

INTERACCION, A NIVEL DE AMINO ACIDOS, ENTRE  
EDESSA MEDITABUNDA (F) Y CULTIVARES DE VID  
(VITIS VINIFERA L.) SUSCEPTIBLE Y RESISTENTE  
A SU ATAQUE

ALMELA PONS, G. R.  
TRIGONE, S. O. <sup>1</sup>

SUMMARY

INTERACTION, AT AMINO ACIDS LEVEL, BETWEEN EDESSA MEDITABUNDA (F) AND CULTIVARS OF VITIS VINIFERA RESISTENT AND SENSIBLE TO THEIR ATTACK.

Both cultivars of *Vitis vinifera*, MALBECK (resistent) and MOSCATEL (sensible), provide more than 15 amino acids in soluble form to the feeding adults of *Edessa meditabunda*. The action of the insects influenced the free amino acid content and composition of both cultivars. Compounds more prominent and occurring free were, aspartic, glutamic and gamma-aminobutyric acids, alanine, leucine(s) valine and phenylalanine and, in addition to MOSCATEL, the amides glutamine and asparagine.

The level of free amino acids in insects non-feeding on grape leaves were the largest one, and that feeding on MOSCATEL were the smaller. Arginine contributed most to soluble amino acids of nonfeeding insects, while glutamic acid, glutamine, alanine, arginine and methionine, all in roughly equal amount, were prominent in those feeding on MALBECK. In the MOSCATEL feeding insects, besides glutamic acid, glutamine and alanine, proline was also prominent.

The size of the insoluble amino acid pool of adult feed on MOSCATEL was 50% smaller than those feed on MALBECK and non-feeding. In these last two, the amount of phenylalanine was in second place after leucine(s), while in the first, phenylalanine run in fourth place.

The implications of the interaction, plant-parasite are discussed in relation to the amino acid compositions.

INTRODUCCION

Los daños que las diferentes especies de *Hemiptera* (chinchas de las plantas) ocasionan en los cultivos hortícolas, frutales y viñedos, resultan de importancia para la economía agrícola de Men-

<sup>1</sup> Ings. Agrs. Prof. Tit. de Terapéutica Vegetal y Prof. Adj. de Fisiología Vegetal, respectivamente. Fac. Ciencias Agrarias.

doza (2). El control químico, con productos clorados o fosforados, se emplea usualmente sin tomar en consideración la existencia de microhimenópteros, dípteros y otros señalados como hiperparásitos.

MALLEA, MÁCOLA y GARCÍA, S. (11), en ensayos realizados a campo y en laboratorio, comprobaron la preferencia de ninfas neonatas e imágos de *Edessa meditabunda*, por los cultivares de vid, MOSCATEL, CRIOLLA GRANDE, TORRONTÉS y CEREZA, y la poca o nada preferencia por MALBECK, al que prácticamente no atacaban.

Lógicamente, las plantas parasitadas sirven como fuente de alimentación a los insectos. Además de los requerimientos nutricionales comunes, e.g., agua, sales minerales y compuestos orgánicos diversos, las plantas proveen a los insectos, los denominados factores de crecimiento accesorios y amino ácidos esenciales (5).

Basado en el trabajo de MALLEA, MÁCOLA y GARCÍA S. (11 l. c.), el presente tuvo por objeto estudiar, a nivel del metabolismo de los amino ácidos, la interacción que se pudiera establecer entre parásito-planta (preferida o rechazada por el insecto). El entendimiento de dichas interacciones, puede arrojar luz en la búsqueda de factores que dificultan o favorecen la acción parasitaria, para un uso más científico de las técnicas terapéuticas. Este estudio muestra, por un lado, la variación de la composición aminada soluble e insoluble de imágos de *Edessa meditabunda* (alquiche chico) alimentados sobre brotes de *Vitis vinifera* cv. MOSCATEL (preferido o susceptible) y cv. MALBECK (no-preferido o resistente), y por otro, la variación que sufre la composición aminada soluble de los brotes de tales cultivares, cuando sirven de alimento a estos insectos.

#### MATERIAL Y METODO

Muestras tomadas al azar, de más de 200 ejemplares adultos de *Edessa meditabunda* (F) (*Hemiptera Pentatomidae*), sobre *Baccharis sp.* (Chilca), fueron recolectadas a mediados de marzo, en terrenos de la Facultad de Ciencias Agrarias, en Chacras de Coria. Las mismas se dispusieron en jaulas entomológicas —humedad relativa 70% y 21 ± 4°C— manteniéndolas 24 horas sin alimentación (hambreadas). Al cabo de ese tiempo se retiraron 25 ejemplares para determinar su peso fresco, y fijarlas luego en etanol 96%, para analizar su composición aminada. Ese mismo día se ex-

trajo, de la colección ampelográfica de la misma Facultad, brotes terminales de *Vitis vinifera*, cultivares MALBECK y MOSCATEL, que incluían 7 hojas, a contar del ápice. Tales brotes así preparados, fueron divididos en 3 lotes por cultivar (6 brotes cada lote). Uno de ellos se destinó para el análisis inmediato de amino ácidos solubles; otro se colocó, con sus bases sumergidas en agua, en las respectivas jaulas (3 repeticiones por cultivar), y sobre sus hojas se dispusieron 25 ejemplares. El tercer lote se preparó como el anterior, pero no recibió insectos. Al cabo de 48 horas se retiró de las jaulas el material de ensayo, separando y registrando el número de insectos muertos, para ser procesado analíticamente.

Los amino ácidos solubles en etanol (libres) y aquellos liberados por hidrólisis ácida del residuo insoluble en alcohol (ligados) fueron extraídos, purificados, separados por cromatografía bi-direccional sobre papel, y determinados cuantitativamente por espectrofotometría, de acuerdo al método seguido por THOMPSON y STEWARD (14). Los datos se presentan en forma de histograma, expresados en microgramos o miligramos de amino ácido (soluble e insoluble, respectivamente) por gramo de peso fresco de tejido.

## RESULTADOS

Al momento de retirar los insectos, al cabo de las 48 horas, se comprobó que, de aquellos colocados sobre brotes de MALBECK, el 7% no estaba fijado a ellos y el 60% había muerto, i. e., sobrevivió el 33%. De los colocados sobre MOSCATEL, el 17% no estaba fijado y tan sólo murió el 10%, i. e., sobrevivió el 73%. El peso fresco medio registrado por ejemplar, según tratamiento, fue el siguiente:

Sin alimentar por 24 horas .....	95+ 3 mg
Después de alimentados por 48 horas sobre MALBECK	145+ 9 mg
Después de alimentados por 48 horas sobre MOSCATEL	140+ 8 mg
Muertos durante el tratamiento sobre MALBECK .....	45+ 2 mg

Vale decir, se obtuvieron resultados similares a los de MALLEA et al. (l. c.).

*Variación de la composición aminada en brotes.* En la fig. 1 puede apreciarse la variedad de compuestos nitrogenados libres

que proveen los brotes de cada cultivar. Al cabo de 48 horas de haber sido separados de las plantas madres —como era de esperar en brotes así obtenidos (4)— se produjo un incremento en el tamaño de este compartimiento, que fue del orden del 25% en MALBECK y del 110% en MOSCATEL. Tal aumento no sólo afectó a la mayoría de los amino ácidos, sino que provocó la desaparición de algunos compuestos y la aparición de otros.

Los brotes atacados por los insectos experimentaron una reducción en el tamaño del compartimiento aminado soluble, con respecto al testigo no atacado, que fue del orden del 32% en MALBECK y del 14% en MOSCATEL. La acción de los parásitos no sólo ejerció un efecto cuantitativo de disminución en el contenido de la mayoría de los compuestos, sino que también alteró su composición cualitativa.

*Variación de la composición aminada soluble en los insectos.* La fig. 2-A muestra que, a excepción de los insectos muertos, aquellos hambreados por 24 horas, son los que presentan el mayor contenido de amino ácidos solubles totales. Estos decrecen en un 30% en los ejemplares alimentados sobre MALBECK, y en un 50% en los que lo hicieron sobre MOSCATEL. Según variantes, se destacan por su contenido sobre MOSCATEL. Según variantes, se destacan por su contenido, arginina, ácido glutámico, glutamina, metionina, alanina o prolina.

*Variación de la composición aminada insoluble en los insectos.* La fig. 2-B, muestra la existencia de mayor contenido de amino ácidos ligados (principalmente formando parte de la proteína global) en los insectos hambreados, y en los alimentados sobre MALBECK, a diferencia de los alimentados sobre MOSCATEL, que presentan un tamaño de compartimiento aminado insoluble, inferior en un 50%. Algunos compuestos como treonina y metionina (sulfóxido) no forman parte de la fracción proteica de los ejemplares hambreados; y prolina se encuentra en cantidades trazas en los alimentados sobre MALBECK. Mientras en estas dos variantes, los amino ácidos más prominentes fueron leucina(s) y fenilalanina, en los alimentados sobre MOSCATEL lo fueron leucina(s) y ácido aspártico.

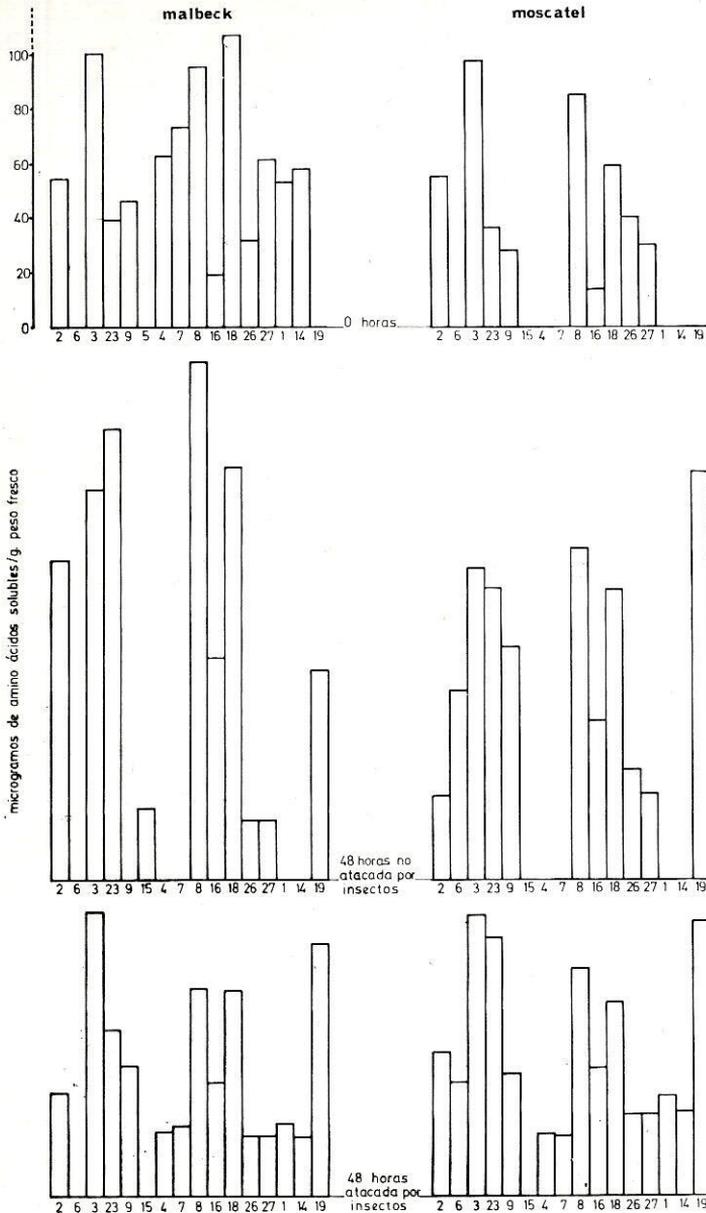


Fig. 1 Variación de la composición de amino ácidos y amidas libres en brotes de *Vitis vinifera* cv. MALBECK y cv. MOSCATEL, en el momento de separarlos de las plantas madres (0 horas), a las 48 horas, y después de 48 horas de servir como alimento a adultos de *Edessa meditabunda*. (1: cisteína, (como ácido cistéico); 2: ácido aspártico; 3: ácido glutámico; 4: serina; 6: asparagina; 7: treonina; 8: alanina; 9: glutamina; 14: metionina; 15: prolina; 16: valina; 18: leucina(s) (leucina + isoleucina); 19: fenilalanina; 23: ácido gamma-aminobutírico; 26: ácido pipercolico; 27: ácido hidroxipipercolico).

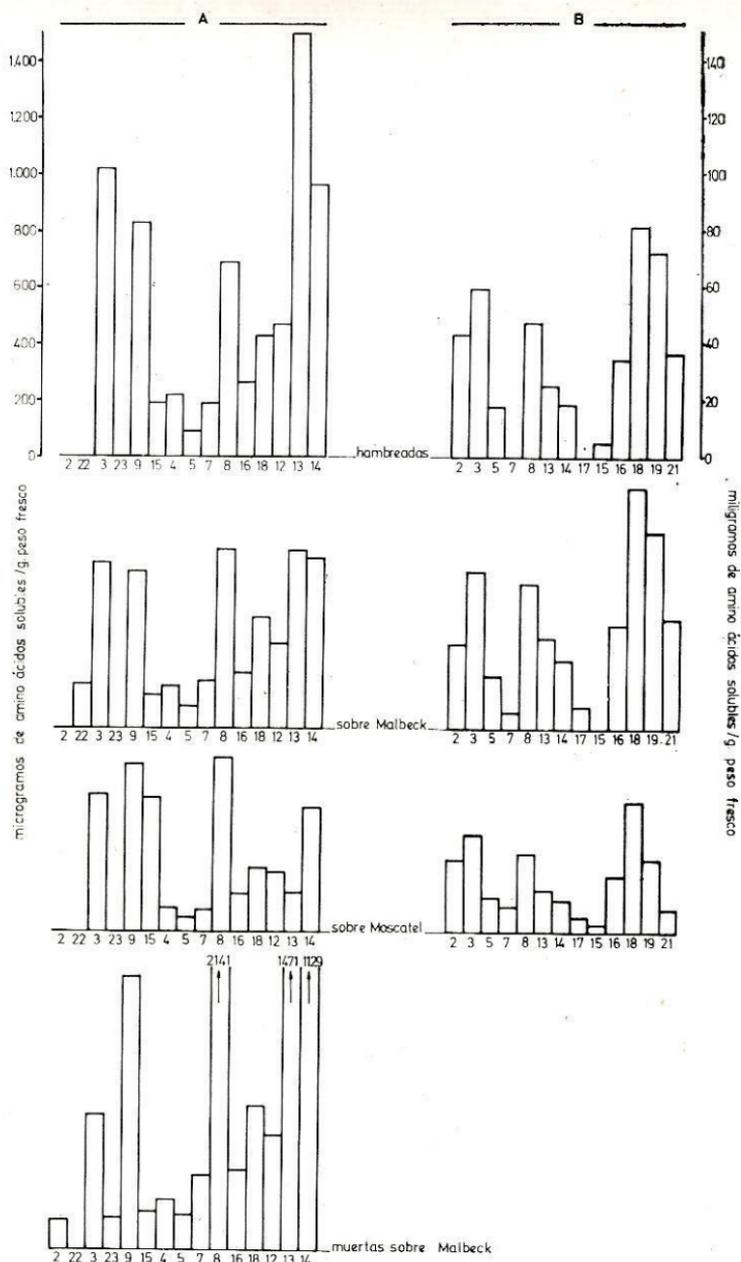


Fig. 2 Variación de la composición aminada soluble (A), e insoluble (B), de ejemplares adultos de *Edessa mediatubunda* hambreados por 24 horas, alimentados sobre MALBECK y sobre MOSCATEL durante 48 horas, y muertos (en la variante sobre MALBECK). (2: ácido aspártico; 3: ácido glutámico; 4: serina; 5: glicina; 7: treonina; 8: alfa-alanina; 9: glutamina; 12: lisina; 13: arginina; 14: metionina; 15: prolina; 16: valina; 17: metionina (sulfóxido); 18: leucina(s); 19: fenilalanina; 21: tiro-sina; 22: beta-alanina). Notar diferencia de escalas: amino ácidos solubles, en microgramos / g P.F.; amino ácidos insolubles, en miligramos / g P.F.

## DISCUSION

Los amino ácidos libres y ligados, y el peso fresco de los insectos, fueron afectados por las diferentes fuentes alimenticias, las cuales a su vez, también sufrieron cambios en sus complementos aminados solubles. Este hecho coincide con lo encontrado por otros autores, en otras especies vegetales, con diferentes insectos (6).

A pesar de que, prácticamente, no se conocen los requerimientos nutricionales de *Edessa mediatubunda*, se sabe que en la mayoría de los insectos los amino ácidos ingeridos son rápidamente absorbidos por el intestino y utilizados (3, 5); que en la fracción nitrogenada no proteica de la linfa de los insectos, del 50% al 85% se encuentra en forma de amino ácidos libres (1). Para la mayoría de los insectos ha sido establecido (8) que los requerimientos de amino ácidos en su dieta, son los mismos diez que resultan esenciales para otros animales, i. e., arginina, histidina, lisina, triptofano, treonina, valina, metionina, leucina, isoleucina y fenilalanina, además de otros requeridos específicamente.

Dada la apreciable cantidad de metionina encontrada, tanto en la fase soluble como en la insoluble, este amino ácido azufrado y agente metilante, puede ser de significancia para el crecimiento en esta especie.

Aunque el contenido de lisina y arginina, en ambas fases aminadas, no refleje las fuentes alimenticias, es lógico suponer que el insecto los adquiere a partir de ellas, junto con el jugo succionado, en forma, p. e., de proteínas solubles. Por otra parte, dichos compuestos han sido suficientemente citados para vid (10, 12, 15, 16), y como los amino ácidos cambian cíclicamente (9), los parásitos deben recibir una dieta, de estos compuestos, continuamente cambiante.

Las diferencias señaladas en la composición aminada soluble de los brotes atacados por insectos puede interpretarse, por un lado, desde el punto de vista cuantitativo, debido al volumen de jugo que succionan los parásitos, cuyo peso fresco se incrementa en más del 50%; y por otro, desde el punto de vista metabólico, motivado por la acción de la saliva que inyectan, a través de su pico o rincho, en el acto de succión (5). Dicha saliva puede actuar sobre la traslación de los metabolitos libres (17), y alterar así su composición; puede inhibir o estimular muchas reacciones catalizadas por enzimas (7); o, en fin, puede inducir la síntesis de un compuesto

tóxico para el insecto, en forma similar como ocurre con ciertos microorganismos (13). En este sentido es útil recordar el diverso grado de mortalidad encontrado entre los ejemplares alimentados sobre MALBECK y sobre MOSCATEL (la disminución de peso de los individuos muertos no indica, que en algún momento durante el ensayo, no hayan succionado).

¿Cómo interpretar la preferencia de *Edessa meditabunda* por el cv. MOSCATEL en relación a MALBECK? La respuesta, evidentemente, no es nada sencilla. La natural reacción de la planta hacia el parásito, determina su resistencia o susceptibilidad, y en el proceso pueden estar involucrados muy diversos factores y mecanismos, e. g., existencia de sustancias volátiles atractantes, presencia o formación de amino ácidos de configuración D, que actúan como antimetabolitos; mecanismos de derrepresión de la actividad de genes (13); etc.

Igualmente difícil resulta explicar tal preferencia, en base a la composición aminada. Sin embargo, los modelos de distribución cuali-cuantitativos de los complementos aminados soluble e insoluble, muy similares entre los insectos hambreados y los alimentados sobre MALBECK, parecen tener algo que ver con el problema planteado. Como durante el ensayo no se observó la presencia de excrementos, lo cual podría haber incidido sobre el balance nitrogenado, es permisible considerar que el contenido de amino ácidos totales (soluble + insoluble) de los insectos hambreados, es el normal. Además, éste guarda una cierta correspondencia con el contenido de nitrógeno total (aquel que da reacción con ninhidrina y el que no la dá). Si asumimos que la cantidad de nitrógeno —cualquiera sea su forma— es la misma en las tres variantes analizadas, entonces la diferencia debe radicar en la calidad de los compuestos nitrogenados, i. e. en los que no dan reacción con ninhidrina. Se podría pensar que aquellos ejemplares alimentados sobre MOSCATEL, poseen un tipo de proteína con un número de recambio alto, lo cual traería como consecuencia la activación de rutas metabólicas, que desviarían parte de esos metabolitos hacia la síntesis de compuestos nitrogenados no -protéicos, pero biológicamente importantes. El caso contrario se operaría en ejemplares hambreados o alimentados sobre MALBECK, donde el nitrógeno se canalizaría más hacia la síntesis de un tipo de proteína con bajo número de recambio.

Este trabajo ha mostrado tan sólo una pequeña faceta de las interacciones que se presentan entre planta y parásito. Es evidente que son necesarios más estudios en este campo de la investigación, para poder aplicar más inteligentemente los modernos principios de la terapéutica vegetal.

#### RESUMEN

Ambos cultivares de *Vitis vinifera*, MALBECK (resistente) y MOSCATEL (susceptible), proveen más de 15 amino ácidos en forma soluble a los adultos de *Edessa mediotubunda*, que sobre ellos se alimentan. La acción de los insectos influyó el contenido y composición de amino ácidos libres de ambos cultivares. Los compuestos más prominentes que se encontraron libres fueron los ácidos aspártico, glutámico y gamma-aminobutírico, alanina, leucina(s), valina y fenilalanina y, además en MOSCATEL, las amidas glutamina y asparagina.

El nivel de amino ácidos en insectos no alimentados sobre hojas de vid, fue el mayor, mientras que en aquellos alimentados sobre MOSCATEL resultó menor. Arginina fue el compuesto que más contribuyó en el compartimiento aminado soluble de los insectos hambreados, mientras que el ácido glutámico, glutamina, alanina, arginina y metionina, todos en aproximadamente igual concentración, fueron prominentes en aquellos alimentados sobre MALBECK. En los insectos sobre MOSCATEL, además de ácido glutámico, glutamina y alanina, también se destacó prolina.

El tamaño del compartimiento aminado insoluble de adultos alimentados sobre MOSCATEL, fue 50% más pequeño que el de aquellos hambreados, o alimentados sobre MALBECK. En éstos dos últimos, el contenido de fenilalanina se ubicó en segundo lugar después de leucina(s), mientras que en los primeros, fenilalanina ocupó el cuarto lugar.

Las implicaciones de la interacción, planta-parásito, se discute en relación a las composiciones aminadas.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. FRANCISCO DE LA IGLESIA, de la Cátedra de Viti cultura, por su amabilidad en proveer el material vegetal. A los señores H. MORALES y A. C. GUZMÁN, de la Cátedra de Fisiología Vegetal, por asistencia técnica.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — BUCK, J. B. 1953. Physical properties and chemical composition of insect blood. En: *Insect Physiology*. Ed. por K. D. ROEDER; J. WILEY & SONS, Inc. New York, pp. 147-190.
- 2 — Cátedra de Zoología Agrícola, Fac. C. Agrarias (Mza.). 1972. Las chinches de las plantas. *Diario Los Andes* (Mza.), 4 de abril.
- 3 — CHEFURKA, W. 1965. Intermediary metabolism of nitrogenous and lipid compounds in insects. En: *The Physiology of Insecta*. Ed. por M. ROCKSTEIN. 2: 669 - 768. Acad. Press, N. Y.
- 4 — CHIBNALL, A. C. 1939. Protein Metabolism in the Plant. Yale Univ. Press. New Haven, 306 pp.
- 5 — DAY, M. F. and WATERHOUSE, D. F. 1953. Functions of the alimentary system. En: *Insect Physiology*. Ed. por K. D. ROEDER, pp. 299 - 310.
- 6 — DURZAN, D. J. and LOPUSHANSKY, S. M. 1968. Free and bound amino acids of Spruce budworm feeding on Balsam Fir and white Spruce. *J. Insect Physiol.* 14: 1485 - 1497.
- 7 — GARCÍA, I.; TIXIER, M. et ROCHE, J. 1956. Dégradation L-amino-acide-oxidasique de la L-arginine chez les insectes aux divers stades de leurs métamorphoses. *C. R. Soc. Biol.*, París, 150: 468 - 470.
- 8 — GILMOUR, D. 1961. Biochemistry of Insects. Acad. Press, N. Y.
- 9 — KIEWER, W. M. 1967. Annual cyclic changes in the concentration of free amino acids in grapevines. *Amer. Jour. Enol. Vitic* 18 (3): 126-137.
- 10 — — — — — and NASSAR, A. R. 1966. Changes in concentration of organic acid, sugars, and amino acids in grape leaves. *Ibid.* 17 (1): 48 - 57.
- 11 — MALLEA, A. R.; MÁCOLA, G. S. y J. G. GARCÍA SÁEZ. 1969. Susceptibilidad de distintas variedades de *Vitis vinifera* L. al ataque de *Edessa mediabunda* (F) (*Hemiptera Pentatomidae*). *Rev. Fac. C. Agrarias (Mza.)* 15 (1): 90 - 95.
- 12 — NASSAR, A. R. and KIEWER, W.M. 1966. Free amino acids in various parts of *Vitis vinifera* at different stages of development. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 89: 281 - 294.
- 13 — SCHWOCHAU, M. E. and L. E. HADWIGER. 1970. Induced host resistance — a hypothesis derived from studies of phytoalexin production. *Recent Advances in Phytochemistry.* 3: 181 - 189.
- 14 — THOMPSON, J. F. and STEWARD, F. C. 1951. Investigations of nitrogen metabolism in plant. *Plant Physiol.* 26: 421-440.
- 15 — TRIONE, S. O. 1969. Cambios en la composición de los compartimientos nitrogenados soluble e insoluble del pericarpio y semilla de la vid desde antes a maduración. *Phyton.* 26 (2): 135-150.
- 16 — — — — — y GUZMÁN, A. C. Algunas diferencias químico-fisiológicas asociadas a los estados juvenil y adulto de la vid (*Vitis vinifera* L.). *REV. FAC. C. AGRARIAS* (este volumen).
- 17 — YARWOOD, C. E. 1967. Response to parasites. *ANN. REV. P. PHYSIOL.* 18: 419 - 438.