

## ***Current status of insecticide resistance in *Myzus persicae* in Spain***

**A. Belando, I. Moreno, P. Bielza**

Departamento de Producción Vegetal, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 48, 30203, Spain. ana\_belando@hotmail.com

### **Resumen**

*Myzus persicae*, el pulgón del melocotonero, es una plaga de importancia mundial de una amplia gama de cultivos herbáceos, hortícolas, y frutales, por sus daños directos y por su capacidad de transmitir más de 100 virus de las plantas. En España no se ha realizado nunca un estudio del estado de la resistencia a insecticidas en una plaga agrícola tan importante como *M. persicae*. Por todo ello es imprescindible conocer bien el estado de la resistencia a insecticidas en las poblaciones de *M. persicae* en los diferentes cultivos en los que causa daños importantes, así como los mecanismos de resistencia implicados. Por tanto el objetivo de este trabajo es estudiar el desarrollo potencial de la resistencia a los neonicotinoides imidacloprid y tiametoxam, y los insecticidas flonicamid, spirotetramat, pymetrozina y azadiractina, en poblaciones de *Myzus persicae* de cultivos frutales y hortícolas de la Región de Murcia y otras poblaciones españolas. Los resultados obtenidos muestran como para el imidacloprid la población llamada BS ha presentado una LC<sub>50</sub> de 37,81 ppm. Para el tiametoxam observamos como las poblaciones BS y CH01 obtienen una LC<sub>50</sub> superiores al del resto de poblaciones bioensayadas para este insecticida, siendo su valor de 65,04 ppm y 48,16 ppm respectivamente. Para el flonicamid las cuatro poblaciones se han comportado de manera similar, donde apenas se pueden apreciar diferencias significativas entre ellas, destacando la población de AS01 que ha obtenido una LC<sub>50</sub> de 12,74 ppm, ligeramente superior en relación a las demás poblaciones.

**Palabras clave:** Flonicamid; tiametoxam; imidacloprid.

### **Abstract**

*Myzus persicae*, the peach aphid, a pest of global importance to a wide range of arable, horticultural crops, fruit trees, for their direct damage and its ability to transmit more than 100 viruses of plants. In Spain there has never made a study of the status of insecticide resistance in *M. persicae* as important as agricultural pest. Therefore, it is essential to know the condition of insecticide resistance in populations of *M. persicae* in the different cultures in which cause significant damage and resistance mechanisms involved. Therefore, the objective of this work is to study the potential development of resistance to neonicotinoid imidacloprid and thiamethoxam, and flonicamid insecticidas, spirotetramat, pymetrozine and azadirachtin, in populations of *Myzus persicae* of fruit and vegetable crops in the region of Murcia and other Spanish populations. The results show as Imidacloprid people call BS presented a LC<sub>50</sub> of 37.81 ppm. Thiamethoxam to observe how the populations BS CH01 LC<sub>50</sub> get a higher population than the rest bioensayadas for this insecticide, and its value of 65.04 ppm and 48.16 ppm respectively. Flonicamid for the four populations have behaved similarly, where you can see just mean differences between them, stressing the AS01 population has obtained a LC<sub>50</sub> of 12.74 ppm, slightly higher compared to other populations

**Keywords:** Flonicamid; tiametoxam, imidacloprid.

### **1. Introducción**

El pulgón del melocotonero, *Myzus persicae*, es una plaga de importancia mundial de una amplia gama de cultivos herbáceos, hortícolas, y frutales, por sus daños directos y por su capacidad de transmitir más de 100 virus de las plantas [1]. Excepto en cultivos hortícolas en invernaderos, su control se basa casi exclusivamente en la aplicación de insecticidas y, como resultado, esta especie ha desarrollado resistencia múltiple a muchas clases químicas, incluyendo organofosforados, carbamatos y piretroides [2]. Los mecanismos moleculares de

resistencia a los insecticidas en *M. persicae* incluyen la sobreproducción de carboxilesterasas de desintoxicación (E4 o FE4) que confiere resistencia principalmente a organofosforados y dos formas de resistencia en el punto de acción [2]. Una de ellas es una mutación de la proteína de la acetilcolinesterasa (acetilcolinesterasa modificada, MACE por sus siglas en inglés) dando insensibilidad a los dimetil-carbamatos (ej. Pirimicarb) [2]. La otra es una mutación del canal de sodio dependiente de voltaje (resistencia Knockdown, kdr) dando resistencia a los piretroides [2]. Los neonicotinoides tales como imidacloprid, tiametoxam, clotianidina y

acetamiprid no se ven afectados por estos mecanismos, y son actualmente el principal medio de control. Los neonicotinoides han demostrado ser notablemente resistentes al desarrollo de la resistencia y se han mantenido muy eficaces contra *M. persicae*. Se han encontrado poblaciones con susceptibilidad reducida a compuestos neonicotinoides (10-40 veces la resistencia) en Europa, los EE.UU. y Japón [3-5]. Sin embargo, en la actualidad los niveles de resistencia descritos tienen un significado práctico limitado, ya que son insuficientes para poner en peligro la eficacia en campo de estos insecticidas [3,5].

Recientemente, se han utilizado enfoques bioquímicos y genómicos para investigar la resistencia a los neonicotinoides de ~40 [6,7]. La resistencia se asocia con múltiples duplicaciones de un solo gen P450 (CYP6CY3), con pulgones resistentes que llevan ~18 copias del gen en comparación con las dos copias se encuentran en los pulgones susceptibles [14]. Sin embargo, los estudios de unión a ligando y de secuenciación no aportaron pruebas de que la modificación estructural del receptor de nicotínico de la acetilcolina (nAChR; el punto de acción de los neonicotinoides) contribuyera a la resistencia en este clon

En 2009, se descubrió sobre melocotoneros en el sur de Francia un clon de *M. persicae* con resistencia extremadamente potente a los neonicotinoides que compromete la eficacia en campo de los miembros de esta clase de insecticidas [12]. La resistencia es conferida tanto por la desintoxicación mediada por P450s y por la insensibilidad del punto de acción de los neonicotinoides. Éste es el primer ejemplo de la resistencia a los neonicotinoides en el punto de acción encontrada en poblaciones de campo. La comparación de la secuencia de nucleótidos de seis genes de subunidades del nAChR (Mpq1-5 y Mpβ1) de clones de pulgones resistentes y susceptibles, reveló un único punto de mutación en la región D del bucle de la subunidad β1 del nAChR del clon resistente, causando una sustitución de arginina a treonina (R81T) [12].

Dadas las graves consecuencias de esta mutación para un control efectivo de las poblaciones de esta plaga, se realizó un seguimiento de su expansión geográfica. La mutación se ha ido extendiendo, y hasta la fecha se ha encontrado en Italia, Francia y España [13]. Dentro de España se ha encontrado en plantaciones de frutales de hueso de Cataluña, Aragón, Murcia y Extremadura.

En España no se ha realizado nunca un estudio del estado de la resistencia a insecticidas en una plaga agrícola tan importante como *M. persicae*. Obviamente tampoco se conoce la prevalencia en las poblaciones españolas de los mecanismos de resistencia conocidos (a carbamatos, fosforados y piretroides) ni de los nuevos (a neonicotinoides), ni si pudieran presentarse algunos nuevos

Por todo ello es imprescindible conocer bien el estado de la resistencia a insecticidas en las poblaciones de *M. persicae* en los diferentes cultivos en los que causa daños importantes, así como los mecanismos de resistencia implicados, con el fin de diseñar estrategias adecuadas de tratamientos para un uso sostenible de los fitosanitarios. Por tanto se pretende estudiar el desarrollo potencial de la resistencia a los neonicotinoides imidacloprid y tiametoxam, y los insecticidas flonicamid, spirotetramat, pimetrocina y azadiractina, en poblaciones de *M. persicae* de cultivos de frutales y hortícolas de la Región de Murcia y otras regiones españolas.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos con imidacloprid, tiametoxam, y flonicamid.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Poblaciones

Se recogieron 4 poblaciones (BS, CH01, JM03 y AS01) de *M. persicae* de cultivos frutales de las principales zonas productoras (Lérida, Zaragoza y Murcia), abarcando diferentes escenarios de presión insecticida. Las poblaciones se criaron sobre plantas de pimiento en jaulas.

### 2.2 Insecticidas

Los insecticidas empleados en los bioensayos de adultos fueron flonicamid, imidacloprid, tiametoxam.

### 2.3 Bioensayos

Para los ensayos completos se utilizaron 4-5 concentraciones y un control para cada insecticida y población, tres repeticiones por concentración, y 30 individuos por repetición. Las dosis para cada insecticida se tomaron para un rango de 0-100% de mortalidad.

En hojas de pimiento se realizaron discos (37mm diámetro) que fueron sumergidos durante 10 segundos en la solución acuosa del insecticida a ensayar. Los discos fueron secados al aire y puestos sobre agar (1%) con el envés hacia arriba en la base de cajas de polipropileno. Las cajas son tapadas con su tapa, que estarán acondicionadas

para que puedan transpirar los pulgones y no se mueran por asfixia. Las placas son mantenidas a 25°C y fotoperiodo de 16:8 h (luz: oscuridad). La mortalidad se estimara a las 24, 48 y 72 horas para ajustar el mejor periodo para cada insecticida. Se realizaran los bioensayos con ninfas de 3-4 días (spirotretamat) y adultos ápteros (resto de insecticidas).

### 3. Resultados y Discusión

La tabla 1 muestra la concentración letal 50 obtenida para el insecticida imidacloprid, se observa como para las cuatro poblaciones bioensayadas la llamada BS ha presentado una LC<sub>50</sub> de 37,81 ppm siendo superior al del resto de las poblaciones. Si este resultado lo comparamos con el de la bibliografía [13] donde el resultado obtenido para el mismo insecticida ha sido de 235 ppm vemos que nuestra población no presenta una resistencia significativa. Para este insecticida la población más sensible ha sido CH01 obteniendo un valor de 2,84 ppm.

En la tabla 2 se muestra los resultados obtenidos para el insecticida tiametoxam, observamos cómo hay dos poblaciones (BS y CH01) que han obtenido una concentración letal 50 superiores al del resto de poblaciones, siendo su valor de 65,04 ppm y 48,16 ppm respectivamente. Vemos que apenas hay diferencias significativas cuando se compararon los resultados con la bibliografía [13], cuyo valor obtenido ha sido de 108 ppm.

La tabla 3 muestra la concentración letal 50 para el insecticida flonicamid. En este caso la población con un valor de la resistencia más elevado ha sido AS01 obteniendo una concentración letal 50 de 12,74 ppm mientras que la población llamada CH01 ha resultado ser la más sensible para este insecticida, obteniendo un valor de LC<sub>50</sub> de 7,22 ppm. Si de nuevo hacemos una comparativa con la bibliografía [13], observamos que nuestra población AS01 es ligeramente más resistente que su población más resistente, obteniendo ello un resultado de 2,7 ppm.

### 4. Conclusiones

Tras la realización de los distintos bioensayos podemos obtener una estimación del estado de la resistencia a los principales insecticidas utilizados para el control de *M. persicae*. Esto junto con la información suministrada por los mecanismos de resistencia implicados, nos ayudará a entender las resistencias cruzadas y, por tanto diseñar estrategias eficaces de manejo de la resistencia.

### 5. Agradecimientos

Este trabajo está siendo financiado por IRAC España.

### 6. Referencias bibliográficas

- [1] Blackman RL, Eastop VF: Aphids on the world's crops, an identification and information guide. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd; 2000.
- [2]. Devonshire AL, Field LM, Foster SP, Moores GD, Williamson MS, Blackman RL: The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1998, 353:1677-1684.
- [3]. Foster SP, Cox D, Oliphant L, Mitchinson S, Denholm I: Correlated responses to neonicotinoid insecticides in clones of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). Pest Manag Sci 2008, 64:1111-1114
- [4]. Margaritopoulos JT, Skouras PJ, Nikolaidou P, Manolikaki J, Maritsa K, Tsamandani K, Kanavaki OM, Bacandritsos N, Zarpas KD, Tsitsipis JA: Insecticide resistance status of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) populations from peach and tobacco in mainland Greece. Pest Manag Sci 2007, 63:821-829.
- [5]. Nauen R, Denholm I: Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: Current status and future prospects. Arch Insect Biochem Physiol 2005, 58:200-215.
- [6]. Philippou D, Field LM, Moores GD: Metabolic enzyme(s) confer imidacloprid resistance in a clone of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) from Greece. Pest Manag Sci 2009, 66:390-395.
- [7]. Puinean AM, Foster SP, Oliphant L, Denholm I, Field LM, Millar NS, Williamson MS, Bass C: Amplification of a cytochrome P450 gene is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. PLoS Genet 2010, 6:e1000999.
- [8]. Karunker I, Benting J, Lueke B, Ponge T, Nauen R, Roditakis E, Vontas J, Gorman K, Denholm I, Morin S: Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Insect Biochem Mol Biol 2008, 38:634-644.
- [9]. Liu ZW, Williamson MS, Lansdell SJ, Denholm I, Han ZJ, Millar NS: A nicotinic acetylcholine receptor mutation conferring target-site resistance to imidacloprid in *Nilaparvata lugens* (brown planthopper).

Proc Natl Acad Sci USA 2005, 102:8420-8425.

[10]. Puinean AM, Denholm I, Millar NS, Nauen R, Williamson MS: Characterisation of imidacloprid resistance mechanisms in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae). *Pest Biochem Physiol* 2010, 97:129-132.

[11]. Wen Y, Liu Z, Bao H, Han Z: Imidacloprid resistance and its mechanisms in field populations of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål in China. *Pest Biochem Physiol* 2009, 94:36-42.

[12] Bass, C., Puinean, A. M., Andrews, M., Cutler, P., Daniels, M., Elias, J., ... & Slater, R. (2011). Mutation of a nicotinic acetylcholine receptor  $\beta$  subunit is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *BMC neuroscience*, 12(1), 51.

[13] Slater, R., Paul, V. L., Andrews, M., Garbay, M., & Camblin, P. (2012). Identifying the presence of neonicotinoid resistant peach-potato aphid (*Myzus persicae*) in the peach-growing regions of southern France and northern Spain. *Pest management science*, 68(4), 634-638.

[14] Michela Panini, Davide Dradi, Gabriele Marani, Alda Butturini and Emanuele Mazzoni. Detecting the presence of target-site resistance to neonicotinoids and pyrethroids in Italian populations of *Myzus persicae*, 70(8), 931-938.

### Tablas y Figuras

**Tabla 1.** LC<sub>50</sub> de poblaciones de *M. persicae* a imidacloprid.

POB	LC <sub>50</sub>	Límites (Inf-Sup)	FR
-----	------------------	-------------------	----

BS	37,81	14,94-174,6	13,2
JM03	2,86	0,99-5,38	1,0
CH01	2,84	1,04-7,84	1
AS01	4,33	0,78-18,96	1,5

POB = Poblaciones

FR= Factor de Resistencia

**Tabla 2.** LC<sub>50</sub> de poblaciones de *M. persicae* a tiametoxam.

POB	LC <sub>50</sub>	Límites (Inf-Sup)	FR
BS	65,04	15,47-726,03	36,31
JM03	3,918	1,51-12,32	2,18
CH01	48,16	21,09-173,64	26,89
AS01	1,79	0,82-3,52	1

POB = Poblaciones

FR= Factor de Resistencia

**Tabla 3.** LC<sub>50</sub> de poblaciones de *M. persicae* a flonicamid.

POB	LC <sub>50</sub>	Límites (Inf-Sup)	FR
BS	8,68	3,41-16,9	1,2
JM03	10,28	1,34-20,64	1,42
CH01	7,22	2,78-12,85	1
AS01	12,74	5,20-22,50	1,76

POB = Poblaciones

FR= Factor de Resistencia