annals of Botany* 101: 1035–1047.

- Kolaib M.O., Younes M.W.F. & Darwish E.T.E. (1986) *Hypolixus nubilosus* as a factor in biological control of *Amaranthus* weeds in Egypt. *Annals of Agricultural Science* 31: 767-775.
- Korth K.L., Doege S.J., Park S.H., Goggin F.L., Wang Q., Gomez S.K., Liu G., Jia L. & Nakata P.A. (2006) *Medicago truncatula* mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects. *Plant Physiology* 141:188–195.
- Kos M., Broekgaarden C., Kabouw P., Lenferink K.O., Peolman E.H., et al. (2011) Relative importance of plant-mediated bottom-up and top-down forces on herbivore abundance on *Brassica oleracea*. *Functional Ecology* 25: 1113–1124.
- Kranz J., Schmutterer H. & Koch W. (1979) *Krankheiten, Schädlinge und Unkräuter im tropischen Pflanzenbau*. Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg.
- Kraujalis P., Venskutonis P.R., Kraujalienė V. & Pukalskas A. (2013) Antioxidant properties and preliminary evaluation of phytochemical composition of different anatomical parts of amaranth. *Plant Foods for Human Nutrition* 68: 322-328.
- Krebs C.J. (1989). *Ecological Methodology*. Harper and Row: New York.
- Kübler E., Kaul H.-P. & Aufhammer W. (2002) Vergleichende Untersuchungen zur Bestandesetablierung und zur Trockenmasseproduktion der Pseudogetreidearten Buchweizen (*Fagopyrum esculentum*), Reismelde (*Chenopodium quinoa*) und Amarant (*Amaranthus* sp.) und der Getreidearten Rispenhirse (*Panicum miliaceum*) und Zwerghirse (*Eragrostis tef*) auf einem Grenzstandort. *Die Bodenkultur* 53: 29–38.
- Kumar D., Bhanot J.P. & Singh S.P. (2013) Physio-morphological plant resistance in sorghum genotypes against earhead bugs. *Annals of Biology* 29: 56-62.
- Kursar T.A. & Coley P.D. (2003). Convergence in defense syndromes of young leaves in tropical rainforests. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 929–949.
- Lamarre G. P., Mendoza I., Fine P. V. & Baraloto C. (2014). Leaf synchrony and insect herbivory among tropical tree habitat specialists. *Plant Ecology* 215: 209-220.
- Lanteri A.A. (1994) Bases para el control integrado de los gorgojos de la alfalfa. Editorial De la Campana. La Plata, 119 p.
- Laothawornkitkul J., Taylor J. E., Paul N. D. & Hewitt, C. N. (2009). Biogenic volatile organic compounds in the Earth system. *New Phytologist* 183: 27-51.

- Lara D.P., Oliveira L.A., Azevedo I.F.P., Xavier M.F., Silveira F.A.O., Carneiro M.A.A. & Fernandes G.W. (2008) Relationships between host plant architecture and gall abundance and survival. *Revista Brasileira de Entomologia* 52: 78-81.
- Lashomb J.H. & Ng.Y. (1984) Colonization by colorado potato beetles, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) in rotated and non-rotated potato fields. *Environmental Entomology* 13: 352-1356.
- Lattanzio V., Lattanzio V.M.T. & Cardinali A. (2006) Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in Research* 661: 23–67.
- Lawton J.H. (1983) Plant architecture and the diversity of phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 28: 23-39.
- Levine E. & Oloumi-Sadeghi H. (1991) Management of diabroticite rootworms in corn. *Annual Review of Entomology* 36: 229–255.
- Lev-Yadun S. (2001) Aposematic (warning) coloration associated with thorns in higher plants. *Journal of Theoretical Biology* 210: 385–388.
- Lewinsohn M.T., Novotny V. & Basset Y. (2005) Insects on plants: Diversity of Herbivore Assemblages Revisited. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 36: 597–620.
- Lindig-Cisneros R., Benrey B. & Espinosa-García F.J. (1997). Phytoalexins, resistance traits, and domestication status in *Phaseolus coccineus* and *Phaseolus lunatus*. *Journal of Chemical Ecology* 23: 1997-2011.
- Lindroth R.L. & Peterson S.S. (1988) Effects of plant phenols of performance of southern armyworm larvae. *Oecologia* 75: 185-189.
- Liu F. & Stützel H. (2002a) Leaf water relations of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to soil drying. *European Journal of Agronomy* 16: 137-150.
- Liu F. & Stützel H. (2002b) Leaf expansion, stomatal conductance, and transpiration of vegetable amaranth (*Amaranthus* sp.) in response to soil drying. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127: 878-883.
- Liu H. & Stilling P. (2006) Testing the enemy release hypothesis: a review and meta-analysis. *Biological Invasions* 8: 1535-1545.
- Lopes Bhering L., Cruz C.D., de Vasconcelos E.S., Ferreira A., & Márcio Fernando Ribeiro de Resende Jr M.F. (2008) Alternative methodology for Scott-Knott test. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 8: 9-16.

- Lou Y., Hua X., Turling T.C.J., Cheng J., Chen X. & Ye G. (2006). Differences in induced volatiles emissions among rice varieties result in differential attraction and parasitism of *Nilaparvata lugens* eggs by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* in the field. *Journal of Chemical Ecology* 32: 2375-2387.
- Louw S. vdM & Myburgh E. (2000) Occurrence and prominence of insect guilds on vegetable amaranth (*Amaranthus hybridus*) cultivated in the central Free State, South Africa. *African Plant Protection* 6: 9-16.
- Louw S. vdM, Van Eeden C.F. & Weeks W.J. (1995) Curculionidae (Coleoptera) associated with wild and cultivated *Amaranthus* spp. (Amaranthaceae) in South Africa. *African Crop Science Journal* 3: 93-98.
- Ludwig K.A. & Hill R.E. (1975) Comparison of gut contents of adult western and northern corn rootworms in northeast Nebraska. *Environmental Entomology* 4: 435-438.
- Lyon C.K. & Becker R. (1987) Extraction and refining of oil from amaranth seed. *Journal of American Oil Chemists' Society* 64: 233-236.
- MacKay M.R. (1962) Larvae of the North American Tortricinae (Lepidoptera: Tortricidae) *Canadian Entomologist Supplement* 28: 1-128.
- Manetas Y. (2006) Why some leaves are anthocyanic and why most anthocyanic leaves are red. *Flora* 201: 163-77.
- Marquis R.J., Lill J.T. & Piccinni A. (2002) Effect of plant architecture on colonization and damage by leaf-tying caterpillars of *Quercus alba*. *Oikos* 99: 531-537.
- Martinez-Moreno D., Nunez-Farfan J., Terrazas T., Muiz L.D., Trinidad-Santos A., et al. (1999) Plastic responses to clipping in two species of *Amaranthus* from the Sierra Norte de Puebla, Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46: 225-234.
- Marx J.L. (1977) Amaranth: A comeback for the food of Aztecs? *Science* 198:40.
- Matic T. (1983) Electrical inhibition in the retina of the butterfly *Papilio*. 1. Four spectral types of photoreceptors. *Journal of Comparative Physiology* 152:169-182.
- Mattson W.J. & Scriber J.M. (1987). Nutritional ecology of insect folivores of woody plants: nitrogen, water, fiber, and mineral considerations. *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates*. Wiley, New York, 105-146.
- May R.M. (1988) How many species are there on earth? *Science* 241: 1441-1449.
- Milbrath L.R., Weiss M.J. & Schatz B.G. (1995) Influence of tillage system, planting date, and oilseed crucifers on flea beetle populations (Coleoptera: Chrysomelidae). *Canadian Entomologist* 127: 289-293.

- Milbrath L.R., Weiss M.J. & Schatz B.G. (1995) Influence of tillage system, planting date, and oilseed crucifers on flea beetle populations (Coleoptera: Chrysomelidae). *Canadian Entomologist* 127: 289-293.
- Miles C.I., del Campo M.L. & Renwick J.A.A. (2005) Behavioral and chemosensory responses to a host recognition cue by larvae of *Pieris rapae*. *Journal of Comparative Physiology A* 191:147–155
- Miller T.E., Wing J.S. & Huete A.R. (1984) The agricultural potential of selected C4 plants in arid environments. *The Journal of Arid Environments* 7: 275-286.
- Mizokami H. & Yoshitama K. (2009) Sequestration and metabolism of host plant flavonoids by the Pale Grass Blue, *Pseudozizeeria maha* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Entomological science* 12: 171-176.
- Minzava N.A. & Reuben S.O.W.M. (1982). Leaf and seed yields of *Amaranthus cruentus* L. in relation to population pressure. *Beitr Trop Landwirtsch Veterinarmed* 20: 277–282.
- Møller A.P. (1995) Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *Journal of Animal Ecology* 64: 697-707.
- Monteros C., Nieto C., Caicedo C., Rivera M. & Vimos C. (1994) “INIAP- Alegría”. Primera variedad mejorada de amaranto para la sierra ecuatoriana. Boletín Divulgativo N° 246. Programa de Cultivos Andinos. Estación Experimental Santa Catalina INIAP. Quito, Ecuador. 24 p.
- Moore B.D., Andrew R.L., Külheim C. & Foley W.J. (2013) Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. *New Phytologist* 201: 733–750.
- Moyal P. (1995) Borer infestation and damage in relation to maize stand density and water stress in the Ivory Coast. *International Journal of Pest Management* 41: 114-121.
- Mujica A. & Berti M. (1997) El cultivo del amaranto (*Amaranthus* sp.): producción, mejoramiento genético y utilización Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe, Santiago, Chile, y la División de Producción y Protección de Plantas, Roma, Italia. 145 pp.
- Mujica S.A. & Quillahuamán A. (1989) Phenology of kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.). pp. 29-31. In: Workshop Course of Andean crop phenology and use of agro meteorological information. Puno, 7-10 August. INIA, PICA. Perú.

- Mulandana N.S., Mamadi N.E., Du-Plooy C.P. & Beletse Y.G. (2009). Effect of spacing and transplanting time on amaranths yield. In 9th African Crop Science, Conference Proceedings, Cape Town, South Africa, 28 September-2 October 2009.(pp. 243-246). African Crop Science Society.
- Mulatu B., Applebaum S.W. & Coll M. (2004). A recently acquired host plant provides an oligophagous insect herbivore with enemy-free space. *Oikos* 107: 231-238.
- Murakami M., Ichie T. & Hirao T. (2008) Beta-diversity of lepidopteran larval communities in a Japanese temperate forest: effects of phenology and tree species. *Ecological Research* 23: 179-187
- Myers R.L. (1996) Amaranth: new crop opportunity. In: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), *Progress in New Crops*. ASHS Press, Alexandria, VA, pp. 207-220.
- Nabity P.D., Orpet R., Miresmailli S., Berenbaum M.R. & Delucia E.H. (2012). Silica and nitrogen modulate physical defense against chewing insect herbivores in bioenergy crops miscanthus× giganteus and *Panicum virgatum* (Poaceae). *Journal of Economic Entomology* 105: 878-883.
- Nathan S.S. (2006) Effects of *Melia azederach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84: 98-108.
- National Academy of Sciences (1985) Amaranth: Modern prospects for an ancient crop. National Academy Press, Washington DC. 96 pp.
- Nemirovsky N.V. (1972) El “astilo moteado” *Astylus atromaculatus* Blanch. Coleóptero plaga de sorgo en la parte central de las provincia de Córdoba y Santa Fé. *Revista IDIA* 296: 54-60.
- Nieto C. (1990) El cultivo de amaranto (*Amaranthus* spp) una alternativa agronómica para Ecuador. INIAP, EE. Santa Catalina. Publicación Miscelánea 52. Quito, Ecuador.
- Ninkovic V., Dahlin I., Vucetic A., Petrovic-Obradovic O., Glinwood R. & Webster, B. (2013). Volatile Exchange between Undamaged Plants-a New Mechanism Affecting Insect Orientation in Intercropping. *PloS one* 8: e69431.
- Noelting M.C., Vega O.D. & Sandoval M.C. (2001) Presencia de *Sclerotinia sclerotium* Lib de Bary en un cultivo de Amaranto (*Amaranthus mantegazzianus* cv. Don Manuel) *Brazilian Phytopathology* 26-466.

- Núñez-Farfán J., Fornoni J. & Valverde P.L. (2007). The evolution of resistance and tolerance to herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, p. 541-566.
- Nylin S. & Janz N. (1996) Host plant preferences in the comma butterfly (*Polygonia c-album*): do parents and off-spring agree? *Ecoscience* 3: 285–289.
- O'Brien C.W. & Wibmer G.J. (1982) Annotated checklist of the weevils (Curculionidae *sensu lato*) of North America, Central America, and the West Indies (Coleoptera: Curculionoidea). *Memoirs of the American Entomological Institute* 34: 1-382.
- O'Brien D.M., Fogel M.L. & Boggs C.L. (2002) Renewable and non-renewable resources: amino acid turnover and allocation to reproduction in Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America* 99:4413–4418.
- O'Brien C.W. & Couturier G. (1995). Two new agricultural pest species of *Conotrachelus* (Coleoptera: Curculionidae: Molytinae) in South America. In: *Annales de la Société entomologique de France* 31: 227-236.
- Odeleye F.O. & Olufolaji A.O. (2010). The performance of *Amaranthus cruentus* and *Celosia argentea* as affected by varying sowing depths. *Agriculture & Biology Journal of North America* 1(6).
- Oghiakhe S., Jackai L.E.N., Makanjuola W.A. & Hodgson C.J. (1992) Morphology, distribution, and the role of trichomes in cowpea (*Vigna unguiculata*) resistance to the legume pod borer, *Maruca testulalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Bulletin of Entomological Research* 82: 499–505.
- Ohnmeiss T.E. & Baldwin I.T. (2000) Optimal defense theory predicts the ontogeny of an induced nicotine defense. *Ecology* 81:1765-1783.
- Okiwelu S.N., Ndome C.B. & Ide Y.F. (1988) Insect pests of leafy vegetables in Rivers State, Nigeria: I. Feeding Habits and Infestation of the bitterleaf weevil *Lixus camerunus* Kolbe (Coleoptera: Curculionidae). *Insect Science and its Application* 9: 557-561.
- Okiwelu S.N., Ugwa O.A. & Amadi S.C. (1992). Insect pests of leafy vegetables in Rivers State, Nigeria: Studies on life cycle and foliage consumption of *Spilosoma (Diacrisia) maculosa* Stoll (Lepidoptera Arctiidae) on *Vernonia amygdalina*, *Telfairia occidentalis*, *Amaranthus hybridus*, *Talinum triangulare*. *Revue de Zoologie Africaine* 106.

- Olson D.L. & Wilson R.L. (1990) Tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae): Effect on seed weight of grain amaranth. *Journal of Economic Entomology* 83: 2443-2447.
- Omami E.N. & Hammes P.S. (2006) Interactive effects of salinity and water stress on growth, leaf water relations, and gas exchange in amaranth (*Amaranthus* spp.) *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 34: 33-44.
- Onstad D.W., Spencer J.L., Guse1 C.A, Levine E. & Isard S.A. (2001) Modeling evolution of behavioral resistance by an insect to crop rotation. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 100: 195–201.
- Orians C.M. & Ward D. (2010) Evolution of plant defenses in nonindigenous environments. *Annual Review of Entomology* 55: 439-459.
- Orlando A., Sampaio A.S., de Carvalho A.M, Scaranari H. J. & Aarruda H.V. (1974) Nota sobre o “gor-gulho das goiabas”, *Conotrachelus psidii* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae) e experimentos de combate. *O Biológico* 40: 281-289.
- Pajni H.R. & Kohli S.K. (1990) Current status of some Indian species of genus *Baris* Germ. and the description of one new genus and three new species (Coleoptera: Curculionidae: Baridinae: Barini). *Research Bulletin of the Panjab University, Science* 41: 45-59.
- Pal M. & Khoshoo T.N. (1973) Evolution and improvement of cultivated Amaranths.VI. Cytogenetic relationships in grain types. *Theoretical and Applied Genetics* 43: 242-251.
- Pascacio-Villafán C., Lapointe S., Williams T., Sivinski J., Niedz R. & Aluja, M. (2014) Mixture-amount design and response surface modeling to assess the effects of flavonoids and phenolic acids on developmental performance of *Anastrepha ludens*. *Journal of Chemical Ecology* 40: 297–306.
- Paulino-Neto H.F., Romero G. & Vasconcellos–Neto J. (2005) Interactions between *Oncideres humeralis* Thompson (Coleoptera, Cerambycidae) and Melastomataceae: Hos-plant selection and patterns of host use in Southeast Brazil. *Neotropical Entomology* 34: 7-14.
- Pérez-Contreras T., Soler, J.J. & Soler M. (2014). Host selection by the pine processionary moth enhances larval performance: An experiment. *Acta Oecologica* 55: 15-22.
- Pérez-Panduro A., Solis-Aguilar J.F., Trujillo-Arriaga J. & Romero-Rosales F. (1990) Biological agents for population regulation of *Tithonia tubaeformis* (Jacq) Cass

- (Asteraceae), *Amaranthus hybridus* L. and *A. spinosus* L. (Amaranthaceae) in Chapingo, State of Mexico and Tecalitlan, Jalisco. *Revista Chapingo* 15: 126-129.
- Pérez-Torres B.C., Aragón-García A., Pérez-Avilés R., Hernández L.R. & López-Olguín J.F. (2011) Estudio entomofaunístico del cultivo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) en Puebla, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2: 359-371.
- Pickett J.A., Woodcock C.M., Midega C.A. & Khan Z.R. (2014) Push–pull farming systems. *Current opinion in biotechnology* 26: 125-132.
- Pilson D. (2000) Herbivory and natural selection on flowering phenology in wild sunflower, *Helianthus annuus*. *Oecologia* 122: 72-82.
- Pinto L.M.N., Fiuza L.M., Ziegler D., Oliveira J.V.D., Menezes V.G., Bourré I., Meynard, D., Guider E., Breitler J.C., Altosaar I. & Gantet P. (2013). Indica Rice Cultivar IRGA 424, transformed with cry genes of *B. thuringiensis*, provided high resistance against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 106: 2585-2594.
- Pogue M.G. (2002) World revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Memoirs of the American Entomological Society* 43: 1–202.
- Ponzio C., Gols R., Pieterse C.M. & Dicke M. (2013) Ecological and phytohormonal aspects of plant volatile emission in response to single and dual infestations with herbivores and phytopathogens. *Functional Ecology* 27: 587-598.
- Potter K.A., Bronstein J. & Davidowitz G. (2012). Choice of oviposition sites by *Manduca sexta* and its consequences for egg and larval performance. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144: 286-293.
- Poveda K. & Kessler A. (2012) New synthesis: plant volatiles as functional cues in intercropping systems. *Journal of Chemical Ecology* 38: 1341.
- Praznik W., Mundigler N., Kogler A., Pelzl B., Huber A. (1999) Molecular background of technological properties of selected starches. *Starch-Starke* 51:197–211.
- Price P., Bouton C.E., Gross P., Mac-Pheron B.A., Thompson J.N. & Weiss A.E. (1980). Interactions among three trophic levels: the influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 41-65.
- Price, P. W. (1997) *Insect Ecology*. John Wiley & Sons. New York. 874 pp.

- Quentin A.G., Pinkard E.A., Beadle C.L., Wardlaw T.J., O'Grady A.P., Paterson S. & Mohammed C.L. (2010). Do artificial and natural defoliation have similar effects on physiology of *Eucalyptus globulus* Labill. seedlings?. *Annals of Forest Science* 67: 203.
- Ramalho F.S., Parrott W.L., Jenkins J.N. & McCarty J.C. (1984). Effects of cotton leaf trichomes on the mobility of newly hatched tobacco budworms (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 77: 619–621.
- Rani P.U. & Pratyusha S. (2014). Role of castor plant phenolics on performance of its two herbivores and their impact on egg parasitoid behaviour. *BioControl* 59: 513-524.
- Rao C. & Newmark H.L. (1998) Chemopreventive effect of Squalene on colon cancer. *Carcinogenesis* 19: 287-290.
- Rasmann S. & Agrawal A.A (2009) Plant defense against herbivory: progress in identifying synergism, redundancy, and antagonism between resistance traits. *Current opinion in Plant Biology* 4: 473-478.
- Rasmann S., Agrawal A.A., Cook S.C. & Erwin A.C. (2009) Cardenolides, induced responses, and interactions between above and belowground herbivores of milkweed (*Asclepias* spp.). *Ecology* 90: 2393-2404.
- Rausher M.D. (2006). The evolution of flavonoids and their genes. *The Science of Flavonoids* (ed E. Grotewold). Springer, New York, p. 175–212
- Reeves J.I. (2011) Vision should not be overlooked as an important sensory modality for finding host plants. *Environmental Entomology* 40: 855–862.
- Rice M.E. (1995) Branch girdling by *Oncideres cingulata* (Coleoptera: Cerambycidae) and relative host quality of persimmon, hickory, and elm. *Annals of the Entomological Society of America* 88: 451-455.
- Riquelme M.B., Ansa M.A. & Santadino M.V. (2013) Preferencia de oviposición del barrenador del amaranto, *Aerenea quadriplagiata* (Coleoptera, Cerambycidae) en condiciones de campo. *Revista Colombiana de Entomología* 39: 76-80.
- Robaszkiewicz A., Balcerczyk A., & Bartosz G. (2007) Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells. *Cell biology international* 31: 1245-1250.
- Robertson K.R. (1981) The genera of Amaranthaceae in the Southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* 62: 267-313.

- Robinson R.G. (1986) Amaranth, Quinoa, Ragi, Tef, and Niger: tiny seeds of ancient history and modern interest. Minnesota Agricultural Experiment Station Bulletin AD SB 2949, St. Paul.
- Roeder K.A. & Behmer S.T. (2014) Lifetime consequences of food protein-carbohydrate content for an insect herbivore. *Functional Ecology* 28: 1135-1143.
- Rosa, E.A.S., Heaney, R.K., Fenwick, G.R. & Portas, C.A.M. (1997). Glucosinolates in crop plants. *Horticultural Reviews* 19: 99-215.
- Rudgers J.A. & Whitney K.D. (2006) Interactions between insect herbivores and a plant architectural dimorphism. *Journal of Ecology* 94: 1249-1260.
- Rull J. & Propoky R.J. (2000) Attraction of apple maggot flies, *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) of different physiological states to odourbaited traps in the presence and absence of food. *Bulletin of Entomological Research* 90: 77-88.
- Russell W. & Duthie G. (2011) Plant secondary metabolites and gut health: the case for phenolic acids. *Proceedings of the Nutrition Society* 70: 389-396.
- Ruuhola T., Salminen P., Salminen J. P. & Ossipov V. (2013). Ellagitannins: defences of *Betula nana* against *Epirrita autumnata* folivory?. *Agricultural and Forest Entomology* 15: 187-196.
- Ruuhola T., Tikkanen O. & Tahvanainen J. (2001) Differences in host use efficiency of larvae of a generalist moth, *Operophtera brumata* on three chemically divergent *Salix* species. *Journal of Chemical Ecology* 27: 1595–1615.
- Saeed S., Sayyed A.H. & Ahmad I. (2009). Effect of host plants on life-history traits of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Pest Science* 83: 165-172.
- Salas-Araiza M.D. & Boradonenko A. (2006) Insectos asociados al amaranto *Amaranthus hypochondriacus* L. (Amaranthaceae) en Irapuato, Guanajuato, México. *Acta Universitaria* 16: 50-55.
- Salim M. & Saxena R.C. (1991) Nutritional stresses and varietal resistance in rice: effects on whitebacked planthopper. *Crop science* 31:797-805.
- Salminen J.P. & Karonen M. (2011) Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Functional Ecology* 25:325–338.
- Sánchez-Hernández C., Martínez-Gallardo N., Guerrero-Rangel A., Valdés-Rodríguez S. & Délano-Frier J. (2004) Trypsin and alphaamylase inhibitors are differentially induced in leaves of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) in response to biotic and abiotic stress. *Physiologia Plantarum* 122: 254–264.

- Santiago X., Souto C., Sotelo J., Butron A. & Malvar R. A. (2003) Relationship between maize stem structural characteristics and resistance to pink stem borer (Lepidoptera: Noctuidae) attack. *Journal of Economic Entomology* 96: 1563-1570.
- Santos J.C., Alves-Silva E., Cornelissen T.G. & Fernandes G.W. (2013). The effect of fluctuating asymmetry and leaf nutrients on gall abundance and survivorship. *Basic and Applied Ecology* 14: 489-495.
- Sanz-Penella J. M., Wronkowska M., Soral-Smietana M. & Haros M. (2013). Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value. *LWT-Food Science and Technology* 50: 679-685.
- Sauer J.D. (1950) The grain amaranth: a survey of their history and classification. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 37: 561-616.
- Sauer J.D. (1957) Recent migration and evolution of the dioecious amaranths. *Evolution* 11: 11-31.
- Sauer J.D. (1967) The grain amaranths and their relatives; A revised taxonomic and geographic survey. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 54: 103-137.
- Sawhney S., Kohli R.K. & Sawhney N. (1980) Photoperiodic studies on *Amaranthus*. *Indian Journal of Plant Physiology* 23: 103-111.
- Sbravatti A.M. (1999) Aspectos biológicos de *Aerenea quadriplagiata* (Boheman 1858) (Coleoptera, Cerambycidae) barrenador del tallo de *Amaranthus* spp. Tesina de Grado Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Luján, Argentina. 75 p.
- Schiff N.M., Waldbauer G.P. & Friedman S. (1988) Dietary self-selection for vitamins and lipid by larvae of the corn earworm, *Heliothis zea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 46: 240–256.
- Schliemann W., Cai Y., Degenkolb T., Schmidt J. & Corke H. (2001) Betalains of *Celosia argentea*. *Phytochemistry* 58:159–165.
- Schoonhoven, L. M., & Van Loon, J. J. A. (2002). An inventory of taste in caterpillars: each species its own key. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 48: 215-263.
- Schuester M. (1987) Blister beetle in Paraguay - a potential biological control agent. *Tropical Pest Management* 33: 241.
- Schwanitz F. (1966) The origin of cultivated plants. Harvard University. Press, Cambridge, MA.

- Scott Brown A.S., Simmonds M.S.J. & Blaney W.M (2002) Relationship between nutritional composition of plant species and infestation levels of thrips. *Journal of Chemical Ecology* 28: 2359-2409.
- Scott I.M., Tolman J.H. & MacArthur D.C. (2014) Insecticide-resistance and cross-resistance development in Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) populations in Canada 2008-2011. *Pest Management Science* DOI: 10.1002/ps.3833.
- Scriber J. M. & Feeny P. (1979) Growth of herbivorous caterpillars in relation to feeding specialization and to the growth form of their food plants. *Ecology*, 829-850.
- Senthil-Nathan S. (2013) Physiological and biochemical effect of neem and other Meliaceae plant secondary metabolites against Lepidopteran insects. *Frontiers in Physiology* 4: 1-17.
- Setiawati W., Karjadi A.K. & Soetiarso T.A. (2010) Combining effects of cultural practices and resistant cultivars on reducing the incidence of *Meloidogyne spp.* and *Thrips palmy Karny* on potato. *Indonesian Journal of Agricultural Science* 11: 48-56.
- Shahout H.A., Xu J.X., Yao X.M. & Jia Q.D. (2011). Influence and mechanism of different host plants on the growth, development and, fecundity of reproductive system of common cutworm *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Asian Journal of Agricultural Sciences* 3: 291-300.
- Shibata E., Waguchi Y. & Yoneda Y. (1994) Role of tree diameter on the damage caused by the sugi bark borer (Coleoptera, Cerambycidae) to the Japanese cedar, *Cryptomeria japonica*. *Environmental Entomology* 23: 76-79.
- Shobana K., Murugan A. & Kumar N. (2010) Influence of host plants on feeding, growth and reproduction of *Papilio polytes* (the common mormon). *Journal of Insect Physiology* 56:1065–1070.
- Simmonds M.S.J. (2003) Flavonoids-insect interactions: recent advances in our knowledge. *Phytochemistry* 64: 21-30.
- Smith H.A., Koenig R.L., McAuslane H.J. & McSorley R. (2000) Effect of silver reflective mulch and a summer squash trap crop on densities of immature *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on organic bean. *Journal of Economic Entomology* 93: 726-731.

- Soler R., Pineda, A., Li, Y., Ponzio, C., van Loon, J. J. A., Weldegergis, B. T. & Dicke, M. (2012) Neonates know better than their mothers when selecting a host plant. *Oikos* 121: 1923–1934.
- Soroka J.J. & MacKay P.A. (1990) Seasonal occurrence of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Homoptera: Aphididae), on cultivars of field peas in Manitoba and its effects on pea growth and yield. *Canadian Entomologist* 122: 503-513.
- Sotelo P.A., Hein G.L., Pairs F.B. & Smith C.M. (2014). Effects of Planting Date and Barley Variety on Russian Wheat Aphid (Hemiptera: Aphididae) Populations in Colorado, Kansas, and Nebraska. *Journal of Economic Entomology* 107: 1969-1976.
- Sparks A.N. (1979) A review of the biology of the fall armyworm. *Florida Entomology* 62: 82–87.
- Spencer K.A. & Havranek D. (1989) A new species of Agromyzidae (Diptera) from Venezuela, *Florida Entomologist* 72: 441-444.
- Spencer K.A. (1969) The Agromyzidae of Canada and Alaska. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 101: 5-311.
- Spencer K.A. (1973) Agromyzidae (Diptera) of economic importance. *Series Entomologica* Dr. W Junk, The Hague 9: 1-418.
- Spencer K.A. (1981) A revisionary study of the leaf-mining flies (Agromyzidae) of California. University of California Division Agricultural Science Special Publication 3273: 489 pp.
- Spencer K.A., Steyskal G.C. (1986) Manual of the Agromyzidae (Diptera) of the United State. United State Department of Agriculture. Washington D.C. Agriculture Handbook 638: 478 pp.
- Srinivasan K., Natarajan D., Dheen M., Perumal G., Mohanasundari C., Prabakar K., Sengottuvel R. (2006) Antibacterial activity of selected medicinal plants. *Hamdard Med* 49: 5–8.
- Stallknecht G.F, Duffus J.E. & Schaeffer J. (1990) Curly Top virus in grain amaranth. Post Paper. Fourth U.S. Amaranth Conf., Minneapolis, MN Aug 23-25.
- Stallknecht G.F. & Schulz-Schaeffer J.R. (1993) Amaranth rediscovered. p. 211-218. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York.
- Stamp N. (2003) Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *Quarterly Review of Biology* 78: 23-55.

- Stansly P.A., Liu T.X. & Vavrina C.S. (1998) Response of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) to imidacloprid under greenhouse, field and laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology* 91: 686-692.
- Steffensen S.K., Pedersen H.A., Labouriau R., Mortensen A.G., Laursen B., Troiani R.M., Noellemeyer E., Janovska D., Stavelikova H., Taberner A., Christophersen C. & Fomsgaard I. (2011) Variation of polyphenols and betaines in aerial parts of young field-grown amaranthus genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 12073–12082.
- Steffensen S.K., Pedersen H.A., Labouriau R., Mortensen A.G., Laursen B., Troiani R.M., Noellemeyer E., Janovska D., Stavelikova H., Taberner A., Christophersen C., Fomsgaard I. (2011) Variation of polyphenols and betaines in aerial parts of young field-grown amaranthus genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:12073–12082.
- Štefúnová V., Bežo M., Labajová M. & Senková S. (2014) Genetic analysis of three *Amaranth* species using. *Emirates Journal of Food and Agricultura* 26: 35-43
- Stegmaier C.E. (1950) Insects associated with the rough pigweed, *Amaranthus retroflexus* L. (Amaranthaceae). MSc. thesis, Kansas State College of Agriculture and Applied Science.
- Stiling P.D. & Strong D.R. (1984) Experimental density manipulation of stem-boring insects: some evidence for interspecific competition. *Ecology*: 1683-1685.
- Stinner B.R. & House G.J. (1990) Arthropods and other invertebrates in conservation-tillage agriculture. *Annual Review of Entomology* 35:299-318.
- Stockhoff B.A. (1993) Ontogenetic change in dietary selection for protein and lipid by gypsy moth larvae. *Journal of Insect Physiology* 39: 677-686.
- Stork N.E. (1987) Guild structure of arthropods from Bornean rain forest trees. *Ecological Entomology* 12: 69-80.
- Stowe K.A., Marquis R.J., Hochwender C.G. & Simms E.L. (2000). The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual Review of Ecology and Systematics* p. 565-595.
- Strack D., Vogt T. & Schliemann W. (2003) Recent advances in betalain research. *Phytochemistry* 62: 247–269.
- Strauss S.Y. & Agrawal A.A. (1999) The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 179-185.

- Strong D.R., Lawton J.H. & Southwood R. (1984) *Insects on Plants: Community Patterns and Mechanisms*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 313 p.
- Sumar L. (1993) *La kiwicha y su cultivo*. Centro Bartolomé de las Casas, Cusco, Perú.
- Summers C.B. & Felton G.W. (1994) Prooxidant effects of phenolic acids on the generalist herbivore *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae): potential mode of action for phenolic compounds in plant anti-herbivore chemistry insect biochem. *Mol Biol* 24: 943–953.
- Summerville K.S. & Crist T.O. (2003) Determinants of lepidopteran community composition and species diversity in eastern deciduous forests: roles of season, ecoregion, and patch size. *Oikos* 100: 134-148.
- Suryavanshi V.L., Sathe P.A., Baing M.M., Singh G.R. & Lakshmi S.N. (2007) Determination of rutin in *Amaranthus spinosus* Linn whole plant powder by HPTLC. *Chromatography* 65: 767–769.
- Sweetman H.L. (1928) Notes on insects inhabiting the roots of weeds. *Annals of the Entomological Society of America* 21: 594-600.
- Tahvanainen J.O. (1972) Phenology and microhabitat selection of some flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) on wild and cultivated crucifers in central New York. *Entomologica Scandinavica* 3: 120-138.
- Tao L., Berns A.R. & Hunter M.D. (2014) Why does a good thing become too much? Interactions between foliar nutrients and toxins determine performance of an insect herbivore. *Functional Ecology* 28:190-196.
- Tapia M. (1997) *Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación*. 2a Edición. FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago, Chile
- Tara J.S., Azam M., Ayri S., Feroz M. & Ramamurthy V.V. (2009) Bionomics of *Hypolixus truncatulus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae: Lixinae: Lixini), a major pest of *Amaranthus caudatus* L. *Munis Entomology & Zoology* 4: 510-518.
- Tawfik M.F.S., Awadallah K.T. & Shalaby F.F. (1976) The biology of *Hypolixus nubilosus* Boh., an insect infesting the weed *Amaranthus caudatus* L. In Egypt (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin de la Société Entomologique d’Egypte* 60: 65-74.
- Terry L.I. & Lee C.W. (1990) Infestation of cultivated *Amaranthus* by the weevil *Conotrachelus seniculus* in southeastern Arizona. *Southwestern Entomologist* 15: 27-31.

- Teutonico R.A. & Knorr D. (1985) Amaranth: composition, properties and applications of a rediscovered food crop. *Food Technol* 39: 49–60.
- Theis N. & Lerdau M. (2003) The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Sciences* 63: S93–S102.
- Tingle F.C., Ashley T.R. & Mitchell E.R. (1978) Parasites of *Spodoptera exigua*, *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Herpetogramma bipunctalis* (Lepidoptera: Pyralidae) collected from *Amaranthus hybridus* in a field corn. *Entomophaga* 23: 343–347.
- Tisler A.M. (1990) Feeding in the pigweed flea beetle *Disonycha glabrata* Fab. (Coleoptera: Chrysomelidae), on *Amaranthus retroflexus*. *Virginia Journal of Science* 41: 243–245.
- Toepfer S., Zellner M., Szalai M. & Kuhlmann U. (2014) Field survival analyses of adult *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Pest Science* DOI: 10.1007/s10340-014-0575-5.
- Torres-Gurrola G., Delgado-Lamas G. & Espinosa-García F.J. (2011). The foliar chemical profile of criollo avocado, *Persea americana* var. *drymifolia* (Lauracea), and its relationship with the incidence of a gall-forming insect, *Trioza anceps* (Trioziidae). *Biochemical Systematics and Ecology* 39: 102-111.
- Torres-Saldaña G., Trinidad S.A., Reyna T.T., Castillo J.H., Bautista M.N. & De León G.F. (2004) Drilling of the stem of Amaranth by *Hypolixus truncatulus* (Coleoptera: Curculionidae) and *Amauromyza abnormalis* (Diptera: Agromyzidae). *Acta Zoológica Mexicana* 20: 131-140.
- Traw M.B. & Feeny P. (2008) Glucosinolates and trichomes track tissue value in two sympatric mustards. *Ecology* 89: 763-772.
- Umeh V.C., Olufolaji A.O. & Omukwu D. (2009) Susceptibility of grain Amaranth lines to hemipteran bug infestation in relation to stem and inflorescence colours, and seed coat type. *Nigerian Journal of Horticultural Science* 6: 54-59.
- Underwood N. & Rausher M.D. (2002) The effects of host-plant genotype on herbivore population dynamics in a model system. *Ecology* 81: 1565–1576.
- Van den Berg J., Rebe M., de Bruyn J. & van Hamburg H. (2001) Developing habitat management systems for gramineous stemborers in South Africa. *Insect Science and its Application* 21: 381–388.

- Van Loon J.J.A., Tang Q.B., Wang H.L., Wang C.Z., Zhou D.S. & Smid H.M. (2008) Tasting in plant-feeding insects: from single compounds to complex natural stimuli. In: Newland PL, Cobb M, Marion- Poll F (eds) Insect taste. Taylor and Francis, Abingdon, pp 103–126.
- Vargas-Ortiz E., Espitia-Rangel E., Tiessen A. & Délano-Frier J.P. (2013) Grain Amaranths are defoliation tolerant crop species capable of utilizing stem and root carbohydrate reserves to sustain vegetative and reproductive growth after leaf loss. Plos One 8: e767879.
- Vasicek A., Ricci E. & Mitidieri A. (1998) Evaluación del comportamiento de *Conotrachelus histrio* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) “barrenador del tallo” de *Amaranthus quitensis* HBK. en cultivo de soja. Revista Amarantos, Facultad de Agronomía, UNLPam. 22: 3-12.
- Vasileiadis V.P., Sattin M., Otto S., Veres A., Pálinkás Z., Ban R., Pons X., Kudsk P., van der Weide R., Czembor E., Moonen A.C. & Kiss J. (2011) Crop protection in European maize-based cropping systems: current practices and recommendations for innovative integrated pest management. Agricultural systems 104: 533-540.
- Venskutonis P.R. & Kraujalis P. (2013) Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: a review on composition, properties, and uses. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 12: 381-412.
- Ves Losada J.C. & Covas G. (1987) Lista preliminar de artrópodos que afectan a los amarantos en la provincia de La Pampa. In: Proceedings of I Jornadas Nacionales sobre Amarantos. UNLPam. Facultad de Agronomía UNLPam. La Pampa, Argentina, Julio 26–27, pp 109-111.
- Villareal M.E. & Iturriaga L.B. (2011). Análisis morfológico de grano entero, harinas y almidones de *Amaranthus cruentus* y cristalinidad relativa de los almidones. Análisis de semillas. 5: 96-98.
- Villegas-Mendoza J.M. & Rosas-García N.M. (2013) Visual and gustatory responses of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to artificial food dyes. Florida Entomologist 96:1102-1106.
- Vityakon P. & Standal B. (1989) Oxalate in vegetable Amaranth (*Amaranthus gangeticus*) forms, contents, and their possible implications for human health. Journal of the Science of Food and Agriculture 48: 469-474.

- Vogt G.B. & Cordo H.A. (1976) Recent South American field studies of prospective biocontrol agents of weeds. Proceedings of the Research Planning Conference on Aquatic Plant Control Program, Charleston, pp. 36–55.
- Volovnik S.V. (1994) On parasites and predators of Cleoninae weevils (Col. Curculionidae) in Ukrainian steppe. Anzeiger für Schädlingkunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz 67: 77-79.
- Vráblová M., Tóth P. & Cagán L. (2001) Flea beetles species associated with *Amaranthus* spp. and surrounded cultivated and wild plant species. Acta Fytotechnica et Zootechnica 4: 303–304.
- Vyas N.R., Singh O.P., Dhamdhare S.V. & Misra U.S. (1983) An unusual outbreak of the rice grasshopper, *Hieroglyphus banian* Fabricius and its host preference. Journal of Entomological Research 7: 194-195.
- Walker J.R.L. (1975) The Biology of Plant Phenolics. Crane, Russak & Company, New York.
- Waterhouse D.F. (1994) *Biological control of weeds: Southeast Asian prospects*. ACIAR Monograph n.26. Canberra, Australia; Australian Centre of International Agricultural Research, pp. 18-24.
- Weaver S.E. & McWilliams E.L. (1980) The biology of Canadian weeds. 44. *Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S.Wats. and *A. hybridus* L. Canadian Journal of Plant Science 60: 1215–1234.
- Webb D.M., Smith C.W. & Schulz-Schaeffer J. (1987) Amaranth seedling emergence as affected by seedling depth and temperature on a thermogradient plate. Agronomy Journal 79:23-26.
- Weber L.E. (1990). Amaranth grain production guide. Rodale Press, Inc. Emmaus, USA, 50 pp.
- Weber L.E., Applegate W.W., Baltensperger D.D., Irwin M.D., Lehman J.W. & Putnam D.H. (1990) Amaranth-Grain Production Guide. Rodale Press, Emmaus, PA.
- Weber L.E., Hubbard E.S., Nelson L.A., Putnam D.H. & Lehmann J.W. (1988). Amaranth grain production guide. Rodale, Emmaus, Pa.
- Weber L.E., Kauffman C.S., Bailey N.N. & Volak B.T. (1986) Amaranth grain production guide. (RRC/NC 86/6). Rodale Research Center, Kutztown, Pennsylvania, USA.

- Wejnerowska G., Heinrich P. & Gaca J. (2013). Separation of squalene and oil from *Amaranthus* seeds by supercritical carbon dioxide. *Separation and Purification Technology* 110: 39-43.
- Whitehead W.F., Carter J. & Singh B.P. (2002) Effect of planting date on vegetable amaranth leaf yield, plant height and gas exchange. *HortScience* 37: 773-777.
- Wibmer G.J. & O'Brien C.W. (1986) Annotated checklist of the weevils (Curculionidae *sensu lato*) of South America (Coleoptera: Curculionoidea). *Memoirs of the American Entomological Institute* 39: 1-563.
- Wilkens R.T., Shea G.O., Halbreich S. & Stamp N.E. (1996) Resource availability and the trichome defense of tomato plants. *Oecologia* 106: 181-191.
- Willet J.L. (2001) Packing characteristics of starch granules. *Cereal chemistry* 78: 64-68.
- William K.S. & Gilbert L. E. (1981) Insects as selective agents on plant vegetative morphology: Egg mimicry reduces egg laying by butterflies. *Science* 212: 467-469.
- Willmer P. (1986) Microclimatic effects on insects at the plant surface. *Insect plant surface* (Ed. B. Juniper & T.R.E. Southwood) pp. 65-80. Arnold, London.
- Wilson E.O. (2001) *The diversity of Life*. Penguin, Toronto. 432 pp.
- Wilson R.L. (1989) Studies of insects feeding on grain amaranth in the Midwest. *Journal of the Kansas Entomological Society* 62: 440-448.
- Wilson R.L. (1990) Insects and disease pests of *Amaranthus*. In: *Proceedings of the Fourth National Amaranth Symposium: Perspectives on production, processing and marketing*. University of Minnesota, St. Paul. Minnesota, pp. 163-169.
- Wright M.G. & Samways M.J. (1999) Plant characteristics determine insect borer assemblages on *Protea* species in the Cape Fynbos, and importance for conservation management. *Biodiversity and Conservation* 8: 1089-1100.
- Wright R.J. (1984) Evaluation of crop rotation for control of Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in commercial potato fields on Long Island. *Journal of Economic Entomology* 77: 254-259.
- Xia X., Li G., Liao F., Zhang F., Zheng J. & Kan J. (2014). Granular structure and physicochemical properties of starches from amaranth grain. *International Journal of Food Properties*. DOI:10.1080/10942912.2013.860168.
- Yábar-Landa E. (1987) Cuatro noctuidos dañinos a la "kiwicha" (*Amaranthus caudatus*) en Cusco. *Revista Peruana de Entomología* 30: 65-68.

- Yarnia M., Benam M. K., Tabrizi E. F. M. & Memari, F. (2010). Sowing dates and density evaluation of amaranth (cv. Koniz) as a new crop. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 8: 445-448.
- Yoshihara T., Sogawa K., Pathak M.D., Juliano B.O. & Sakamura S. (1980) Oxalic acid as a sucking inhibitor of the brown planthopper in rice (Delphacidae, Homoptera). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 27: 149–155.
- Yu S.J. (1992) Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 85: 675–682.
- Yu S.J., Nguyen S.N. & Abo-Elghar G.E. (2003) Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 77: 1–11.
- Yudin L.S., Tabashnik B.E., Cho J.J. & Mitchell W.C. (1988) Colonisation of weeds and lettuce by thrips (Thysanoptera: Thripidae). *Environmental Entomology* 17: 522-526.
- Yukawa J (2000) Synchronization of galls with host plant phenology. *Population Ecology* 42: 105–113.
- Zalucki M.P., Brower L.P. & Alonso M.A. (2001) Detrimental effects of latex and cardiac glycosides on survival and growth of first-instar monarch butterfly larvae *Danaus plexippus* feeding on the sandhill milkweed *Asclepias humistrata*. *Ecological Entomology* 26: 212-224.
- Zalucki M.P., Brower L.P. & Malcolm S.B. (1990) Oviposition by *Danaus plexippus* in relation to cardenolide content of three *Asclepias* species in the southeastern U.S.A. *Ecological Entomology* 15: 231–240.
- Zavala J.A, Patankar A.G., Gase K. & Baldwin I.T. (2004) Constitutive and inducible trypsin proteinase inhibitor production incurs large fitness costs in *Nicotiana attenuate*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101: 1607–1612.
- Zehnder C.B. & Hunter M.D. (2009) More is not necessarily better: the impact of limiting and excessive nutrients on herbivore population growth rates. *Ecological Entomology* 34: 535–543.
- Zhang H. J., Faucher C.P. Anderson A., Berna A.Z., Trowell S., Chen Q.M., Xia Q.Y. & Chyb S. (2013) Comparisons of contact chemoreception and food acceptance by larvae of polyphagous *Helicoverpa armigera* and oligophagous *Bombyx mori*. *Journal of Chemical Ecology* 39:1070-1080.

- Zhou D., Van Loon J.J.A. & Wang C.Z. (2010) Experience-based behavioral and chemosensory changes in the generalist insect herbivore *Helicoverpa armigera* exposed to two deterrent plant chemicals. *Journal of Comparative Physiology A* 196: 791-799.
- Zou J., Rogers, W.E. & Siemann E. (2008) Increased competitive ability and herbivory tolerance in the invasive plant *Sapium sebiferum*. *Biological Invasions* 10: 291–302.
- Züst T., Rasmann S. & Agrawal A.A. (2015). Growth–defense tradeoffs for two major anti-herbivore traits of the common milkweed *Asclepias syriaca*. *Oikos*. DOI: 10.1111/oik.02075.

Apéndices

1. Tablas de conversión

Tabla 1: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría expresados en porcentaje de hojas dañadas estimadas visualmente y su valor expresado en área foliar dañada. N = 30 plantas.

Cultivar	Herbivoría (% hoja dañada estimado visualmente)	Herbivoría Área foliar dañada (cm ² dañado)
Cruentus	22.46 \pm 1.17	20.74 \pm 1.08
Hyp 280	16.31 \pm 2.07	7.98 \pm 1.01
Hyp SA	24.83 \pm 1.40	9.79 \pm 0.55
Mantegazzianus	23.10 \pm 2.00	12.66 \pm 1.10
Hyp Artasa	39.90 \pm 1.63	28.62 \pm 1.17
Hyp Artasa	32.47 \pm 1.98	23.29 \pm 1.42
Hyp SA	34.14 \pm 1.40	13.46 \pm 0.55
Mantegazzianus	20.34 \pm 2.12	11.15 \pm 1.16
Cruentus	34.92 \pm 2.08	32.24 \pm 1.92
Hyp 280	31.29 \pm 2.93	15.31 \pm 1.43
Mantegazzianus	19.11 \pm 1.58	10.48 \pm 0.92
Hyp Artasa	25.56 \pm 1.36	18.33 \pm 0.98
Hyp 280	31.28 \pm 1.98	15.31 \pm 0.97
Hyp SA	30.89 \pm 1.42	12.18 \pm 0.56
Cruentus	26.75 \pm 1.70	24.70 \pm 1.57
Hyp 280	18.67 \pm 1.76	9.14 \pm 0.86
Mantegazzianus	13.14 \pm 1.49	7.20 \pm 0.82
Cruentus	18.97 \pm 1.45	17.51 \pm 1.34
Hyp Artasa	19.86 \pm 1.78	14.25 \pm 1.27
Hyp SA	21.94 \pm 1.80	8.65 \pm 0.71
Hyp SA	29.00 \pm 1.78	11.43 \pm 0.70
Cruentus	30.58 \pm 1.58	28.24 \pm 1.46
Hyp Artasa	31.22 \pm 1.78	22.40 \pm 1.28
Hyp 280	21.92 \pm 1.93	10.73 \pm 0.94
Mantegazzianus	21.17 \pm 1.70	11.60 \pm 0.93

Tabla 2: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría en tallos expresados en porcentaje de tallo dañados estimadas visualmente y su valor expresado en área de tallo dañado. N = 20 plantas.

Cultivar	Herbivoría (% tallo dañado estimado visualmente)	Herbivoría Área de tallo dañada (cm² dañado)
Cruentus	22.35 \pm 7.11	97.34 \pm 33.23
Hyp 280	52.15 \pm 8.72	70.98 \pm 10.89
Hyp SA	49.40 \pm 5,99	246.97 \pm 33.48
Mantegazzianus	4.30 \pm 1.29	38.72 \pm 11.65
Hyp Artasa	57.55 \pm 8.20	158.24 \pm 28
Hyp Artasa	71.25 \pm 7.80	349.77 \pm 44.95
Hyp SA	21.35 \pm 4.99	139.27 \pm 37.97
Mantegazzianus	16.30 \pm 5.05	135.27 \pm 38.05
Cruentus	12.50 \pm 4.38	99.75 \pm 37.83
Hyp 280	44.35 \pm 10.50	64.56 \pm 15.13
Mantegazzianus	6.35 \pm 2.98	43.83 \pm 16.23
Hyp Artasa	53.80 \pm 9.40	208.63 \pm 37.92
Hyp 280	64.95 \pm 8.27	133.99 \pm 21.67
Hyp SA	14.80 \pm 5.29	78.30 \pm 29.92
Cruentus	7.55 \pm 3.29	56.14 \pm 28.26
Hyp 280	34.04 \pm 10.29	56.12 \pm 19.06
Mantegazzianus	10.70 \pm 4.68	72 \pm 32.04
Cruentus	5.55 \pm 2.56	26.87 \pm 11.51
Hyp Artasa	35.75 \pm 8.69	124.22 \pm 33.46
Hyp SA	9.95 \pm 3.61	45.61 \pm 17.43
Hyp SA	9.15 \pm 3.53	30.15 \pm 12.98
Cruentus	4.60 \pm 2.02	21.36 \pm 9.60
Hyp Artasa	52.25 \pm 9.19	186.15 \pm 42.09
Hyp 280	16.45 \pm 6.96	20.33 \pm 8.45
Mantegazzianus	8.15 \pm 4.79	39.01 \pm 18.94

Tabla 3: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría en tallos expresados en porcentaje de tallo dañados estimados visualmente y su valor expresado en área de tallo dañado. AD = Alta densidad, BD = Baja densidad. N = 20 plantas.

Bloque	Factor A (Cultivar)	Factor B (Densidad de siembra)	Herbivoría (% tallo dañado estimado visualmente)	Herbivoría Área de tallo dañada (cm ² dañado)
1	Hyp 280	AD	51.25 \pm 7.82	92.29 \pm 13.22
1	Hyp 280	BD	61.80 \pm 7.8	143.89 \pm 18.79
1	Hyp Artasa	AD	63.5 \pm 5.7	254.03 \pm 23.61
1	Hyp Artasa	BD	54 \pm 5.60	322.19 \pm 39.33
2	Hyp 280	AD	55.9 \pm 6.45	91.26 \pm 9.94
2	Hyp 280	BD	50 \pm 5.32	140.52 \pm 15.18
2	Hyp Artasa	AD	58.75 \pm 6.54	206.32 \pm 22.96
2	Hyp Artasa	BD	56.5 \pm 3.93	302.65 \pm 17.38
3	Hyp 280	AD	66.5 \pm 6.90	121.69 \pm 14.4
3	Hyp 280	BD	77.4 \pm 3.98	223.16 \pm 18.56
3	Hyp Artasa	AD	73.8 \pm 6.58	230.63 \pm 21.64
3	Hyp Artasa	BD	58 \pm 4.03	334.9 \pm 25.32

Tabla 4: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría en tallos expresados en porcentaje de tallo dañados estimados visualmente y su valor expresado en área de tallo dañado. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. N = 20 plantas.

Bloque	Factor A (Cultivar)	Factor B (Fecha de siembra)	Herbivoría (% tallo dañado estimado visualmente)	Herbivoría Área de tallo dañada (cm ² dañado)
1	Hyp 280	S1	76 \pm 6.03	206.23 \pm 19.72
1	Hyp 280	S2	40.2 \pm 7.75	59.38 \pm 12.41
1	Hyp Artasa	S1	68.25 \pm 3.77	347.03 \pm 27.23
1	Hyp Artasa	S2	40.7 \pm 8.03	101.79 \pm 21.25
2	Hyp 280	S1	88.25 \pm 3.06	227.98 \pm 15.99
2	Hyp 280	S2	46.15 \pm 9.33	96 \pm 21.72
2	Hyp Artasa	S1	71.4 \pm 4.17	357.89 \pm 25.07
2	Hyp Artasa	S2	38.45 \pm 7.76	108.79 \pm 24.29
3	Hyp 280	S1	87 \pm 3.83	208.97 \pm 14.94
3	Hyp 280	S2	51 \pm 8.13	85.93 \pm 14.39
3	Hyp Artasa	S1	60 \pm 5.28	233.23 \pm 29.73
3	Hyp Artasa	S2	46.8 \pm 7.31	120.69 \pm 21.64

Tabla 5: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría expresados en porcentaje de hojas dañadas estimadas visualmente y su valor expresado en área foliar dañada. AD = Alta densidad, BD = Baja densidad. N = 150 hojas.

Bloque	Factor A (Cultivar)	Factor B (Densidad de siembra)	Herbivoría (% hoja dañada promedio)	Herbivoría Área foliar dañada (cm ² dañado)
1	Hyp 280	AD	24.42 \pm 2.07	11.95 \pm 1.01
1	Hyp 280	BD	19.39 \pm 1.69	9.49 \pm 0.83
1	Hyp Artasa	AD	48.91 \pm 2.95	35.08 \pm 2.11
1	Hyp Artasa	BD	40.37 \pm 2.93	28.96 \pm 2.10
2	Hyp 280	AD	25.65 \pm 2.32	12.55 \pm 1.13
2	Hyp 280	BD	16.19 \pm 1.56	7.92 \pm 0.76
2	Hyp Artasa	AD	24.63 \pm 2.34	17.67 \pm 1.68
2	Hyp Artasa	BD	49.10 \pm 3.26	35.22 \pm 2.34
3	Hyp 280	AD	23.83 \pm 1.99	11.66 \pm 0.98
3	Hyp 280	BD	26.37 \pm 2.08	12.9 \pm 1.02
3	Hyp Artasa	AD	47.34 \pm 2.79	33.96 \pm 2
3	Hyp Artasa	BD	52.31 \pm 3.02	37.52 \pm 2.17

Tabla 6: Valores promedio (\pm error estándar) de herbivoría expresados en porcentaje de hojas dañadas estimadas visualmente y su valor expresado en área foliar dañada. S1 = Siembra temprana, S2 = Siembra tardía. N = 150 plantas.

Bloque	Factor A (Cultivar)	Factor B (Fecha de siembra)	Herbivoría (% hoja dañada promedio)	Herbivoría Área foliar dañada (cm ² dañado)
1	Hyp 280	S1	21.53 \pm 1.89	10.54 \pm 0.93
1	Hyp 280	S2	20.83 \pm 1.82	10.20 \pm 0.89
1	Hyp Artasa	S1	36.61 \pm 2.77	26.26 \pm 1.99
1	Hyp Artasa	S2	26.33 \pm 2.34	18.89 \pm 1.68
2	Hyp 280	S1	22.43 \pm 1.92	10.98 \pm 0.94
2	Hyp 280	S2	23.25 \pm 2.13	11.38 \pm 1.04
2	Hyp Artasa	S1	35.40 \pm 2.65	25.39 \pm 1.90
2	Hyp Artasa	S2	40.79 \pm 2.50	29.26 \pm 1.79
3	Hyp 280	S1	18.21 \pm 1.55	8.91 \pm 0.76
3	Hyp 280	S2	19.81 \pm 1.79	9.69 \pm 0.88
3	Hyp Artasa	S1	37.7 \pm 2.59	27.04 \pm 1.85
3	Hyp Artasa	S2	38.37 \pm 2.67	27.52 \pm 1.91

2. Dieta artificial para cría de *Spodoptera frugiperda* ⁽¹⁾

- 112 g de porotos alubia molidos.
- 26 g de germen de trigo molido.
- 22.5 g de levadura de cerveza natural.
- 4.5 g de ácido ascórbico.
- 0.75 g de ácido sórbico.
- 1.5 g de nipagin.
- 1.5 ml de formaldehído al 40%.
- 30 g de agar grado alimenticio.
- 550 ml de agua destilada.

Los porotos se lavaron con agua corriente fría unos segundos, se secaron con papel y se molieron hasta obtener una pasta, a la cual se incorporó el germen de trigo y la levadura de cerveza. En otro recipiente se preparó la mezcla de conservantes (ácido ascórbico, ácido sórbico, nipagin y solución de formaldehído) con 50 ml de agua destilada a temperatura ambiente. El agar se colocó junto con 500 ml de agua destilada en un erlenmeyer donde se calentó a baño maría hasta obtener un líquido espeso. El agar líquido se incorporó luego o a la pasta formada anteriormente y se dejó enfriar la preparación antes de incorporar la mezcla de conservantes. La dieta se conservó en heladera.

⁽¹⁾ Información otorgada por el Laboratorio de Química Fina y Productos Naturales, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba.