

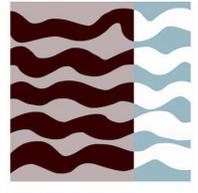


Universidad
Politécnica
de Cartagena



UPCT

Escuela Técnica Superior de
Ingeniería Agronómica



ETSIA

*Grado en Ingeniería Agroalimentaria
y de Sistemas Biológicos*

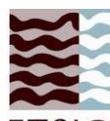
Estrategia de protección vegetal
contra el pulgón del melocotonero resistente a
insecticidas

Autor: D. Juan José Castro Saura

Dirección: D. Pablo Bielza Lino

Codirección: D. Carolina Grávalos Riesco

Cartagena, enero de 2020



Declaración de Honestidad Académica

El alumno D. **Juan José Castro Saura**, con DNI **23951703D**,

como autor del TFE de título **Estrategia de protección vegetal contral el pulgón del melocotonero resistente a insecticidas**

dirigido por D. **Pablo Bielza Lino**

para la obtención del título

- Grado en Ingeniería Agroalimentaria y de Sistemas Biológicos
- Máster Universitario en Ingeniería Agronómica
- Máster Universitario en Técnicas Avanzadas en Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario

DECLARA:

- Que el mencionado TFE es íntegramente de su autoría.
- Que se trata de un trabajo original e inédito en el que no existe plagio.
- Que en todo momento se respeta la propiedad intelectual y en ningún caso se han utilizado como propios resultados ni materiales obtenidos o generados por otros autores.
- Que los resultados y materiales realizados por otros autores han sido debidamente identificados en la memoria.
- Que se ha aplicado al texto íntegro del TFE el control antiplagio que establece la *Normativa de Trabajos Fin de Estudios en la ETSIA*, y acompaña esta declaración de las páginas primera y última del informe obtenido de Turnitin a través de Aul@Virtual.
- Qué los directores del TFE conocen y han dado el visto bueno a los resultados del control antiplagio y, en su caso, han informado en la forma que indica el documento *Política de Calidad y Código de Buenas Prácticas*.

Y para que así conste, firma la presente declaración en,

Cartagena, a 13 de enero de 2020

Fdo. **Juan José Castro Saura**

Estrategia de protección vegetal contra el pulgón del melocotonero resistente a insecticidas

por JUAN JOSÉ CASTRO SAURA

Fecha de entrega: 13-ene-2020 11:14a.m. (UTC+0100)

Identificador de la entrega: 1240772731

Nombre del archivo:

43068_JUAN_JOSÉ_CASTRO_SAURA_Estrategia_de_protección_vegetal_contra_el_pulgón_del_melocotonero_resistente_a_insecticidas_218620_2035508864.docx
(6.65M)

Total de palabras: 12937

Total de caracteres: 74690

Estrategia de protección vegetal contra el pulgón del melocotonero resistente a insecticidas

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.scribd.com

Fuente de Internet

1%

2

www.seea.es

Fuente de Internet

<1%

3

Submitted to Universitas Negeri Jakarta

Trabajo del estudiante

<1%

4

Submitted to Unviersidad de Granada

Trabajo del estudiante

<1%

5

repositorio.upct.es

Fuente de Internet

<1%

6

revistabiociencias.uan.edu.mx

Fuente de Internet

<1%

7

www.researchgate.net

Fuente de Internet

<1%

8

Submitted to Universidad del Rosario

Trabajo del estudiante

<1%

9

herramientas.educa.madrid.org

Fuente de Internet

<1%

10

fly-fishing.key-best-fishing.com

Fuente de Internet

<1%

11

hdl.handle.net

Fuente de Internet

<1%

12

chil.me

Fuente de Internet

<1%

13

Submitted to Instituto Politecnico Nacional

Trabajo del estudiante

<1%

14

agronomoglobal.blogspot.com

Fuente de Internet

Índice

1. Introducción	pág. 3
1.1. El pulgón verde del melocotonero (<i>Myzus persicae</i> , Sulzer)	pág. 3
1.1.1. Taxonomía	pág. 3
1.1.2. Descripción morfológica	pág. 3
1.1.3. Ciclo biológico en pulgones	pág. 5
1.1.3.1. Tipos de holociclos en pulgón.....	pág. 6
1.1.3.2. Ciclo biológico de <i>M. persicae</i>	pág. 8
1.1.4. Hospedantes	pág. 9
1.1.5. Sintomatología y daños	pág. 9
1.2. Métodos de control	pág. 11
1.2.1. Control cultural y medidas preventivas	pág. 11
1.2.2. Control biológico mediante enemigos naturales	pág. 12
1.2.3. Control químico	pág. 15
1.2.3.1. Materias activas objeto de proyecto	pág. 17
1.3. Resistencia a insecticidas	pág. 18
1.3.1. Concepto de resistencia	pág. 18
1.3.2. Evolución de la resistencia en insectos y factores de los que depende	pág. 19
1.3.3. Mecanismos de resistencia y tipos	pág. 20
1.3.4. Resistencia a insecticidas y a neonicotinoides en <i>M. persicae</i>	pág. 22
2. Objetivos	pág. 23
3. Materiales y métodos	pág. 24
3.1. Poblaciones de <i>M. persicae</i> utilizadas y su procedencia	pág. 24
3.2. Cría y mantenimiento de las poblaciones	pág. 25
3.3. Tanteo y cálculo de la dosis subletal de imidacloprid (CL10)	pág. 27
3.3.1. Materiales utilizados	pág. 27
3.3.2. Preparación de las dosis de imidacloprid y elaboración del PBO	pág. 28
3.3.3. Bioensayos de tanteo por contacto e ingestión (bioensayo mixto)	pág. 29
3.3.4. Cálculo de la dosis subletal (CL10)	pág. 31
3.4. Puestas y conteo de la longevidad/fertilidad	pág. 32
4. Resultados y discusión	pág. 33
4.1. Bioensayos para la obtención de CL10	pág. 33
4.2. Resultados del conteo de los parámetros longevidad y fertilidad	pág. 34
5. Conclusiones. Informe técnico	pág. 38

6. Bibliografía consultada	pág. 38
7. Anexos	pág. 41

Índices de tablas y figuras

Índice de figuras

Figura 1. Ninfa de <i>M. persicae</i> con muda de su exoesqueleto a la derecha	pág. 4
Figura 2. Adulto áptero de <i>M. persicae</i>	pág. 4
Figura 3. Adulto alado de <i>M. persicae</i>	pág. 5
Figura 4. Ciclo biológico holocíclico monoico en pulgones	pág. 6
Figura 5. Ciclo biológico holocíclico dioico en pulgones	pág. 7
Figura 6. Ciclo biológico anholocíclico en pulgones	pág. 8
Figura 7. Comportamiento biológico de <i>M. persicae</i>	pág. 9
Figura 8. Enrollamiento, abarquillamiento y amarilleamiento de las hojas debido a la alimentación de <i>M. persicae</i> en pimiento	pág. 10
Figura 9. Presencia de melaza a lo largo de casi la totalidad de la superficie foliar	pág. 11
Figura 10. Individuo de <i>M. persicae</i> post-parasitado y momificado	pág. 15
Figura 11. Clasificación del modo de acción correspondiente a imidacloprid según IRAC ..	pág. 18
Figura 12. Cambios fisiológicos y de conducta relacionados con la resistencia a insecticidas en una población plaga	pág. 21
Figura 13. Estrategia provisional para el manejo de la resistencia a neonicotinoides en <i>M. persicae</i>	pág. 23
Figura 14. Material vegetal utilizado	pág. 25
Figura 15. Jaula de malla anti-trips utilizada para la cría con sus respectivas medidas	pág. 26
Figura 16. Medidas de caja y tapa utilizadas en la realización de los bioensayos pertinentes	pág. 27
Figura 17. Aplicación del gelificante en las cajas de polipropileno (izquierda) y resultado final de la caja (derecha)	pág. 27

Figura 18. Materias activas utilizadas, siendo imidacloprid (izquierda) y PBO (derecha) ...	pág. 28
Figura 19. Elaboración de las distintas dosis de imidacloprid en el interior de la cámara de extracción de gases	pág. 29
Figura 20. Tratamiento foliar de imidacloprid por inmersión de la hoja en la dosis de insecticida correspondiente, método “leaf dip”	pág. 30
Figura 21. Recorte de la hoja de pimiento de forma circular (izquierda) y deposición de la misma en el interior de la caja de polipropileno (derecha)	pág. 30
Figura 22. Deposición de pulgones en el interior de la caja de polipropileno mediante uso de pincel (arriba) y bioensayos realizados tanto en población sensible (abajo, izquierda) como en población resistente (abajo, derecha) con distintas dosis de imidacloprid	pág. 31
Figura 23. Fenómeno de hormesis representado en gráfica de inhibición/estimulación frente a dosis de producto aplicado	pág. 36
Figura 24. Fecundidad de <i>M. persicae</i> expuesto a varias dosis de imidacloprid según Yu et al (2010)	pág. 37
Figura 25. Respuesta hormética después de 24 horas para los niveles de JH III en <i>M. persicae</i> expuesto a imidacloprid según Yu et al (2010)	pág. 37

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía correspondiente a <i>M. persicae</i>	pág. 3
Tabla 2. Formulados existentes actualmente registrados por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación para la lucha contra <i>M. persicae</i>	pág. 16
Tabla 3. Poblaciones de <i>M. persicae</i> utilizadas en el desarrollo del proyecto, procedencia, nivel de resistencia a imidacloprid y hospedante primario en el que se encontró	pág. 24
Tabla 4. Ejemplo de estadillo utilizado en el seguimiento y conteo de la longevidad y fertilidad de cada individuo en las poblaciones objeto	pág. 33
Tabla 5. Dosis CL10 y límites fiduciales obtenidos para las poblaciones SS MU y K02-3	pág. 33
Tabla 6. Resultados del conteo de la longevidad y la fertilidad en las poblaciones SS MU y K02-3 para cada uno de los tratamientos realizados	pág. 34

Resumen

Myzus persicae, conocido como el pulgón verde del melocotonero, es una plaga de gran importancia mundial debido a que su presencia afecta a diversos cultivos tanto leñosos, como hortícolas y ornamentales, ya sea de forma directa o indirecta. Poblaciones de esta especie han desarrollado recientemente resistencia a neonicotinoides por medio de una mutación en el punto de acción (mutación R81T). Sin embargo, nuestra hipótesis es que además de este mecanismo de resistencia, deben tener una cierta resistencia metabólica que reduzca los efectos subletales de los tratamientos con neonicotinoides. Por tanto, el uso de un inhibidor de esta resistencia metabólica, como el butóxido de piperonilo (PBO), permitiría retrasar el desarrollo de las poblaciones resistentes al reducir su capacidad reproductora.

Para comprobarlo se llevaron a cabo distintos tratamientos con el neonicotinoide imidacloprid y éste en mezcla con PBO tanto en una población sensible como en una resistente de *M. persicae*, con el fin de conocer las características biológicas (fertilidad y longevidad) de tales poblaciones.

En la población sensible se cumplió lo previsto observándose un efecto subletal del imidacloprid a dosis bajas, siendo potenciada tal acción al suministrar el sinergista afectando a la longevidad y fertilidad del insecto. Sin embargo, en la población resistente no se cumplió dicha hipótesis, ya que se observaron efectos de hormesis al tratar con imidacloprid (con y sin PBO) en la longevidad total y sospechándose en la longevidad de adulto y en la fertilidad solo cuando se suministra PBO. Este hecho nos llevó a una recomendación técnica desfavorable para el uso del sinergista cuando se sospeche de la presencia de individuos resistentes, ya que se puede ver estimulada la reproducción de los mismos facilitando el desarrollo de resistencias.

Abstract

Myzus persicae, known as the green peach aphid, is a pest of great global importance because its presence affects various woody, horticultural and ornamental crops, either directly or indirectly. Populations of this species have recently developed resistance to neonicotinoids by means of a mutation at the point of action (R81T mutation). However, our hypothesis is that in addition to this resistance mechanism, they must have some metabolic resistance that reduces the sublethal effects of neonicotinoid treatments. Therefore, the use of an inhibitor of this metabolic resistance, such as piperonyl butoxide (PBO), would delay the development of resistant populations by reducing their reproductive capacity.

To verify this, different treatments were carried out with the neonicotinoid imidacloprid, alone and in mixture with PBO in both a susceptible and a resistant population of *M. persicae*, in order to know the biological characteristics (fertility and longevity) of such populations.

In the susceptible population, the expected sublethal effect of imidacloprid was observed, and this action was enhanced by supplying the synergist affecting the longevity and fertility of the insect. However, this hypothesis was not met in the resistant population, as hormesis effects were observed when applying imidacloprid (with and without PBO) on total longevity, and on adult longevity and fertility only when PBO was supplied. This fact led us to an unfavourable technical recommendation for the use of the synergist when the presence of resistant individuals is suspected, since their reproduction can be stimulated facilitating the development of resistances.

1. Introducción

1.1. El pulgón verde del melocotonero (*Myzus persicae*, Sulzer)

1.1.1. Taxonomía

M. persicae, igualmente conocido como el pulgón verde del melocotonero, es un homóptero perteneciente a la familia *Aphididae* el cual se encuentra considerablemente distribuido por todo el mundo, considerándose una importante especie invasora. La taxonomía perteneciente a este insecto se corresponde con la citada a continuación (Tabla 1):

Tabla 1. Taxonomía correspondiente a *M. persicae*.

Reino	<i>Metazoa</i>
Subreino	<i>Eumetazoa</i>
Rama	<i>Bilateria</i>
Grado	<i>Coelomata</i>
Serie	<i>Protostomia</i>
Phylum	<i>Arthropoda</i>
Subphylum	<i>Mandibulata</i>
Clase	<i>Insecta</i> (Linnaeus, 1758)
Subclase	<i>Pterygota</i>
División	<i>Exopterygota (Hemimetabola)</i>
Orden	<i>Hemiptera</i>
Suborden	<i>Sternorrhyncha</i>
Superfamilia	<i>Aphidoidea</i>
Familia	<i>Aphididae</i>
Subfamilia	<i>Aphidinae</i>
Género	<i>Myzus</i>
Especie	<i>M. persicae</i> (Sulzer, 1766)

1.1.2. Descripción morfológica

En este apartado distinguimos entre individuos ápteros (término el cual hace referencia a la ausencia de alas en los insectos) e individuos alados. En ambas partes se han comentado las diferencias existentes tanto al estado ninfal como al estado adulto de *M. persicae*.

Individuos ápteros

Ninfa. Como podemos apreciar en la Figura 1, es generalmente verde-amarillenta y de coloración uniforme, aunque pueden verse otras tonalidades como son el verde o el rosa. Presentan forma redondeada, siendo destacables algunas manchas oscuras apreciables a lo largo del cuerpo del insecto al igual que sus ojos rojos oscuros.



Figura 1. Ninfa de *M. persicae* con muda de su exoesqueleto a la derecha. Fuente propia.

Adulto. Acorde a la Figura 2, podemos observar que su cuerpo es de forma generalmente ovalada, de tamaño mediano (1,2 a 2,3 mm), siendo de un color verde amarillento con presencia de manchas negras longitudinales, aunque a veces se aprecian tonalidades rosadas. Presenta tórax y abdomen juntos. En su cabeza posee ojos rojos, un aparato bucal chupador - picador y antenas largas alcanzando hasta los 1,8 mm (prácticamente casi la misma longitud que el cuerpo), de un color claro en su base, oscureciéndose de forma gradual hacia el extremo y las cuales se dividen en seis artejos. Las patas son claras a excepción de las articulaciones y los extremos, que presentan un color más oscuro. Con respecto a los cornículos o sifones son cilíndricos, presentando la misma coloración que el cuerpo, exceptuando el extremo que es de color oscuro. Son relativamente largos (alrededor de unos 0,5 mm) y se encuentran ligeramente hinchados en su parte mitad apical. La cauda o cola es subtriangular, más corta que los sifones (Llorens Climent, 1990).



Figura 2. Adulto áptero de *M. persicae*. Fuente propia.

Individuos alados

Ninfa. De coloración variable, pudiendo ser amarillas, verdes o incluso de color rosado, pudiendo llegar a presentar manchas negras en el abdomen. No presenta diferencias morfológicas significativas con respecto a las ninfas de ápteras, pero estas destacan por la presencia de vestigios alares en ambas partes de la zona dorsal y por la futura formación de alas al llegar al estado adulto.

Adulto. Presenta una forma menos ovalada y un tamaño menor a los adultos ápteros (oscilando entre los 1,2 y 2,1 mm). Su cabeza y tórax son de color marrón o negro, mientras que el abdomen es generalmente de color verde (pudiendo tener a veces otra coloración) destacando en él una mancha negra en la parte dorsal. Las antenas son algo más largas que el cuerpo, de coloración oscura y encontrándose divididas en seis artejos, siendo la base del tercer segmento de un color claro. Las patas son claras (aunque con una tonalidad más oscura que en adultos ápteros) a excepción de las articulaciones y los extremos, que poseen un color más oscuro (Figura 3). La cauda o cola es corta y triangular, al igual que los adultos ápteros y sus ojos son de color rojo oscuro (Llorens Climent, 1990).



Figura 3. Adulto alado de *M. persicae*. Fuente propia.

1.1.3. Ciclo biológico en pulgones

La biología de un pulgón presenta generalmente un ciclo o desarrollo anual en el que incluye diversas formas morfológicas (polimorfismo) que podemos resumir en tres categorías principales: la fundadora (presente durante un breve periodo en primavera), las hembras

partenogenéticas, las cuales se dividen en fundatrígenas, virginógenas y sexúparas (cuya presencia ocupará gran parte del ciclo biológico del insecto) y por último los individuos anfigónicos, en los que pueden verse tanto machos como hembras, siendo esta la última generación del ciclo que concluirá la actividad estacional de la especie mediante la puesta del huevo de resistencia o huevo invernante, el cual está completamente adaptado al frío (Barbagallo et al, 1998). A esta secuencia biológica se le denomina de forma concreta holociclo.

1.1.3.1. Tipos de holociclos en pulgón

Holociclo monoico. El caso más simple y frecuente, en el cual todas las generaciones del ciclo se desarrollan sobre una misma planta huésped. En primavera, nace la fundadora del huevo invernante (o resistente) el cual fue depositado el anterior otoño (Barbagallo et al, 1998). De ella descende una serie de generaciones de fundatrígenas (partenogenéticas vivíparas) tanto ápteras como aladas, siendo en otoño cuando las sexúparas darán lugar a los anfigónicos, cuyas hembras depositarán el huevo invernante, completándose y reiniciándose así el ciclo (Figura 4).

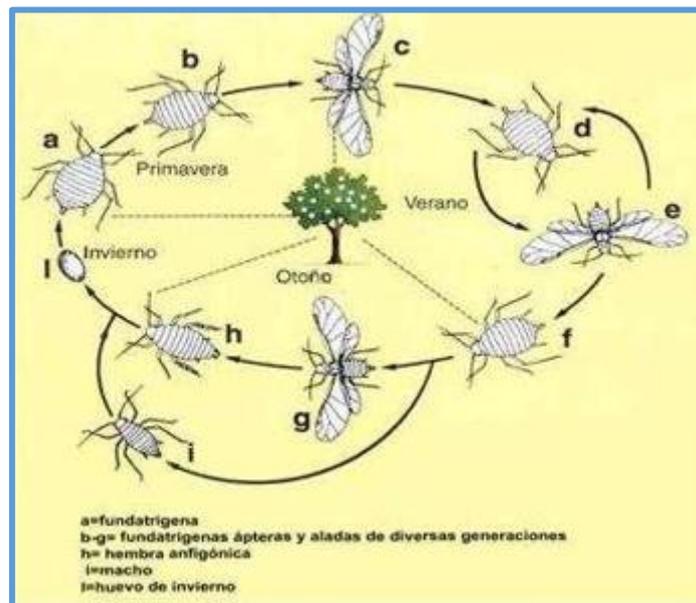


Figura 4. Ciclo biológico holocíclico monoico en pulgones. Fuente: Barbagallo et al, 1998.

Holociclo dioico. Es el caso de los pulgones que utilizan dos plantas huésped diferentes para desarrollar su ciclo biológico. De este modo habrá un huésped primario (planta en la cual nace la fundadora) y un huésped secundario, sobre el que se desarrollan las generaciones estivales. En el huésped primario la fundadora dará lugar a diversas generaciones de fundatrígenas el cual será abandonado por las formas aladas que migrarán al huésped secundario. Sobre éste se desarrollarán distintas generaciones hasta dar lugar a las sexúparas ginóparas y los machos (al inicio del otoño), ambos alados y reinmigrantes (Barbagallo et al, 1998). Será aquí cuando las

gínóparas aladas migren al huésped primario para dar lugar a las hembras anfigónicas que, al alcanzar el estado adulto, se acoplarán con los machos depositando el huevo invernante en el huésped primario, reiniciando de este modo el ciclo (Figura 5).

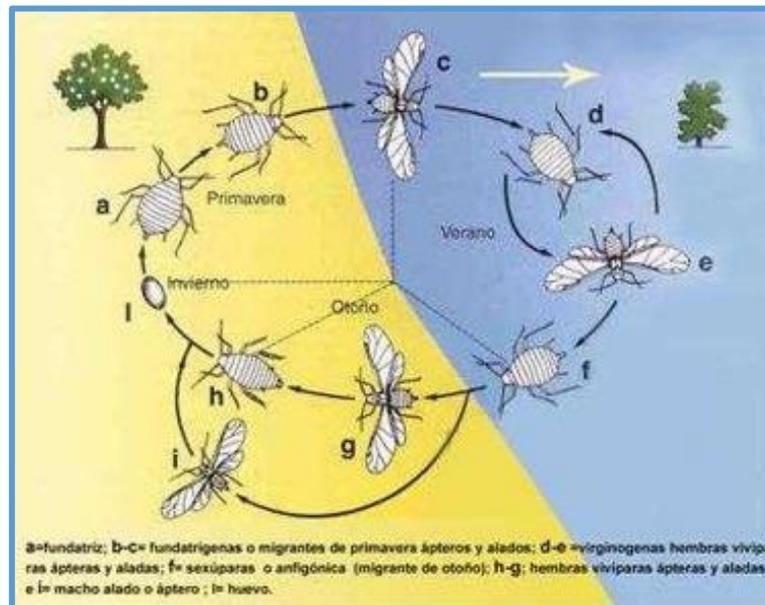


Figura 5. Ciclo biológico holocíclico dioico en pulgones. Fuente: Barbagallo et al, 1998.

Anholociclo. Un pulgón se considera anholocíclico cuando presenta un ciclo biológico incompleto, a causa de la ausencia de los individuos anfigónicos que, en consecuencia, provoca la falta tanto del huevo invernante como de la posterior fundadora en primavera (Figura 6). Puede apreciarse tanto en climas cálidos (de tipo mediterráneo, subtropical y tropical) como en climas templados y fríos (si este se encuentra adecuadamente protegido) y representa una característica adaptativa muy beneficiosa para el pulgón (Barbagallo et al, 1998). Este comportamiento biológico se ve influenciado por tres factores:

- Por las condiciones ambientales, y las circunstancias específicas en las que se desarrolla la población. Este es el caso de *M. persicae* (pulgón verde del melocotonero), insecto que generalmente es holocíclico, pero puede llegar a ser anholocíclico según las condiciones a las que se encuentre sometido.
- Biotipos, diferenciación de líneas genéticas que pueden llegar a ser estables, en cierto modo, con el tiempo. En este caso el pulgón puede llegar hasta perder la generación anfigónica, convirtiéndose en un anholocíclico obligado, como es el caso de *Toxoptera aurantii* (pulgón marrón de los cítricos).
- Ausencia de huésped primario, en este caso el pulgón adopta un anholociclo permanente sobre el huésped secundario, como ocurre con *Eriosoma lanigerum* (pulgón lanífero del manzano). En este caso, la supervivencia de las poblaciones en climas con fuertes inviernos

está garantizada, por el desplazamiento de los individuos a otras partes de la planta más adecuadas.

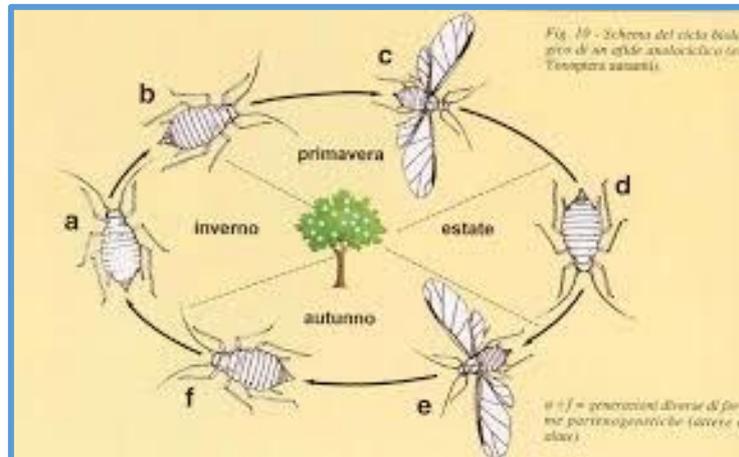


Figura 6. Ciclo biológico anholocíclico en pulgones. Fuente: Barbagallo et al, 1998.

1.1.3.2. Ciclo biológico de *M. persicae*

Generalmente es una especie que muestra un comportamiento biológico holocíclico dioico, es decir, hace uso de dos plantas hospedantes para completar su ciclo (Figura 7). Como hospedante primario utiliza especies del género *Prunus* (en especial el melocotonero) y como hospedante secundario especies herbáceas (como son solanáceas, crucíferas, compuestas gramíneas...).

A finales de verano aparecen sexúparas aladas que durante el otoño emigran al melocotonero, dando lugar en éste a las hembras sexuales. Estas una vez fecundadas por los machos depositan los huevos en las axilas de las yemas, los cuales eclosionarán en invierno (punto donde se inicia el ciclo) dando lugar a las fundadoras ápteras. Estas pueden tener hasta tres generaciones, todas ellas ápteras, pero será a finales de primavera cuando emerjan nuevos individuos alados, que serán los que emigren hacia el huésped secundario haciendo desaparecer la infestación del huésped primario. A veces, la migración no es completa y la colonia de *M. persicae* puede permanecer sobre el melocotonero (huésped primario) durante toda la estación favorable (Llorens Climent, 1990).

Sobre el huésped secundario se producirán sucesivas generaciones de virginóparas (ápteras o aladas) que alcanzan su máximo poblacional alrededor de junio-julio para continuar su descendencia. Llegado el otoño aparecerá la generación sexúpara que dará lugar a los individuos anfígónicos (andróparas y ginóparas aladas) produciéndose la migración de las ginóparas al hospedante primario en el cual producirán hembras sexuales. Por otro lado, las andróparas producen machos alados en el hospedante secundario los cuales retornan al primario para

acoplarse con las hembras sexuadas, depositando de esta forma huevos (de 4 a 10) a finales de otoño que eclosionarán de nuevo en invierno, repitiéndose así el ciclo (De Liñán et al, 1998).

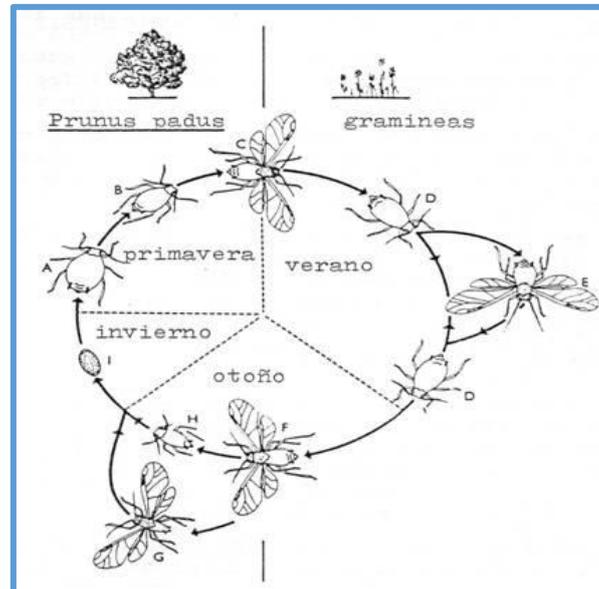


Figura 7. Comportamiento biológico de *M. persicae*. Fuente: ocvus.us.es

1.1.4. Hospedantes

El melocotonero es su huésped primario preferido, aunque puede infestar también otros *Prunus*, como son el albaricoquero, el nectarino, el ciruelo, el almendro... además de algunas especies pertenecientes a la familia *Rosaceae*. Como hospedantes secundarios presenta una gran cantidad de especies, aproximadamente unas 500, en las que destacan especies herbáceas (como gramíneas, solanáceas, crucíferas, compuestas, labiadas...), y en menor medida plantas espontáneas y cultivadas. También se incluyen en este apartado algunas plantas leñosas, tales como los cítricos.

1.1.5. Sintomatología y daños

M. persicae es una especie muy polífaga, la cual puede producir un amplio abanico de daños, ya sean de tipo directo o indirecto.

Daños directos. Tal y como puede verse en la Figura 8, las picaduras de este insecto al alimentarse producen vistosos enrollamientos, abarquillamientos y deformaciones en hojas, brotes y flores, acompañado a su vez de un amarilleamiento en hojas (tomando éstas a veces una coloración rosada) y un incorrecto desarrollo de los brotes (De Liñán et al, 1998).

Además de esta sintomatología podemos apreciar un claro debilitamiento de la planta (con la consiguiente reducción del arbolado), debido a la extracción de nutrientes del floema por la

alimentación del pulgón, frutos descoloridos con presencia de áreas deprimidas en los mismos, retraso en la maduración de yemas y como consecuencia, la caída prematura de botones florales, y en el caso de que el ataque fuese severo, marchitamiento general e incluso muerte de la planta.

La sintomatología continúa incluso cuando los pulgones han abandonado la planta, y los daños siempre son mayores en hospedantes secundarios.



Figura 8. Enrollamiento, abarquillamiento y amarilleamiento de las hojas debido a la alimentación de *M. persicae* en pimiento. Fuente propia.

Daños indirectos. La disminución de la fotosíntesis es un importante daño indirecto producido por este insecto. Los pulgones deben tomar cantidades de savia considerables para adquirir proteínas suficientes para su óptimo desarrollo, excretando posteriormente el exceso de azúcar (procedente de la savia) en forma de melaza (Figura 9), la cual es depositada tanto en el haz como en el envés de las hojas. Este fenómeno favorece el desarrollo de hongos tales como como la negrilla, *Cladosporium spp.*, que al ocupar gran parte de la superficie foliar desencadena una reducción fotosintética en la planta por falta de sol y, en consecuencia, provoca un descenso de la producción, ya que también afecta al desarrollo de diferentes órganos y frutos.



Figura 9. Presencia de melaza a lo largo de casi la totalidad de la superficie foliar. Fuente propia.

De igual manera y como principal daño indirecto, cabe destacar que *M. persicae* es uno de los grandes transmisores de virus, quizás el mayor, teniendo registradas más de 100 virosis tanto en hortalizas (como patata y remolacha) como en diversos frutales, encontrándose entre estas especies gran número de virus persistentes. De los muchos virus que este insecto transmite poseen especial mención el *CMV* (virus del mosaico del pepino), el *PVY* (virus del mosaico de la patata), el *WMV-II* (virus del mosaico de la sandía) y el *ZYMV* (virus del mosaico amarillo del calabacín). Cabe mencionar otros virus de igual importancia como son el virus de la tristeza de los cítricos (*CTV*) o la sharka (*Plum Pox Virus*).

1.2. Métodos de control

La estrategia de lucha contra *M. persicae* se debe basar en tres aspectos fundamentales:

- La detección temprana de la plaga con el fin de intervenir cuanto antes en su erradicación.
- Estar atentos y respetar al máximo la presencia de enemigos naturales para no disminuir su número poblacional.
- No aplicar productos químicos cuando la plaga comience a descender por acción de organismos benéficos y/o naturales, ya que de esta forma reducimos muchísimo tanto el impacto que causan los diferentes productos al óptimo desarrollo de la planta (en el caso que estos se utilicen) como el impacto ambiental que causan estos mismo a gran escala.

Generalmente podemos distinguir tres tipos de control, cultural, químico y biológico.

1.2.1. Control cultural y medidas preventivas

En el control cultural de áfidos es común la utilización de trampas cromotrópicas amarillas para monitorear las poblaciones. El monitoreo es fundamental en el manejo de cualquier plaga, pues

con ello se sabe con certeza cuando es necesario realizar aplicaciones de insecticidas o de enemigos naturales. Las trampas y bandejas amarillas con agua captan la atención y atraen las formas aladas, lo que sirve de ayuda en el rastreo de las primeras infestaciones de la plaga, apoyando de esta forma la detención del inicio de su propagación.

En cultivos hortícolas conviene evitar la transmisión de virosis mediante la eliminación de malas hierbas, restos de cultivos (ya que la plaga puede utilizarlos como refugio) y plantas con presencia de síntomas víricos, arrancando dichas plantas y realizando su posterior quema controlada para asegurar su erradicación. Es decir, no es solo prevenir, si no actuar una vez el pulgón se haya instalado en la planta.

En invernaderos, una medida de control bastante efectiva es la colocación de mallas en las distintas aberturas existentes (tanto cenitales, laterales como en puertas) vigilando y controlando el estado de las mismas (cerciorándose de que no haya deterioro ni roturas), sobretodo de las que convergen con la orientación de los vientos dominantes (por la presencia de adultos alados). Además, para mayor seguridad pueden colocarse en las entradas una doble puerta, o en el caso en el que no pueda instalarse, una puerta y a continuación una malla de igual densidad a la puerta exterior (mínimo 10 x 20 hilos/cm²).

Con respecto a medidas preventivas destacamos la utilización de un material vegetal que cumpla con los requisitos de sanidad exigidos y procedente de viveros o semilleros certificados, proteger las primeras fases vegetativas de las plantas (ya que en este punto son muy sensibles al ataque de plagas y enfermedades), así como realizar las rotaciones pertinentes al cultivo que se posea. Además, el abono debe de ser equilibrado evitando el exceso de nitrógeno, para eludir el exceso de vigor y, en el caso que se desee aplicar estiércol, comprobar que este esté bien fermentado y libre de plagas (Almacellas et al, 2011).

1.2.2. Control biológico mediante enemigos naturales

El control biológico o lucha biológica, también denominada lucha natural, consiste en la destrucción de los insectos dañinos de los cultivos mediante la acción de otros, llamados enemigos naturales o insectos beneficiosos, que viven y se alimentan exclusivamente de aquellos (Carrero, 1996), siendo por tanto estos enemigos naturales (fauna auxiliar o fauna beneficio) los agentes encargados de llevar a cabo este proceso de control frente a las distintas plagas.

El grupo de enemigos naturales existentes y en relación con *M. persicae* es muy amplio y variado, aunque principalmente podemos diferenciarlos por su forma de actuación en dos grandes grupos:

Depredadores. Organismos que necesitan nutrirse de varios huéspedes (siempre más de uno) para poder desarrollarse hasta su estado de madurez.

Parasitoides. Aquellos organismos que solo necesitan de un huésped para completar su desarrollo y cuya acción provoca la muerte del mismo, semejando a los depredadores que matan e ingieren a su presa (Carrero, 1996).

Entre los insectos depredadores destacamos las siguientes familias:

Familia *Chrysopidae*. Las especies pertenecientes a esta familia (*Chrysoperla carnea*, *Chrysopa formosa*...) son considerados depredadores generales debido a su variada alimentación. Han sido objeto de estudio principalmente por ser agentes de control de áfidos y ciertos lepidópteros a nivel mundial, con buenos resultados.

Como principal ejemplo dentro de esta familia tenemos a *Chrysoperla carnea*. Este insecto presenta tres estadios larvarios muy voraces teniendo como método de actuación la penetración de su aparato bucal (en forma de mandíbulas) en la presa succionando el contenido de la misma. De estos estadios mencionados destacamos la larva de tercer grado, ya que puede llegar a depredar el 80% del total de presas ingeridas en todo su ciclo, convirtiéndose por este motivo en uno de los depredadores generalistas más importantes de pulgón. Además, en ausencia de áfidos este insecto es capaz de sobrevivir, ya que puede alimentarse de otras especies tales como trips, mosca blanca, ácaros e incluso lepidópteros de pequeño tamaño.

Familia *Coccinellidae*. Las especies pertenecientes a esta familia (*Coccinella septempunctata*, *Adalia bipunctata*, *Hippodamia variegata*...) son de los enemigos naturales más conocidos, considerándose depredadores generalistas, ya que tanto adultos como larvas presentan una alimentación variada, alimentándose principalmente de áfidos, mosca blanca, cochinillas y ácaros, además de hongos en algunos casos. Cuando las presas escasean, consumen huevos de mariposas y abejones, larvas de otros insectos, trips, frutas, polen y néctar de las flores, pudiendo llegar a ser incluso caníbales en el peor de los casos.

Un ejemplo representativo de esta familia es *Coccinella septempunctata*, insecto el cual ha sido utilizado con éxito en el control biológico de pulgones, principalmente en Europa y Asia, ya que reúne una serie de características que le hacen ser un buen agente de control biológico, como son su alta capacidad depredadora, su buena adaptación a diversos climas y la gran capacidad

del adulto de sobrevivir en tiempos de escasez de presas. En *Coccinella septempunctata* el estadio activo el cual lleva a cabo la depredación es el larvario, que desde su inicio comienza la búsqueda de presas, siendo capaz de desplazarse a distancias considerables para llegar a las mismas. Solamente la larva puede llegar a consumir hasta 43 pulgones por día y hasta 1000 pulgones durante su desarrollo, lo que significa un alto porcentaje de presas en la totalidad de su ciclo biológico de ahí su gran eficacia.

Familia Cecidomyiidae. Se trata de una de las familias de dípteros más diversas, ya que se han descrito al menos 265 especies en toda la península, de las cuales unas pocas especies presentan una dieta zoófaga depredando fundamentalmente pulgones y/o ácaros, además de otros pequeños artrópodos. Dentro de esta familia son fundamentalmente dos especies las que poseen interés en el control biológico del pulgón, *Aphidoletes aphidimyza* y *Feltiella acarisuga*.

Centrándonos en *Aphidoletes aphidimyza*, cabe destacar que es un eficaz e importante depredador de pulgones, ya que lleva utilizándose en sueltas en invernaderos españoles desde hace más de 40 años. Se ha hallado depredando a más de 60 especies diferentes (como el pulgón verde del melocotonero, el pulgón verde del naranjo y el pulgón negro del haba entre otras) siendo *M. persicae* la presa cumbre de este insecto. El éxito de esta especie con respecto al control biológico de *M. persicae* se debe a diversas cualidades tales como su fácil y económica producción en masa, su fácil transporte y distribución (debido a la resistencia de las pupas), por la capacidad en los individuos adultos de sortear largas distancias volando hasta localizar plantas infestadas por pulgones y, por último y más importante, que su ingesta de presas esté ligada a la densidad poblacional de las mismas, es decir, cuanto más grande sea la población de pulgón más número de presas habrá y por tanto más presas podrá ingerir (Casado et al, 2015).

Con respecto a los parasitoides más eficaces en la lucha biológica contra *M. persicae* destacamos las siguientes familias:

Familia Braconidae. Las especies de esta familia (*Aphidius matricariae*, *Aphidius ervi*, *Aphidius colemani*, *Lysiphlebus testaceipes*, *Diaretiella rapae*...) son utilizadas ampliamente y con éxito en el control biológico de áfidos, mayoritariamente, y en el de larvas del orden Lepidoptera y Coleoptera (Gutiérrez-Ramírez et al, 2013). Son pequeñas avispas de color oscuro con algunas tonalidades amarillentas las cuales están clasificadas como endoparásitos de pulgones, siendo su método de actuación la inserción del huevo parasitoide dentro del huésped que, al desarrollarse y completar su ciclo biológico, emerge por la parte posterior del abdomen quedando el pulgón totalmente momificado como puede apreciarse en la Figura 10.



Figura 10. Individuo de *M. persicae* post-parasitado y momificado. Fuente propia.

Familia Aphelinidae. Son avispas más pequeñas en comparación con las pertenecientes a la familia *Braconidae*, siendo estas de 1 mm de tamaño aproximadamente y aparentemente más redondas, debido a que poseen el abdomen más recogido. Son endoparásitos, al igual que los descritos en la anterior familia, por lo que su método de actuación es idéntico. Las especies más comunes utilizadas en el control biológico contra *M. persicae* correspondientes a esta familia son las pertenecientes a *Aphelinus spp.* y *Mesidia spp.*

1.2.3. Control químico

En la lucha contra cualquier plaga se deben manejar siempre dos tipos de conocimientos, científicos y técnicos. Por un lado, los conocimientos científicos se refieren fundamentalmente al conocimiento del cultivo y de la plaga objeto de estudio, por otro lado, los conocimientos técnicos hacen referencia a la experiencia acumulada. Manejando ambas partes podemos llegar a determinar si es preciso hacer un tratamiento, cuándo debemos realizarlo y en qué forma debe ser ejecutado. Además, en el caso de los pulgones, debemos de tener en cuenta tanto la variedad y el estado fenológico del cultivo a proteger como la especie del pulgón que se encuentre sobre el cultivo afectado.

Las poblaciones de pulgón siguen la distribución de Gauss (distribución en campana), es decir, aparecen unos pocos individuos que con el tiempo alcanzan un máximo poblacional y a partir de este la población disminuye considerablemente, hasta incluso a veces desaparecer. Cuando las poblaciones de pulgón son incipientes será el momento adecuado de actuar con insecticidas para así frenar la expansión de la plaga eliminando a su vez un número mínimo de parásitos y depredadores naturales (De Liñán et al, 1998).

Los aficidas existentes en el mercado tienen dos formas básicas de actuación, por contacto y por ingestión:

Aficidas de contacto. Hacen su efecto por medio de un rocío o baño sobre el pulgón y deben aplicarse antes de que las poblaciones se protejan (bien en enrollamientos de la hoja, con cubiertas de cera, formando agallas...), por lo que estos se aplicarán cuando las poblaciones sean incipientes.

Aficidas por ingestión. Estos se dividen en dos tipos, translaminares y sistémicos. Los translaminares penetran en las células parenquimáticas de las hojas (no llegándose a incorporar en el sistema circulatorio de la savia) de las cuales se alimentan los pulgones, y los sistémicos son los que se incorporan en el sistema circulatorio de la savia, al contrario que los translaminares, actuando cuando son ingeridos por el insecto.

En la tabla mostrada a continuación (Tabla 2) podemos observar algunos de los formulados existentes actualmente registrados por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación aptos para la lucha contra el pulgón verde del melocotonero:

Tabla 2. Formulados existentes actualmente registrados por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación para la lucha contra *M. persicae*.

Formulado existente	Nombres comerciales	Clasificación del MdA según IRAC (2019)	Titular
ACETAMIPRID 20%	CARNADINE	4A	NUFARM ESPAÑA, S.A.
ALFA CIPERMETRIN 10%	FASTAC, DOMINEX-10, AVANGUARD	3A	BASF ESPAÑOLA S.L.U. y LEEDS LIFESCIENCE, LTD.
DELTAMETRIN 2,5%	DECIS EVO	3A	BAYER CROPSCIENCE, S.L.
IMIDACLOPRID 20%	COURAZE	4A	FMC Agricultural Solutions, S.A.U.
IMIDACLOPRID 70%	COURAZE 70 WG	4A	FMC Agricultural Solutions, S.A.U.
MALATION 44%	AQUAFIN, SMART EW, AQUAFIN EW	1B	FMC Agricultural Solutions, S.A.U.
METOMILO 20%	LANNATE SL, DUPONT LANNATE 20SL	1A	DU PONT IBERICA, S.L.
PIRETRINAS 4,65% (como extracto de pelitre)	CORDIAL EXTRA	3A	COPYR S.p.A.
PIRETRINAS 2%	PIRECRIS	3A	SEIPASA S.A.
SULFOXAFLOX 12%	CLOSER	4C	DOW AGROSCIENCES IBERICA, S.A.
SPIROTETRAMAT 15%	MOVENTO 150 O-TEQ	23	BAYER CROPSCIENCE, S.L.

1.2.3.1. Materias activas objeto de proyecto

Imidacloprid. Es un neonicotinoide el cual fue diseñado por Bayer en 1988 cuya comercialización comenzó en 1991. Este posee una actividad insecticida vía sistémica actuando tanto por contacto como por ingestión para el control de especies con presencia de aparato bucal chupador en diversos cultivos (como áfidos, moscas blancas, y algunos insectos masticadores), pudiendo ser absorbido tanto por vía radical como por vía foliar además de poder utilizarlo en aspersión foliar y en el suelo.

Tiene un largo efecto residual. En el suelo, a pesar de su alta solubilidad en agua, se le considera prácticamente inmóvil (efecto prolongado), llegando a alcanzar entre los 45-65 días de persistencia en el mismo. En el caso en el que la aplicación sea foliar su efecto residual es corto, llegando a alcanzar los 15-21 días. La degradación de este químico se lleva a cabo mediante la luz solar y la acción microbiana.

Actúa como agonístico (sustancias con capacidad de asociarse a un receptor celular y provocar una respuesta en la célula con el fin de alentar una función) sobre el receptor nicotínico de la acetilcolina del sistema central, paralizando la conducción nerviosa del insecto al provocar alteraciones en los receptores de la acetilcolina en las membranas del mismo. Esta activación y el consiguiente bloqueo es lo que provoca la muerte de los insectos, debido a que por parálisis estos son incapaces de alimentarse. Este mecanismo posibilita un óptimo control sobre distintas plagas, especialmente de aquellas que poseen resistencias hacia productos convencionales, pudiendo además evitar de forma indirecta la transmisión de virus y los distintos daños producidos por estos insectos.

Según la *Insecticide Resistance Action Committee* (IRAC, 2019) (Figura 11) esta materia activa está catalogada y registrada dentro del grupo 4 Moduladores competitivos del receptor nicotínico de la acetilcolina.

Clasificación del modo de acción - IRAC España		
Fisiología: ■ Nervioso y muscular		
Grupo principal/ Punto de acción primario	Subgrupo químico o materia activa representativa	Materias activas con registro en España
1. Inhibidores de la acetilcolinesterasa. Sistema nervioso	1A Carbamatos	Formetanato, metiocarb, metomilo, oxamilo, pirimicarb.
	1B Organofosforados	Clorpirifos, dimetoato, etoprofós, fenamifós, fosmet, fostiazato, malatión, metil-clorpirifos, metil-pirimifós.
3. Moduladores del canal de sodio. Sistema nervioso	3A Piretroides Piretrinas	Acrinatrín, alfa-cipermetrín, betaciflutrín, cipermetrín, deltametrín, esfenvalerato, etofenprox, teflutrín, lambda-cihalotrin, tau-fluvalinato, zeta-cipermetrín. Piretrinas.
4. Moduladores competitivos del receptor nicotínico de la acetilcolina. Sistema nervioso *(Ver nota a pie de tabla)	4A Neonicotinoides	Acetamiprid, clotianidina, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam.
	4C Sulfoximinas	Sulfoxaflor.
	4D Butenolides	(Flupiradifurona).
* Nota: 4A, 4C & 4D Aunque se cree que estos compuestos tienen el mismo punto de acción, los conocimientos actuales indican que el riesgo de resistencia cruzada metabólica entre subgrupos es bajo.		

Figura 11. Clasificación del modo de acción correspondiente a imidacloprid según IRAC. Fuente: IRAC.

Butóxido de piperonilo (PBO). Derivado del metilendioxi-benceno, es el sinérgico más usado en la actualidad, siendo su descubrimiento a mediados de la década de 1940 en Estados Unidos, época en la que se hallaron muchos compuestos biocidas que cambiaron la manera de ejercer el control sobre plagas.

Este se encuentra catalogado como agente sinérgico ya que actúa inhibiendo las enzimas oxidativas que degradan los compuestos insecticidas, permitiendo a estos alcanzar sus puntos de ataque sin detoxificación por las defensas naturales de los organismos. De esta manera, las materias activas plaguicidas permanecen más tiempo en el organismo a eliminar.

Se degrada en el suelo y en el agua mediante oxidación dando como producto final CO₂, siendo su vida media (en condiciones de suelo aerobio) unos 14 días aproximadamente. En suelos arenosos este presenta cierta movilidad, aunque no llega a lixiviarse ya que su degradación se completa antes de dicho fenómeno.

1.3. Resistencia a insecticidas

1.3.1. Concepto de resistencia

Según IRAC (2019), la resistencia a insecticidas o acaricidas se define como un cambio hereditario en la sensibilidad de una población de insectos la cual es provocada por el fracaso repetido de un insecticida (con el fin de alcanzar un nivel adecuado de control químico) cuando éste es usado conforme a las recomendaciones plasmadas en la etiqueta indicada para la plaga

objetivo. Como resultado de dicha acción, propia de el “uso abusivo” o “mal uso” de un mismo insecticida, prevalece la selección de formas resistentes dentro de la población y la consiguiente evolución de la misma hacia la adquisición de una resistencia a ese insecticida o acaricida. De esta manera, los insectos resistentes, los cuales se aparean dejando descendencia también resistente, se vuelven predominantes en la población, originando de esta forma una pérdida de efectividad en el tratamiento y provocando a su vez la apelación a otro insecticida con distinto modo de acción, si este se encuentra debidamente registrado y disponible.

La composición genética de las plagas unida al uso continuado e intensivo de insecticidas son las principales causas de la acelerada evolución de la resistencia a insecticidas y acaricidas en la mayoría de insectos y ácaros.

1.3.2. Evolución de la resistencia en insectos y factores de los que depende

La selección natural facilita a algunos insectos pre-adaptados con genes de resistencia sobrevivir a los tratamientos con insecticida y transmitir genéticamente esa característica a su descendencia. Este aspecto, junto a la aplicación repetida de insecticidas con el mismo modo de acción (MdA), ocasiona que la multiplicación los individuos resistentes continúe y aumente mientras que en el caso de los individuos sensibles se dé el caso contrario, siendo estos eliminados por el insecticida. El resultado de dicha situación concluirá con el aumento del número poblacional de los individuos resistentes volviéndose el insecticida inoperante. La velocidad con que se desenvuelve la resistencia en una plaga depende de varios factores:

- De la velocidad de reproducción de la plaga.
- De la capacidad de migración que posea la especie y el rango disponible de plantas hospedantes para la plaga.
- De la disponibilidad de poblaciones sensibles próximas.
- De la velocidad a la que evolucionen las mutaciones.
- De la persistencia y la especificidad del producto fitosanitario al igual que la tasa de aplicaciones que se empleen de dicho producto (número de aplicaciones y momento en las que se realizan).
- De las exposiciones a dosis subtóxicas, inferiores a las plasmadas en la etiqueta del producto utilizado.

Cabe mencionar que esta resistencia progresa mucho más en invernaderos debido a la reproducción de la plaga, a la escasa o nula migración de individuos sensibles y a la aplicación

de insecticidas con frecuencia, creando de este modo un entorno favorable para el desarrollo de dicha resistencia en la población.

1.3.3. Mecanismos de resistencia y tipos

A continuación, se citarán los distintos mecanismos de resistencia existentes según la *Food and Agriculture Organization* (FAO, 2012):

Desintoxicación metabólica. Es el mecanismo más común de resistencia, el cual está basado en sistemas enzimáticos que los insectos desarrollan con el fin de detoxificar las toxinas que se generan de forma natural tanto en las plantas hospedantes donde habitan como en el interior del insecto. Estos sistemas incluyen esterasas, mono-oxigenasas citocromo P450, y S-transferasas glutatión.

La resistencia metabólica puede variar desde una resistencia específica a un compuesto hasta a resistencia general de un amplio número de compuestos. De igual modo, el nivel de resistencia del insecto puede oscilar entre niveles muy bajos a niveles muy altos, y puede variar de un producto a otro. En cualquier caso, el resultado sería el mismo, los insectos resistentes pueden desintoxicar el plaguicida antes de que el este los mate, además de destruir la toxina más rápido que los susceptibles.

Sensibilidad reducida en el sitio de acción. La clave de este mecanismo es la modificación del sitio donde se fija el insecticida en el insecto. De esta manera, el plaguicida es incapaz de acoplarse al mismo provocando una reducción significativa o la total eliminación de la efectividad del producto. Existen cuatro categorías generales de resistencia en el sitio de acción en los insectos:

- ***kdr* (resistencia de choque)**, que interfiere con el canal de sodio en las células nerviosas. Este es un mecanismo comúnmente usado para la resistencia al DDT y a los piretroides.
- ***MACE* (acetilcolinesterasa modificada)**, que actúa cambiando la estructura de la acetilcolinesterasa de manera que esta no se vea afectada más por el insecticida.
- ***Rdl* (resistencia al dieldrin)**, punto de mutación que reduce la fijación del dieldrin al receptor GABA.
- **La resistencia *Bt***, la cual ocurre mediante la pérdida de cadherina (moléculas glucoproteínicas encargadas de la adhesión celular) asegurando de este modo la fijación de las células dentro de los tejidos del insecto.

Penetración reducida del insecticida. Este mecanismo reduce la penetración del insecticida a través de la cutícula de los insectos resistentes debido a la formación de barreras que retardan la penetración del producto. Este mecanismo de por sí solo presenta bajos niveles de resistencia, sin embargo, actúa de manera sinérgica con otros mecanismos aumentando enormemente su impacto.

Resistencia debida al comportamiento. Ésta hace mención a cualquier cambio en el comportamiento del organismo que contribuye a evitar el efecto letal de los plaguicidas (Figura 12), es decir, los insectos resistentes pueden detectar el peligro y de esta forma evitar la acción de la toxina, bien deteniendo su alimentación al estar cerca del producto o bien migrando a zonas de la planta no tratadas. Este mecanismo no tiene el mismo rendimiento que los mencionados anteriormente, pero pueden considerarse como un factor cooperador en la evasión de las dosis letales de un plaguicida.

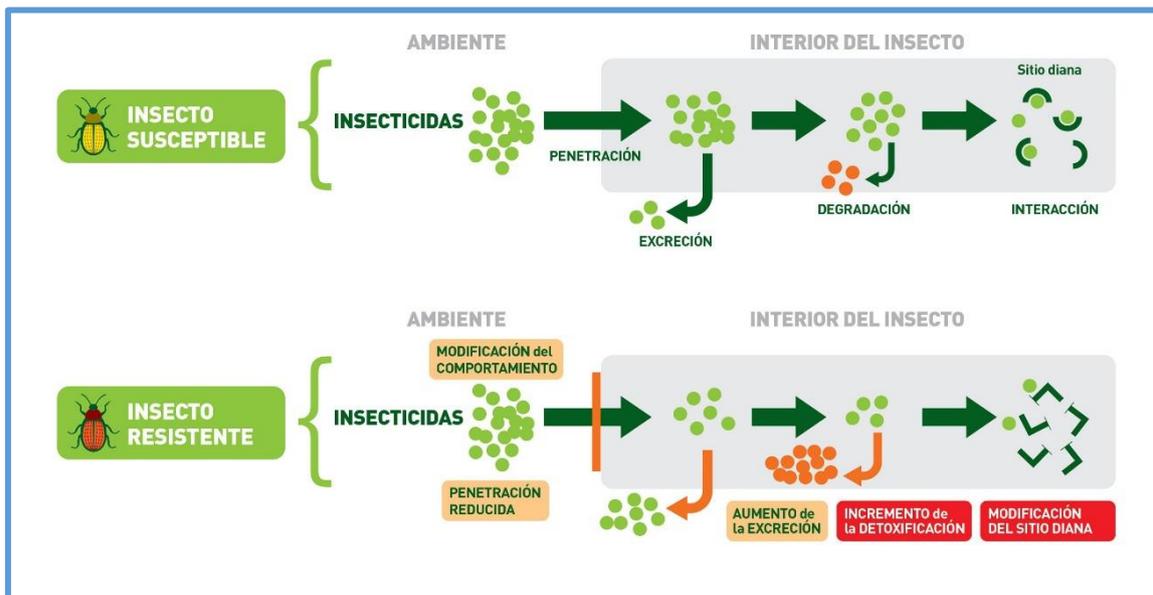


Figura 12. Cambios fisiológicos y de conducta relacionados con la resistencia a insecticidas en una población plaga. Fuente: IRAC.

Con respecto a los tipos de resistencia existentes en una población plaga podemos clasificarlos en tres tipos:

Resistencia simple. El insecto solo presenta un mecanismo de resistencia.

Resistencia cruzada. El insecto presenta un único mecanismo (al igual que en la resistencia simple) pero este puede generar resistencia a más de un plaguicida.

Resistencia múltiple. El insecto presenta varios mecanismos de resistencia de manera simultánea.

1.3.4. Resistencia a insecticidas y a neonicotinoides en *M. persicae*

Debido al uso excesivo de los plaguicidas y a la generalización del control químico en la gran mayoría de cultivos, esta especie ha desarrollado con el tiempo una resistencia orientada hacia una amplia gama de insecticidas, incluyendo en estos organofosforados, carbamatos, y piretroides. Los mecanismos moleculares de la resistencia a cada uno de estos compuestos en *M. persicae* son:

Sobreproducción de carboxilesterasas (E4 o FE4). Fenómeno que causa una gran descomposición y secuestro de ésteres insecticidas, produciendo principalmente resistencia a organofosforados.

Formas de resistencia en el punto de acción. Siendo una de ellas una mutación de la proteína de la acetilcolinesterasa (acetilcolinesterasa modificada, *MACE*) la cual provoca resistencia a los carbamatos y la otra una mutación del canal del sodio dependiente del voltaje (*kdr*) confiriendo insensibilidad a los piretroides (Bielza, 2015).

En cuanto a resistencia a neonicotinoides podemos destacar que en 2009 se avistaron en el sur de Francia diversos clones de *M. persicae* extremadamente resistentes a este químico, comprometiendo y complicando desde entonces el uso y, en consecuencia, la eficacia de esta familia de insecticidas en campo. Paralelamente, se descubrió que esta resistencia es conferida tanto por la detoxificación del compuesto arbitrada por las P450 monoxigenasas como por la insensibilidad del punto de acción en el que se acoplan los neonicotinoides, siendo este el primer ejemplo de resistencia en el punto de acción a los mismos hallado en campo y correspondiente a esta especie. A partir de este punto la mutación no hizo más que extenderse, siendo este el motivo por el cual IRAC y el instituto *Rothamsted Research* establecieron una colaboración con el fin de recopilar muestras de *M. persicae* en frutales de hueso y otros cultivos en el sureste de Europa, con el objetivo de recopilar más información sobre las características de esta resistencia, su distribución espaciotemporal y el impacto potencial que causan estos individuos resistentes. En 2012 y 2013 se volvieron a monitorear numerosas poblaciones de esta especie encontradas en Francia, Italia, Portugal y España, siendo Cataluña, Aragón, Murcia, Albacete y Extremadura las provincias afectadas dentro de ésta última. A raíz de esto y debido a la gran complejidad de la situación, IRAC elaboró una estrategia provisional (Figura 13) para el manejo de la resistencia en pulgones presentes en frutales de hueso (Bielza, 2015).

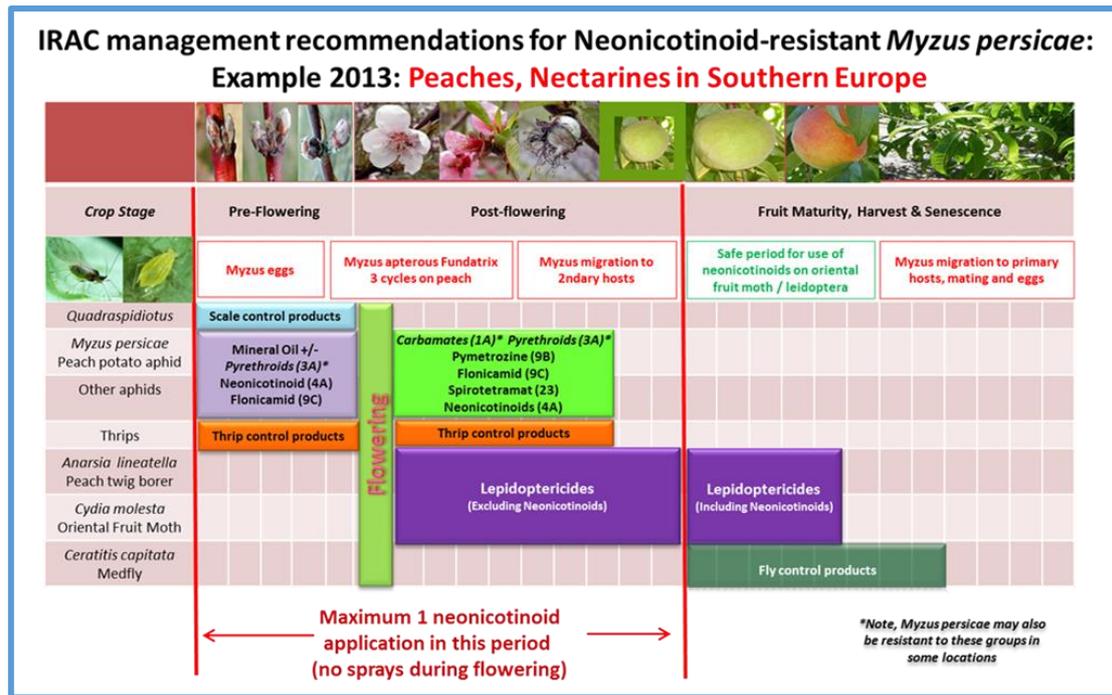


Figura 13. Estrategia provisional para el manejo de la resistencia a neonicotinoides en *M. persicae*. Fuente: IRAC.

Con esta estrategia se pretendió limitar el uso de neonicotinoides rebajando el número de tratamientos a una sola aplicación por campaña, pudiendo de este modo reducir al máximo el desarrollo de esta resistencia y la diseminación de la misma.

2. Objetivos

Se sabe, por lo descrito con anterioridad, que los insectos presentan distintos mecanismos de resistencia frente a los diferentes insecticidas, siendo la resistencia metabólica y la resistencia mediante modificación en el punto de acción los mecanismos más relevantes.

Mediante la resistencia metabólica, al aplicar un determinado producto el insecto será capaz de eliminar gran parte del mismo a través de la detoxificación metabólica, hecho que confiere a este mecanismo vital importancia en la supervivencia del mismo. En cambio, la resistencia en el punto de acción, consiste en una mutación en el sitio de acción del insecticida, que hace que el compuesto no se fije o no tenga efecto, proporcionando una alta resistencia al tóxico. Sin embargo, el insecticida podrá aún tener ciertos efectos subletales, al afectar a otros procesos fisiológicos del insecto, que sin causarle la muerte pueden reducirle la capacidad reproductora (*fitness*). Así, para que una población con una mutación en el punto de acción pueda tener éxito reproductivo en campo bajo la presión insecticida, no solo deberá tener tal mutación (que le hace sobrevivir al tratamiento) sino que además deberá tener cierto nivel de resistencia metabólica para degradar en parte el tóxico y que no le produzca efectos subletales.

Se recolectó en campo una población de *M. persicae* (K02-3) resistente a imidacloprid, que porta la mutación R81T que confiere resistencia en el punto de acción al imidacloprid y otros neonicotinoides. Además, esta población estaba causando serios problemas al cultivo a pesar de ser tratado con imidacloprid, por tanto, es una población bien adaptada a estas circunstancias (buen *fitness*). Por ello presuponemos que también debe tener un mecanismo metabólico de detoxificación que le libra de sufrir efectos subletales por el imidacloprid. Tomando esto como referencia, se quiso comprobar el rango de eficacia de tal detoxificación metabólica en estos ejemplares mediante la aplicación de una dosis subletal de imidacloprid y ésta más PBO (sinergista). Por una parte, al tratar solo con dosis de imidacloprid en un individuo resistente en el sitio de acción, se espera que no tenga efectos subletales ya que existirá un mecanismo metabólico que degradará el insecticida. Por otra parte, en el caso de aplicar dosis de imidacloprid más PBO se espera que sí tenga efectos subletales (reducción de longevidad y fertilidad), ya que la aplicación de este sinergista implica la inhibición de la detoxificación metabólica.

Si nuestra hipótesis fuera correcta, se podría aconsejar la utilización de PBO (u otro inhibidor) junto con imidacloprid para retardar el desarrollo de poblaciones resistentes de *M. persicae*, ya que los individuos resistentes que sobrevivan (mutante R81T) tendría una menor reproducción debido a los efectos subletales.

Por lo tanto, teniendo en cuenta el anterior planteamiento, nuestro objetivo en este proyecto es conocer, mediante la aplicación de los productos mencionados anteriormente, las características biológicas (parámetros biológicos) de poblaciones de *M. persicae* sensibles y resistentes a neonicotinoides, con el fin de recomendar o no la aplicación de los mismos a nivel de campo para la elaboración de estrategias de control adecuadas frente a esta plaga.

3. Materiales y métodos

3.1. Poblaciones de *M. persicae* utilizadas y su procedencia

Para el desarrollo de este proyecto se utilizaron dos poblaciones (Tabla 3) con distinto nivel de resistencia, siendo estas por un lado una población sensible a imidacloprid y por otro una población resistente al mismo.

Tabla 3. Poblaciones de *M. persicae* utilizadas en el desarrollo del proyecto, procedencia, nivel de resistencia a imidacloprid y hospedante primario en el que se encontró.

Población	Procedencia	Nivel de resistencia a imidacloprid	Hospedante	Año
SS MU	Murcia, España	Sensible	Pimiento	2019
K02-3	Grecia	Resistente	Melocotonero	2019

3.2. Cría y mantenimiento de las poblaciones

El material empleado para llevar a cabo la cría y el mantenimiento de las poblaciones es el siguiente:

Material vegetal exento de tratamientos insecticidas (planta limpia). Se realiza a la semana una siembra de semillas de pimiento (*Capsicum annuum*, especie vegetal preferible a utilizar en el caso de *M. persicae*) las cuales se mantienen en condiciones óptimas de desarrollo en cámaras de cultivo en la Finca Tomás Ferro, con el fin de abastecer a las poblaciones de pulgón existentes con planta suficiente además de poder realizar los bioensayos pertinentes con dicho material. En ningún caso, se realizan tratamientos plaguicidas en estos ejemplares, de ahí el nombre de “planta limpia” (Figura 14). En el caso de que algún ejemplar sea invadido por alguna plaga y/o enfermedad, se elimina todo el material vegetal de esa cámara aplicando un desinfectante posteriormente (diclorvos al 20% o formaldehído al 35-40%) con el fin de eliminar cualquier resto indeseable, y manteniendo además esa cámara inutilizable, al menos durante una o dos semanas, antes de volver a introducir planta limpia en dicha cámara.



Figura 14. Material vegetal utilizado. Fuente propia.

Jaulas de malla anti-trips. Las cuales se utilizan para llevar a cabo la cría y mantenimiento de las poblaciones pertinentes. Para la construcción de estas jaulas, se utilizaron como materiales dos bandejas de polipropileno negras a modo de base, malla plástica de cuadros (2,5 x 2,5 cm) a modo de estructura y malla anti-trips a modo de cubierta. Con respecto a su montaje, en primer lugar, sobre una de las bandejas se coloca la malla plástica sujeta con bridas, dejando una apertura en el frente para facilitar la introducción y extracción del material vegetal. Esta estructura, es cubierta con una funda de malla anti-trips, que presenta una cremallera delantera,

para facilitar el acceso al interior de la jaula (Figura 15). Inmediatamente se coloca la bandeja sobrante sobrepuesta con la otra de forma que la tela quede enganchada entre las dos, asegurando que los individuos que haya en su interior no escapen fácilmente. Las medidas finales de la jaula son 59 x 42 x 52 cm (largo, ancho y alto respectivamente).



Figura 15. Jaula de malla anti-trips utilizada para la cría con sus respectivas medidas. Fuente propia.

Con respecto a la metodología seguida para la cría y mantenimiento de las poblaciones cabe mencionar que las poblaciones utilizadas fueron procedentes de campo, por lo que trajeron consigo la presencia de enemigos naturales parasitoides, problema muy común. El protocolo de actuación para poder erradicar esto fue la individualización de cada uno de los ejemplares recibidos, en cajitas de polipropileno con agar y una hoja de pimiento previamente recortada, con el fin de observar cuales eran los individuos que poseían parasitoides, desechándolos posteriormente y seleccionar aquellos que no estaban parasitados (individuos sanos). Una vez finalizado el proceso se coloca planta limpia en el interior de una jaula de malla anti-trips y se realiza la suelta de los individuos sanos.

Para llevar a cabo el mantenimiento de cada una de las jaulas, se riegan las macetas del interior una vez a la semana introduciendo planta limpia nueva en el caso de que fuese necesario. De igual modo se desechan las plantas secas o marchitas, siempre y cuando no presenten ninfas sobre las mismas. Es importante remarcar, que se conservan dos jaulas de cada población para eludir posibles pérdidas por contaminación u otras causas, quedando estas almacenadas en el laboratorio.

3.3. Tanteo y cálculo de la dosis subletal de imidacloprid (CL10)

3.3.1. Materiales utilizados

Cajas de polipropileno transparentes. Para poder realizar los distintos bioensayos de adultos de *M. persicae*, se utilizan cajas redondas de polipropileno transparentes de unos 39 mm de diámetro, en cuya tapa cuenta con una apertura de unos 25 mm de diámetro aproximadamente cubierta con malla metálica para la ventilación de las mismas, evitando con ello posibles problemas de condensación (Figura 16).

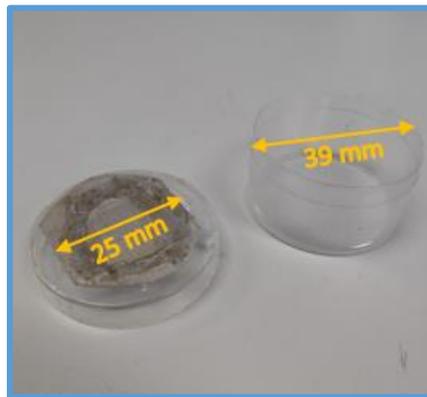


Figura 16. Medidas de caja y tapada utilizadas en la realización de los bioensayos pertinentes. Fuente propia.

Agar (gelificante). Utilizado para crear una base de gel en el fondo de la caja de polipropileno con el fin de colocar el material vegetal sobre ésta. Para su preparación elaboramos en primer lugar una disolución de este gelificante al 2% (2 gramos de éste mezclados con 100 mililitros de agua) acorde a la cantidad deseada y, seguidamente, llevamos a hervir la mezcla. Una vez finalizados los pasos anteriores, y con ayuda de una jeringuilla, vertemos 5 ml del resultado en cada una de las cajas, creando de esta forma la base deseada tal y como puede verse en la Figura 17.



Figura 17. Aplicación del gelificante en las cajas de polipropileno (izquierda) y resultado final de la caja (derecha). Fuente propia.

Material vegetal (pimiento). Sano, libre de plagas y tratamientos insecticidas (“planta limpia”).

Materias activas. Siendo las descritas con anterioridad correspondientes con la elaboración de este proyecto, el neonicotinoide imidacloprid y el sinergista butóxido de piperonilo, PBO (Figura 18).



Figura 18. Materias activas utilizadas, siendo imidacloprid (izquierda) y PBO (derecha). Fuente propia.

3.3.2. Preparación de las dosis de imidacloprid y elaboración del PBO

Con respecto a imidacloprid se preparan las diluciones pertinentes además de un control, ambos casos elaborados con agua destilada y la adición de un mojante para mejorar la absorción, siendo en este caso Tween 20 (aplicando 1ml por cada 100 ml de agua destilada). La metodología a seguir comienza con el vertido de la cantidad de agua destilada correspondiente a cada dosis en un vaso de plástico previamente marcado para su identificación, a lo que le sigue la posterior adición de la dosis de insecticida correspondiente mediante el uso de una pipeta, como puede verse en la Figura 19. Para la mezcla de ambos productos se hace uso de un agitador magnético, realizando este paso en el interior de una cámara de extracción de gases con la finalidad de evitar posibles alteraciones/contaminaciones en la elaboración de las distintas dosis.



Figura 19. Elaboración de las distintas dosis de imidacloprid en el interior de la cámara de extracción de gases.
Fuente propia.

En el caso del PBO se prepara una solución stock en acetona a 10000 ppm diluyéndola posteriormente hasta alcanzar la dosis deseada, en nuestro caso 300 ppm.

3.3.3. Bioensayos de tanteo por contacto e ingestión (bioensayo mixto)

Se realizan distintos bioensayos de carácter mixto con el objetivo de poder tantee y conocer la dosis subletal CL10 (término referente a la dosis de insecticida cuya aplicación produce una mortalidad del 10% de individuos del total ensayados) de imidacloprid en ambas poblaciones objeto (población sensible y resistente). Estos bioensayos se caracterizan por el hecho de que no es el insecto el que se trata con el plaguicida pertinente, si no el material vegetal, el cual entrará en contacto con el individuo que posteriormente se alimentará adquiriendo de este modo las propiedades insecticidas del producto.

La metodología a seguir para el tratamiento del material vegetal corresponde con el mojado de la hoja en su totalidad en cada una de las dosis de imidacloprid preparadas previamente (Figura 20) durante un periodo de tiempo de 10 segundos, método comúnmente conocido como “leaf dip”. Una vez finalizado este paso, se depositan todas las hojas tratadas en el interior de una cámara de extracción de gases mediante el uso de gradillas para el secado de las mismas. De manera análoga se preparan cajas de polipropileno con agar.



Figura 20. Tratamiento foliar de imidacloprid por inmersión de la hoja en la dosis de insecticida correspondiente, método “leaf dip”. Fuente propia.

Al finalizar el secado se procede al recorte de cada una de las hojas tratadas en forma circular mediante el uso de bisturí, de forma que éste encaje correctamente con las dimensiones de la caja de polipropileno y colocándolo en el interior de la misma con el envés hacia arriba, retirando posteriormente el agar sobrante de los bordes con ayuda de un bastoncillo en el caso de que fuese necesario (Figura 21).



Figura 21. Recorte de la hoja de pimiento de forma circular (izquierda) y deposición de la misma en el interior de la caja de polipropileno (derecha). Fuente propia.

Una vez obtenidas las cajas con la hoja depositada y pegada se lleva a cabo la deposición de ejemplares de *M. persicae* en el interior de las mismas con ayuda de un pincel (Figura 22, arriba), colocando un total de 10 individuos por cada caja. Además, cabe destacar que cada bioensayo realizado cuenta con una línea control (sin tratamiento plaguicida) correspondiendo las líneas restantes con las diferentes dosis de imidacloprid ensayadas, recalcando que cada línea cuenta con 3 cajas de polipropileno (Figura 22, abajo), por lo que tendríamos un total de 30 individuos por línea y 120 por cada bioensayo completo (4 líneas por bioensayo).

Con respecto a las diferentes poblaciones estudiadas:

Población sensible (SS MU). Se llevaron a cabo dos bioensayos. En el primero, las dosis de imidacloprid ensayadas fueron 0 ppm (control), 0,01 - 0,1 y 1 ppm. Posteriormente se hizo una repetición a distintas dosis con el fin de recopilar más datos a la hora de precisar la dosis CL10. Estas últimas dosis fueron 3 - 10 y 30 ppm.

Población resistente (K02-3). Se llevaron a cabo dos bioensayos. En el primero, las dosis de imidacloprid ensayadas fueron 0 ppm (control), 10 - 15 - 20 y 25 ppm. Posteriormente y en segundo lugar se hizo una repetición a distintas dosis con el fin de recopilar más datos a la hora de precisar la dosis CL10. Estas últimas dosis fueron 30 - 100 y 150 ppm.

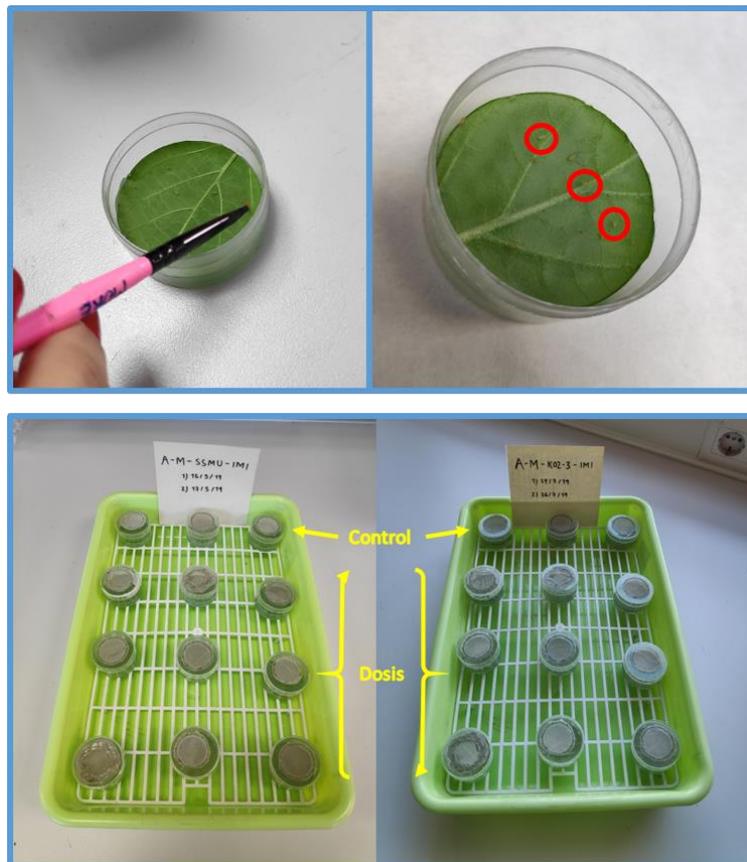


Figura 22. Deposición de pulgones en el interior de la caja de polipropileno mediante uso de pincel (arriba) y bioensayos realizados tanto en población sensible (abajo, izquierda) como en población resistente (abajo, derecha) con distintas dosis de imidacloprid. Fuente propia.

3.3.4. Cálculo de la dosis subletal (CL10)

Una vez realizado el conteo de cada uno de los bioensayos (número de adultos vivos y número de adultos muertos por cada caja) se procede al cálculo de la dosis subletal correspondiente para cada una de las poblaciones objeto.

En el caso de SS MU (población sensible), acorde a los resultados de mortalidad obtenidos en los bioensayos realizados con anterioridad se lleva a cabo un análisis estadístico de los mismos

mediante el programa informático PoloPlus efectuando un análisis Probit, obteniendo de esta forma la dosis subletal CL10. Sin embargo, en el caso de K02-3 (población resistente) no se pudo llevar a cabo este análisis Probit debido a que el programa informático PoloPlus no procesa datos de bioensayos en los cuales la mortalidad obtenida no alcanza al menos el 50%, por lo que en este caso se escogió la dosis a la que se obtenía un 10% de mortalidad entre los individuos ensayados.

3.4. Puestas y conteo de la longevidad/fertilidad

Puestas control (sin tratamiento) en SS MU y K02-3. Teniendo una buena cantidad de individuos se realizan puestas de pulgones adultos (“pulgones madre”) en cajas de polipropileno con el fin de obtener descendencia sincronizada (ninfas nacidas el mismo día) de los mismos, realizando un total de 5 cajas por puesta e introduciendo un total de 10 adultos por caja. Esta puesta debe reposar durante un periodo de 24 horas para obtener el máximo de descendencia posible de cada una de las “madres”, devolviendo cada una de ellas a su jaula original una vez cumplido este tiempo. La descendencia obtenida de estas es la que posteriormente se individualiza con el fin de poder medir sus parámetros biológicos (conteo de longevidad y fertilidad) desde su día 0 (día de su nacimiento), creando así poblaciones control. Se individualizaron 100 pulgones en ambas poblaciones (200 individuos en total), de los cuales una vez finalizada su vida se recogen los resultados pertinentes.

Puestas con imidacloprid e imidacloprid más PBO a dosis CL10 en SS MU y K02-3. Al igual que en el caso descrito anteriormente, se realizan puestas de “pulgones madre” en cajas de polipropileno para poder conseguir una descendencia sincronizada, la cual una vez conseguida se mantiene en estas mismas cajas hasta alcanzar el estado adulto (a la semana de su nacimiento aproximadamente). Una vez sean adultas se procede a su individualización, por un lado, tratando únicamente de manera foliar con dosis CL10 de imidacloprid a la mitad de la descendencia obtenida y por otro sumando a lo anterior la aplicación del PBO mediante microgota (7 μ l) a la mitad restante. De esta forma hacemos que el tratamiento sea equitativo en ambos casos. Por último, se procede a la medición de sus parámetros biológicos desde su día 0, creando así una población tratada únicamente con imidacloprid y otra con este producto más el sinergista PBO. Se individualizaron 100 pulgones en ambas poblaciones y en ambos casos (400 individuos en total), de los cuales una vez finalizada su vida se recogen los resultados pertinentes.

Cabe destacar que para el conteo de la longevidad y la fertilidad a estudiar en estas poblaciones se hizo uso de estadillos (Tabla 4) elaborados mediante el programa informático Excel, con el fin de poder facilitar las correspondientes anotaciones en el seguimiento de dichos parámetros.

Tabla 4. Ejemplo de estadillo utilizado en el seguimiento y conteo de la longevidad y fertilidad de cada individuo en las poblaciones objeto.

Individuo	Número	
Emergida	día/mes/año	
Muerta	día/mes/año	
Anotaciones	Vida	Observaciones
Día 1		
Día 2		
Día 3		
Día 4		
Día ...		

4. Resultados y discusión

4.1. Bioensayos para la obtención de CL10

A continuación, se mostrarán recogidos en la Tabla 5 los resultados obtenidos con respecto a las dosis CL10 obtenidas para ambas poblaciones estudiadas:

Tabla 5. Dosis CL10 y límites fiduciales obtenidos para las poblaciones SS MU y K02-3.

Poblaciones	n	CL10 (ppm)	Límites fiduciales CL10		CL50 (ppm)	Límites fiduciales CL50	
			Límite inferior	Límite superior		Límite inferior	Límite superior
SS MU	118	0,861	0,021	2,031	2,9	0,682	5,72
K02-3	120	150	-	-	> 150	-	-

Tal y como puede verse en la tabla anterior con respecto a la población SS MU, la dosis CL10 alcanzó un valor de 0,861 ppm con límites fiduciales de 0,021 a 2,031 al 95% de confianza. Paralelamente se obtuvo de igual modo la dosis CL50 la cual alcanzó un valor de 2,9 ppm con límites fiduciales de 0,682 a 5,72 ppm también al 95% de confianza. En el caso de la población K02-3 no se pudo hacer el análisis Probit debido a que a la máxima dosis ensayada (150 ppm) no se alcanzó el 50% de mortalidad. Por tanto, solo se puede estimar que la CL50 será mayor que 150 ppm. Además, la mortalidad a la dosis de 150 ppm fue de un 10%, por lo que se estimó la CL10 con un valor de 150 ppm.

4.2. Resultados del conteo de los parámetros longevidad y fertilidad

A continuación, se mostrarán en la Tabla 6 los resultados obtenidos con respecto al conteo de los parámetros biológicos (longevidad y fertilidad) realizado para cada una de las poblaciones objeto con los distintos tratamientos a los que se sometieron. En dicha tabla se recogieron tanto las medias como los errores típicos de cada uno de los parámetros a observar, además del porcentaje de adultos (ninfas que consiguieron llegar al estado adulto, es decir, individuos que consiguieron alcanzar una longevidad mayor de 8 días), el porcentaje de hembras infértiles, así como los distintos grupos homogéneos correspondientes con cada caso.

Existieron diferencias significativas entre tratamientos para la longevidad total ($F = 13,69$; $gl = 5/594$; $p < 0,001$), la longevidad de adulto ($F = 20,27$; $gl = 5/461$; $p < 0,001$), y la fertilidad ($F = 33,44$; $gl = 5/461$; $p < 0,001$).

Tabla 6. Resultados del conteo de la longevidad y la fertilidad en las poblaciones SS MU y K02-3 para cada uno de los tratamientos realizados.

Poblaciones	Tratamiento	Longevidad total	Longevidad de adulto	Fertilidad	% adultos	% hembras infértiles
SS MU	Control	17,2 ± 0,93 c	20,5 ± 0,82 d	33,7 ± 1,87 d	79	1,27
	IMI	12,3 ± 0,55 ab	13,6 ± 0,64 b	8,4 ± 1,71 b	77	53,25
	IMI + PBO	10,5 ± 0,33 a	11,7 ± 0,42 a	4,1 ± 1,19 a	69	62,32
K02-3	Control	14,5 ± 0,94 b	20,2 ± 1,07 d	20,7 ± 2,85 c	59	23,73
	IMI	16,0 ± 0,72 c	16,4 ± 0,74 c	12,8 ± 1,45 c	95	24,21
	IMI + PBO	17,5 ± 0,80 c	18,8 ± 0,81 d	15,7 ± 1,66 c	88	19,32

* Dentro de cada columna los valores que van seguidos de la misma letra no difieren significativamente (ANOVA, test LSD, $p > 0,05$).

Acorde a los resultados obtenidos en la tabla mostrada con anterioridad:

Comparando SS MU control con K02-2 control. Observamos que para el parámetro “longevidad total” la población sensible presenta una media superior a la población resistente habiendo diferencias significativas entre las dos (Tabla 6). Con respecto al parámetro “longevidad de adulto”, podemos ver cómo no hay diferencias significativas entre ambas poblaciones (Tabla 6). Por último, acorde a los resultados de fertilidad obtenidos podemos ver cómo, de nuevo, la población SS MU presenta una media superior con respecto a la población K02-3 habiendo diferencias significativas entre ambas (Tabla 6).

Atendiendo a la comparativa entre ambas poblaciones podemos observar que la población K02-3 presenta un “*fitness cost*” frente a SS MU, es decir, que por el hecho de ser una población resistente los individuos que la conforman presentan un coste biológico el cual se encuentra

asociado a los parámetros de longevidad y fertilidad para este caso. Pudo verse además una mortalidad ligeramente mayor en las ninfas de la población sensible con respecto a la resistente ya que, viendo los datos obtenidos en “longevidad de adulto”, podemos observar que presentan prácticamente el mismo valor medio, además de un menor porcentaje de hembras infértiles.

Comparando SS MU control con SS MU IMI y SS MU IMI + PBO. Vemos que para el parámetro “longevidad total” la población control presenta un valor de media superior a los valores medios correspondientes con los distintos tratamientos con IMI e IMI + PBO, notándose una disminución gradual en los mismos. En estos tres casos pueden observarse diferencias significativas entre ellos (Tabla 6). Podemos observar cómo este fenómeno se repite en los parámetros “longevidad de adulto” y “fertilidad” (Tabla 6) apreciándose de nuevo diferencias significativas gradualmente decrecientes con respecto al valor medio obtenido en todos los casos. Atendiendo a la comparativa entre la población control y los distintos tratamientos podemos observar cómo la aplicación de imidacloprid crea efectos subletales (toxicidades) notables en el insecto afectando negativamente a los distintos parámetros biológicos estudiados, aunque sin llegar a producir su muerte. Además, podemos apreciar que la aplicación de PBO en conjunto con dosis subletales de esta materia activa produce una disminución aún mayor en los distintos parámetros biológicos, siendo este fenómeno debido a la inhibición de la actividad metabólica del insecto por el suministro del sinergista, provocando que el individuo sea incapaz de degradar parte del insecticida de manera basal dando lugar a una mayor cantidad de imidacloprid disponible.

Comparando K02-3 control con K02-3 IMI y K02-3 IMI + PBO. Comprobamos que con respecto al parámetro “longevidad total” la población control presenta un valor medio menor que el correspondiente a los dos tratamientos realizados, existiendo diferencias significativas con ambos (Tabla 6). Para el caso de “longevidad de adulto” solo se observan diferencias significativas entre la población control y la población tratada únicamente con imidacloprid (Tabla 6), siendo el valor medio de esta última inferior al valor de la primera. Con respecto al tratamiento de imidacloprid en conjunto con PBO no se observan diferencias entre éste y la población control. Por último, acorde a los resultados obtenidos para el parámetro “fertilidad”, se puede ver como no hay diferencias significativas entre el control y los dos tratamientos realizados (Tabla 6).

En correspondencia con la comparativa entre la población control y los diferentes tratamientos realizados, podemos observar que al aplicar los distintos tratamientos insecticidas con imidacloprid e imidacloprid más PBO en la población resistente obtenemos para la “longevidad

total” valores mayores que el control (Tabla 6). A esta respuesta adaptativa ante el insecticida aplicado por parte del insecto se le denomina “hormesis”, fenómeno que se caracteriza por la estimulación de los distintos parámetros biológicos del mismo a dosis bajas y la inhibición de los mismos a dosis altas (Figura 23), y el cual ha sido observado en un gran abanico de organismos en respuesta a diferentes compuestos químicos y plaguicidas (Ayyanath et al, 2013).

En cambio, para la “longevidad de adulto” y la “fertilidad” se produce una reducción respecto al control en el tratamiento con imidacloprid (Tabla 6), pero se recupera en el tratamiento con PBO. Sin embargo, se puede suponer que la concentración de imidacloprid en el insecto será menor en el tratamiento IMI que en el IMI+PBO, ya que el PBO estará inhibiendo los enzimas que metabolizan en parte el imidacloprid. Esto se puede explicar por un ligero efecto subletal a la concentración que aporta el tratamiento IMI, que se ve sobrecompensado por una estimulación por hormesis a la concentración mayor que se obtiene con IMI+PBO. El fenómeno de la hormesis se da en un rango de dosis muy limitado, no existiendo a dosis menores ni mayores (Figura 23), como ha sido observado para *M. persicae* (Yu et al 2010) (Figura 24).

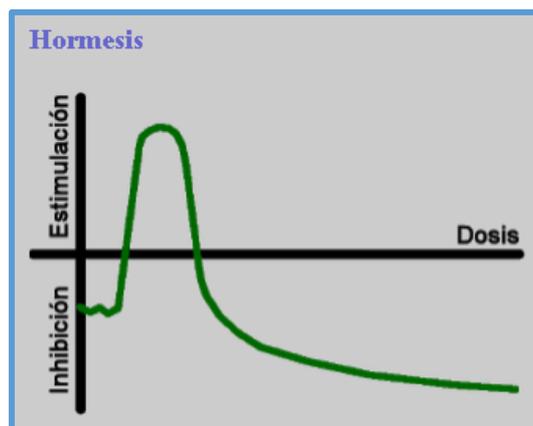


Figura 23. Fenómeno de hormesis representado en gráfica de inhibición/estimulación frente a dosis de producto aplicado. Fuente: Homo Agrícola.

Con respecto a nuestra plaga objeto de estudio, *M. persicae*, varios autores han informado a lo largo de los años varios casos en los que se manifestaban procesos horméticos en diferentes ámbitos (tanto a nivel de campo como en invernadero) en concordancia con la aplicación de imidacloprid a dosis subletales para esta especie. Según Yu et al (2010) se confirma que la aplicación de bajas concentraciones de este producto induce la estimulación de los parámetros biológicos del insecto (longevidad y fertilidad), inhibiéndose estos mismos cuando se suministran dosis altas del producto. Como puede verse en la Figura 24, y para el caso de una población de *M. persicae* aparentemente no tan sensible ni tan resistente como las estudiadas en este trabajo, observamos que existe hormesis (con diferencias significativas) en un rango de 0,01 a 0,1 ppm, pero no existen diferencias significativas a dosis menores (0,0001 a 0,001 ppm)

ni a dosis mayores (>0,2 ppm). A estas dosis del producto aplicadas (0,01 a 0,1 ppm) se obtienen resultados de fertilidad notablemente superiores con respecto al control y con presencia de diferencias significativas.

Concentration (mg/kg)	Fecundity (No. nymphs/female)	The percentage of stimulation of fecundity (%)
0.0001	3.12 ± 0.95	41.8
0.001	3.88 ± 1.22	76.4
0.01	4.04 ± 1.63	83.6*
0.1	4.28 ± 1.39	94.5*
0.2	3.68 ± 2.91	67.3
0.4	3.40 ± 2.00	54.5
0.8	2.56 ± 0.92	16.4
1	1.64 ± 0.59	-25.3*
2	0.78 ± 0.40	-64.5*
CK	2.2 ± 1.07	

Values of fecundity are means ± SD. Asterisk indicates significant difference from control, $P < 0.05$.

Figura 24. Fecundidad de *M. persicae* expuesto a varias dosis de imidacloprid según Yu et al (2010). Fuente: Yu et al (2010).

A su vez, estos autores afirman que este fenómeno es debido a un cambio en los niveles de la hormona juvenil III (JH III) presente en dicha plaga en respuesta/adaptación a dosis bajas del estresante (dosis subletales), valores que aumentan notablemente cuando el insecto es expuesto a las mismas (Figura 25).

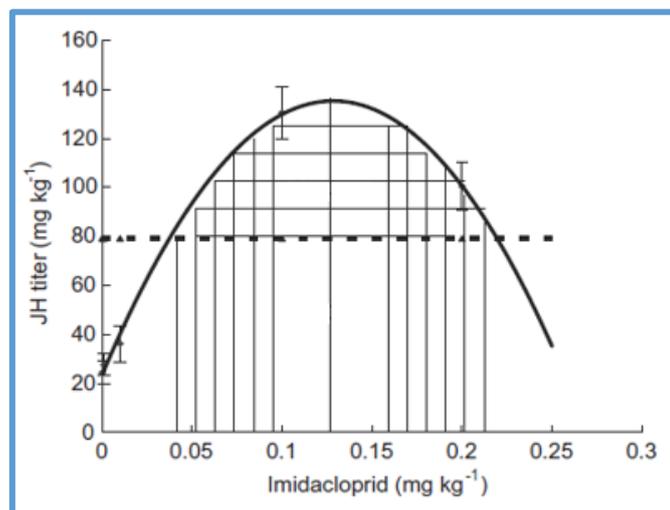


Figura 25. Respuesta hormética después de 24 horas para los niveles de JH III en *M. persicae* expuesto a imidacloprid según Yu et al (2010). Fuente: Yu et al (2010).

Este fenómeno es el que ocurre precisamente en la población K02-3 con respecto a los tratamientos con imidacloprid e imidacloprid más PBO realizados, ya que puede apreciarse como los parámetros biológicos de dicha población no solo se mantienen neutros con respecto

al control, sino que mejoran en ciertos casos. Cabe destacar, que para K02-3 la dosis aplicada es distinta ya que, recordemos, que ésta es resistente a imidacloprid, por lo que la dosis subletal aplicada para nuestro caso es mucho mayor (150 ppm).

5. Conclusiones. Informe técnico.

Nuestro objetivo era comprobar si la utilización del sinergista PBO era recomendable en mezcla con imidacloprid con el fin de prevenir el desarrollo de resistencias en *M. persicae*. Nuestra hipótesis era que, aunque la resistencia imidacloprid se debe a una mutación (R81T) en el punto de acción, habrá una cierta resistencia metabólica que degrade el insecticida para que no tenga efectos subletales sobre distintos parámetros biológicos (fertilidad y longevidad), y por tanto reduzca su *fitness*. Por tanto, al añadir el PBO, que actúa como inhibidor de esa resistencia metabólica, el imidacloprid podría reducir la capacidad reproductiva del pulgón por mecanismos de acción subletal, aunque no presente mortalidad al portar la mutación R81T para la resistencia. De esta manera, la presencia del PBO en mezcla con el imidacloprid retrasaría el desarrollo de las poblaciones resistentes, al reducirles la capacidad reproductora.

En la población sensible sí que se observa ese efecto subletal del imidacloprid a dosis muy bajas (0,861 ppm) respecto a las dosis recomendadas de etiqueta (100 - 150 ppm), además la adición del sinergista PBO potencia esa acción reduciendo la longevidad y fertilidad, como habíamos previsto. Sin embargo, en la población resistente se observa un efecto de hormesis al tratar con imidacloprid (con y sin PBO) en la longevidad total. Y en la longevidad de adulto y en la fertilidad, se sospecha un efecto de hormesis solo cuando se añade el PBO.

Por tanto, nuestra recomendación técnica sería desaconsejar el uso de PBO cuando se sospeche que haya individuos resistentes, ya que puede provocar una estimulación de la reproducción de estos individuos, facilitando el desarrollo de resistencias. Y en el caso de poblaciones sensibles, no sería necesario el uso del PBO, ya que las poblaciones son muy susceptibles a la dosis de campo.

6. Bibliografía consultada

Libros

- BADIA SERENTILL, M.; MITJANA BERDIE, J. *Plagas y enfermedades de los frutales: Guía práctica del melocotonero*. 3ª edición. Lleida: Dilagro Ediciones, 1986. ISBN: 8472340880.
- BARBAGALLO, S.; CRAVEDI, P.; PASQUALINI, E.; PATTI, I. *Pulgones de los principales cultivos frutales*. Ediciones Mundi-Prensa. Barcelona: Ediciones Mundi-Prensa, 1998.
- BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. *Aphids on the world's crops: An identification and information guide*. 2ª edición. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2000. ISBN: 0471851914.

- CARRERO, J.M. *Lucha integrada contra las plagas agrícolas y forestales*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1996. ISBN: 8471146398.
- DE LIÑÁN VICENTE, C. [y otros]. *Entomología agroforestal: Insectos y Ácaros que dañan montes, cultivos y jardines*. Ediciones Agrotécnicas S.L. Madrid: Ediciones Agrotécnicas S.L., 1998.
- DEL CAÑIZO PERATE, J.A.; MORENO VAZQUEZ, R.; GARIJO ALBA, C. *Guía práctica de plagas*. 2ª edición. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1990. ISBN: 8471142488.
- FLINT, M.L.; DREISTADT, S. *Natural enemies handbook: The illustrated guide to biological pest control*. Los Ángeles: University of California, 1998. ISBN: 0520218019.
- GARCÍA MARÍ, F.; COSTA COMELLES, J.; FERRAGUT PÉREZ, F.; LABORDA CENJOR, R. *Plagas agrícolas: Ácaros e insectos exopterigotos*. Valencia: Servicio de publicaciones de la Universidad Politécnica de Valencia. ISBN: 8477210934.
- LLORENS CLIMENT, J.M. *Homóptera II: Pulgones de los cítricos y su control biológico*. Pisa Ediciones, 1990.
- PLANES, S.; CARRERO, J.M. *Plagas del campo*. 12ª Edición. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1995. ISBN: 8471145014.

Páginas web

- Hortoinfo* [en línea] [consulta: 24/10/2019]. Disponible en: www.hortoinfo.es
- IMyZA: Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola* [en línea] [consulta: 23/10/2019]. Disponible en: inta.gob.ar/imyza
- Infoagro* [en línea] [consulta: 24/10/2019]. Disponible en: www.infoagro.com
- IRAC: Insecticide Resistance Action Committee* [en línea] [consulta: 24/10/2019]. Disponible en: www.irac-online.org
- IVIA: Instituto Valenciano de Investigaciones agrarias* [en línea] [consulta: 25/09/2019]. Disponible en: www.ivia.gva.es
- Junta de Andalucía: Conserjería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible* [en línea] [consulta: 23/10/2019]. Disponible en: www.juntadeandalucia.es
- ONUAA (FAO): Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura* [en línea] [consulta: 25/10/2019]. Disponible en: www.fao.org
- SEEA: Sociedad Española de Entomología Aplicada* [en línea] [consulta: 28/10/2019]. Disponible en: www.seea.es
- SERIDA* [en línea] [consulta: 26/09/2019]. Disponible en: www.serida.org

Artículos y publicaciones

- ALMACELLAS GORT, J.; MARÍN SÁNCHEZ, J.P. *Control de plagas y enfermedades en el cultivo del almendro* [en línea]. Barcelona: Vida Rural, 2011 - [consulta: 25/10/2019]. Disponible en: core.ac.uk/download/pdf/159377457.pdf ISSN: 1133-8938.
- ANDORNO, A.V.; BOTTO, E.N.; LA ROSSA, F.R.; MÖHLE, R. *Control biológico de áfidos por métodos conservativos en cultivos hortícolas y aromáticas* [en línea]. Buenos Aires: Ediciones INTA, 2014 [consulta: 20/10/2019] Disponible en: inta.gob.ar/sites/default/files/inta-control_biologicode_afidos_reglon_62-2.pdf
- AYYANATH, M.; CUTLER, G.; SCOTT-DUPREE, C.; SIBLEY, P. *Transgenerational shifts in reproduction hormesis in green peach aphid exposed to low concentrations of imidacloprid* [en línea] PLOS ONE, 2013, 8 (9) [consulta: 08/12/2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074532>

- BASS, C.; PUINEAN, A.M.; ZIMMER, C.T.; DENHOLM, I.; FIELD, L.M.; FOSTER, S.P.; GUTBROD, O.; NAUEN, R.; SLATER, R.; WILLIAMSON, M.S. *The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, Myzus persicae* [en línea] Elsevier, 2014, 51 [consulta: 19/11/2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2014.05.003>
- BIELZA LINO, P. *Nueva resistencia a insecticidas en Myzus persicae* [en línea]. España: SEEA, 2015, 1: 25-28 [consulta: 29/10/2019]. Disponible en: https://www.seea.es/pdf/BoletinSEEA_Myzusresistente_PBielza.pdf
- CASADO MÁRMOL, G.; HERVALEJO GARCÍA, A.; ARROYO CORDERO, F.T.; ARENAS ARENAS, F.J. *Control biológico de plagas en frutales de hueso* [en línea]. Sevilla: Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, 2015 - [consulta: 01/10/2019]. Disponible en: <http://chil.me/download-doc/131917>
- Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas: Directrices sobre la Prevención y Manejo de la Resistencia a los Plaguicidas* [en línea]. FAO, 2012 - [consulta: 29/10/2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-bt561s.pdf> E-ISBN 978-92-5-307348-1 (archivo PDF)
- Folleto de Clasificación del Modo de Acción de los Insecticidas y Acaricidas* [en línea] España: IRAC, 2019 - [consulta: 29/10/2019]. Disponible en: <https://www.irc-online.org/documents/folleto-modo-de-accion-insecticidas-y-acaricidas/?ext=pdf>
- GUTIÉRREZ-RAMÍREZ, A.; ROBLES-BERMÚDEZ, A.; SANTILLÁN-ORTEGA, C.; ORTIZ-CATÓN, M.; CAMBERO-CAMPOS, O.J. *Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México* [en línea]. México: Revista BioCiencias, 2013, 2 (3), 102 - 112 [consulta: 10/10/2019]. Disponible en: <http://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/40/132>
- YU, Y.; SHEN, G.; ZHU, H.; LU, Y. *Imidacloprid-induced hormesis on the fecundity and juvenile hormone levels of the green peach aphid Myzus persicae (Sulzer)* [en línea] Elsevier, 2010, 98 (2), 238 - 242 [consulta: 08/12/2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.06.013>

7. Anexos

Análisis estadísticos ANOVA

Análisis para “longevidad total”

ANOVA Table for Long by Pob

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	3815,37	5	763,075	13,69	0,0000
Within groups	33114,5	594	55,7484		
Total (Corr.)	36929,9	599			

Análisis para “longevidad de adulto”

ANOVA Table for Long8 by Pob

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	4705,67	5	941,134	20,27	0,0000
Within groups	21399,6	461	46,42		
Total (Corr.)	26105,3	466			

Análisis para “fertilidad”

ANOVA Table for FertLong8 by Pob

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	41234,8	5	8246,97	33,44	0,0000
Within groups	113705,0	461	246,65		
Total (Corr.)	154940,0	466			