

## Resistance to neonicotinoids in Spanish populations of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)

## Resistencia a neonicotinoides en poblaciones españolas de *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)

A. Belando<sup>1\*</sup>, I. Moreno<sup>1</sup>, C. Grávalos<sup>1</sup>, P. Bielza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Vegetal, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 48, 30203, Spain.

\*Ana\_belando@hotmail.com

### **Abstract**

The peach aphid, *Myzus persicae*, is a pest of global importance. This species has developed resistance to many chemical classes, including organophosphates, carbamates and pyrethroids. Neonicotinoids are not affected by these mechanisms, and are currently the primary means of control. In 2009, it was found on peach trees in southern France a clone of *Myzus persicae* extremely powerful resistance to neonicotinoids, compromising their effectiveness in the field, being the first example of resistance to neonicotinoid at the site of action found in field populations of any species. To study the presence of this mutation in Spain, twelve populations from different regions were collected. The LC<sub>50</sub> values for imidacloprid ranged from 2.84 ppm to 944.9 ppm showing a high variability, suggesting that the most resistant populations carry the mutation. The most imidacloprid resistant populations also showed thiamethoxam resistance.

**Keywords:** Plague; mechanisms; clone.

### **Resumen**

El pulgón del melocotonero, *Myzus persicae*, es una plaga de importancia mundial. Esta especie ha desarrollado resistencia múltiple a muchas clases químicas, incluyendo organofosforados, carbamatos y piretroides. Los neonicotinoides no se ven afectados por estos mecanismos, y son actualmente el principal medio de control. En 2009 se descubrió sobre melocotoneros en el sur de Francia un clon de *Myzus persicae* con resistencia extremadamente potente a los neonicotinoides, comprometiendo su eficacia en campo, siendo el primer ejemplo de resistencia a neonicotinoides en el punto de acción encontrada en poblaciones de campo de cualquier especie. Para estudiar la presencia de esta mutación en España se recolectaron doce poblaciones de diferentes regiones. Los valores obtenidos de LC<sub>50</sub> a imidacloprid variaron de 2,84 ppm a 944,9 ppm demostrando una alta variabilidad, sugiriendo que las poblaciones más resistentes portan la mutación. Las poblaciones más resistentes a imidacloprid también mostraron resistencia a tiametoxam.

**Palabras clave:** Plaga; mecanismos; clon.

## **1. INTRODUCCIÓN**

*Myzus persicae* es una plaga de importancia mundial de una amplia gama de cultivos, por sus daños directos y por su capacidad de transmitir virus de plantas [1]. El control de *M. persicae* se basa casi exclusivamente en la aplicación de insecticidas y, como resultado, esta especie ha

desarrollado resistencia múltiple a muchas clases químicas, incluyendo carbamatos, organofosforados y piretroides [2]. Los mecanismos moleculares de resistencia a los insecticidas en *M. persicae* incluyen la sobreproducción de carboxilesterasas (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 del voltaje (resistencia knockdown, kdr) dando resistencia a los piretroides. Los neonicotinoides tales como imidacloprid, tiametoxam, tiacloprid, clotianidina y acetamiprid no se ven afectados por estos mecanismos, y actualmente son el principal medio de control.

Los neonicotinoides habían demostrado ser invulnerables al desarrollo de resistencias y se habían mantenido muy eficaces contra *M. persicae*, pero en 2009 se descubrió sobre melocotoneros en el sur de Francia un clon de *M. persicae* con resistencia extremadamente potente a los neonicotinoides, comprometiendo su eficacia en campo [3]. La resistencia es conferida tanto por la detoxificación mediada por P450s como por la insensibilidad del punto de acción de los neonicotinoides [3] Éste es el primer ejemplo de la resistencia a los neonicotinoides en el punto de acción encontrada en poblaciones de campo de cualquier especie [4,5]. La comparación de la secuencia de nucleótidos de seis genes de subunidades del nAChR (M $\alpha$ 1-5 y M $\beta$ 1) de clones de pulgones resistentes y susceptibles, reveló un único punto de mutación en la región D del bucle de la subunidad  $\beta$ 1 del nAChR del clon resistente, causando una sustitución de arginina a treonina (R81T) [3].

Debido a las graves consecuencias de esta mutación para el control efectivo de *M. persicae* el objetivo de este trabajo es realizar un seguimiento de su expansión geográfica y estudiar el desarrollo potencial de la resistencia a los neonicotinoides imidacloprid y tiametoxam. Hasta el momento se ha encontrado en Italia, Francia y España.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Poblaciones

Se recogieron 12 poblaciones 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 neonicotinoides empleados en los bioensayos han sido imidacloprid y 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 están 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 estimó a las 24, 48 y 72 horas para ajustar el mejor periodo para cada insecticida, la LC<sub>50</sub> se calculó mediante un programa estadístico (POLO PLUS). Se realizaron los bioensayos con adultos ápteros.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de LC<sub>50</sub> para imidacloprid variaron de 2,84 ppm a 944,9 ppm demostrando una alta variabilidad (Tabla 1). Las poblaciones JM03, CH01, AS01 y PL01 fueron susceptibles, BS, LLEIDA, JRP2, FLIX JML04 y JM01 medianamente resistentes y JML06 y JML02 resistentes a imidacloprid.

Se piensa que aquellas poblaciones que presentan una resistencia moderada deben de tener solamente el mecanismo de resistencia metabólico, mientras que las poblaciones resistentes presentan ambos mecanismos de resistencia: metabólico y en el punto de acción. Si este resultado lo comparamos con el de la bibliografía [6] donde el resultado obtenido es de 235 ppm vemos que nuestras poblaciones resistentes presentan valores similares o superiores, lo que sugiere la presencia de la mutación.

Las poblaciones más resistentes a imidacloprid (JML06 y JML02) también mostraron resistencia a tiametoxam (Tabla 2). Sin embargo, no hay un patrón claro de resistencia cruzada entre las poblaciones menos resistentes.

### 4. CONCLUSIONES

Se ha constatado la presencia en España de poblaciones de *M. persicae* altamente resistente a neonicotinoides.

### 5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está siendo financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2014-55298-R) y los fondos europeos FEDER. También ha sido financiado parcialmente por IRAC España.

### 6. REFERENCIAS

- [1] Blackman RL., Eastop VF., 2000. Aphids on the world's crops, an identification and information guide. Chichester. UK: John Wiley & Sons Ltd.
- [2]. Devonshire AL., Field LM., Foster SP., Moores GD., Williamson MS., Blackman RL. 1998. The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 353:1677-1684.
- [3] 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.
- [4]. Puinean A., M., Denholm I., Millar N. S., Nauen R., Williamson M. S. 2010. Characterisation of imidacloprid resistance mechanisms in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae). Pest. Biochem. Physiol 97:129-132.
- [5]. Wen Y., Liu Z., Bao H., Han Z. 2009. Imidacloprid resistance and its mechanisms in field populations of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål in China. Pest. Biochem. Physiol 94:36-42.
- [6] 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.

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

POB	LC <sub>50</sub>	Límites(Inf-Sup)	FR
JM03	2.86	1.00-5.39	1.0
CH01	2.84	1.04-7.85	1.0
AS01	4.33	0.79-18.96	1.5
PL01	7.331	2.11-22.1	2.6
BS	37.81	14.94-174.69	13.2
LLEIDA	17.59	2.51-38.80	6.1
JRP2	40.15	12.03-100.1	14.0
FLIX	33.89	9.86-77.67	11.8
JM01	133.86	35.9-9059.41	47.13
JML04	45.19	3.54-116.9	15.8
JML06	944.9	412.9-7520	330
JML02	240.2	161.5-342.8	84.0

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
JML04	0.19	0.02-0.53	0.05
AS01	1.79	0.82-3.52	0.5
JM03	3.92	1.52-12.32	1.0
JRP2	3.93	1.54-7.93	1.0
FLIX	4.92	0.51-11.19	1.3
LLEIDA	9.02	2.16-46.93	2.3
FLIX	4.92	0.51-11.19	1.3
JM01	12.51	3.26-43.16	65.8
CH01	48.16	21.09-173.6	12.3
PL01	56.3	10.8-129.14	296.26
BS	65.05	15.47-726.0	16.6
JML02	221.3	78.9-689.4	56.45
JML06	257.2	132.57-452.7	65.6

POB = Poblaciones

FR= Factor de Resistencia