

**Universitat Miguel Hernández d'Elx
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA**



TESIS DOCTORAL

**Ecología de los áfidos de pimiento
y de sus parasitoides en el sureste
de la península Ibérica**



**Michelangelo La Spina
2013**





Michelangelo La Spina
2013



Universitat Miguel Hernández d'Elx

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA

**Ecología de los áfidos de pimiento
y de sus parasitoides en el sureste
de la península Ibérica**

**TESIS DOCTORAL
Michelangelo La Spina
2013**



Universitat Miguel Hernández d'Elx
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA

Ecología de los áfidos de pimiento y de sus parasitoides en el sureste de la península Ibérica

TESIS DOCTORAL
2013

AUTOR
Michelangelo La Spina
Ingeniero Agrónomo

DIRECTOR
Juan Antonio Sánchez Sánchez
Doctor en Ciencias Biológicas

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL

D. **Juan Antonio Sánchez Sánchez**, Doctor en Ciencias Biológicas perteneciente al Departamento de Biotecnología y Protección de Cultivos del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario,

AUTORIZA

la presentación de la Tesis Doctoral titulada “**Ecología de los áfidos de pimiento y de sus parasitoides en el sureste de la península Ibérica**”, realizada por D. **Michelangelo La Spina**, bajo mi dirección, gracias a la concesión de una beca del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria de tipo predoctoral (Resolución de convocatoria de 12 de Mayo de 2005, publicada en el BOE del 8 de junio de 2005), en el Departamento de Biotecnología y Protección de Cultivos del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, y que presenta para la obtención del grado de **Doctor por la Universitat Miguel Hernández d'Elx**.

En La Alberca - Murcia, a 9 de abril de 2013



Fdo.: Dr. Juan Antonio Sánchez Sánchez
Director de la Tesis Doctoral

**AUTORIZACIÓN DE LA PRESENTACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL POR EL
DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO**

D. **Ricardo Abadía Sánchez**, Director del Departamento de Ingeniería en la Universitat Miguel Hernández d'Elx,

AUTORIZA

la presentación de la Tesis Doctoral titulada “**Ecología de los áfidos de pimiento y de sus parasitoides en el sureste de la península Ibérica**”, realizada por D. **Michelangelo La Spina**, bajo la dirección del **Dr. Juan Antonio Sánchez Sánchez**, que ha sido enmarcada en el Programa de Doctorado de Ciencias y Tecnologías Agrarias y Alimentarias del Departamento de Ingeniería, y que presenta para la obtención del grado de **Doctor por la Universitat Miguel Hernández d'Elx**.

En Orihuela, a 9 de abril de 2013



Fdo.: Ricardo Abadía Sánchez
Director del Departamento de Ingeniería

*ANTUDO!
ANimus TUus DOminus!*

*Popolu Sicilianu, 31/03/1282
Popolo Siciliano, 31/03/1282
Pueblo Siciliano, 31/03/1282
Poble Sicilià, 31/03/1282
Siziliar Herra, 1282/03/31
Sicilian Country, 03/31/1282*

*Un populu
mittitilu a catina
spugghiatilu
attuppatici a vucca
è ancora libiru.*

*Livatici u travagghiu
u passaportu
a tavula unnu mancia
u lettu unnu dormi,
è ancora riccu.*

*Un populu
diventa poviru e servu
quannu ci arrubbanu a lingua
addutata di patri:
è persu pi sempri.*

*Diventa poviru e servu
quannu i paroli
non figghianu paroli
e si mancianu tra d'iddi.*

*Minn'addugnu ora,
mentri accordu
la chitarra du dialettu
ca perdi na corda lu jornu.*

*Mentre arripezzu
a tila camuluta
ca tissiru i nostri avi
cu lana di pecuri siciliani.*

*E sugnu poviru:
haiu i dinari
e non li pozzu spènniri;
i giuelli
e non li pozzu rigalari;
u cantu
nta gaggia cu l'ali tagghiati.*

*Un poviru
c'addatta nte minni strippi
da matri putativa,
chi u chiama figghiu
pi nciuria.*

*Nuàtri l'avevamu a matri,
nni l'arrubbaru;
aveva i minni a funtana di latti
e ci vèppiru tutti,
ora ci sputanu.*

*Nni ristò a vuci d'idda,
a cadenza, a nota vascia
du sonu e du lamentu:
chissi non nni ponnu rubari.*

*Nni ristò a sumigghianza,
l'annatura, i gesti,
i lampi nta l'occhi:
chissi non ni ponnu rubari.*

*Non nni ponnu rubari,
ma ristamu poviri
e orfani u stissu.*

*Lingua e Dialettu
Io Faccio il poeta - Ignazio Buttita, 1970.*

*A mi madre, mio padre,
les meues germanes,
mi tía Inés y
els meus amics.*

*A todos los pueblos del mundo
que buscan la libertad.
¡No renunciéis a ella!
¡Seguid luchando!
ANTUDO!*

Agradecimientos

Agradezco a mi Director de Tesis Juan Antonio, por haberme dado la posibilidad de hacer esta tesis. Siempre valoraré su comprensión, apoyo y consejo a lo largo de todo este tiempo. Todos los conocimientos científicos que me ha transmitido siempre me serán de ayuda.

Agradezco al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria la concesión de la beca predoctoral que ha permitido realizar esta tesis, así como al Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, por haberme permitido realizarla en sus instalaciones.

Agradezco a mi madre todo el apoyo y comprensión que me ha ofrecido en estos años difíciles que he pasado fuera de casa. Sus tappers me han alimentado y han permitido que dedicara más tiempo a trabajar. Su aportación baturra me ha permitido enfrentarme a este reto con la nobleza, dedicación y tozudez propias del pueblo Aragónés.

Ringrazio a mio padre, perchè nella sua Sicilianità, mi ha riscoperto, nuove parole, detti e senza sereno. Picchi sempre a megghiu parola era chidda ca nun si dicia. E dopu tri generazioni, pure se mi ferisci o core, avi assai ragione quannu come so patri mi dice, di vasare i mani a cu si merita tagghiati. Ancora na vota, cu avi chiú sali sempri conza a minestra.

Agraïsc les meues germanes, perquè sempre han estat al meu costat quan més ho he necessitat, compartisc amb elles la nacionalitat Sicilianoaragonesa, el naixement valencià i des de menuts ens hem estimat i ajudat. Espere continuar fent-ho per molts anys.

Eskertzen diot Itsasori berarekin batera bizitako azken hiru urteotan eman didan laguntasuna, beti egon baita hala behar izan dudadean eta ulertu baitu tesi batek merezi baino denbora luzeagoa eskatu eta lapurtzen diola gehien maite dugunari. Lan hau, zeuretzat.

Agraïsc als meus amics de l'agrochipen, un curiós grup d'amics de la universitat que s'ha mantingut fidel a la nostra inicial amistat durant més de 10 anys, tots ells m'han sabut entendre i m'han donat bons consells. Gràcies Ana, Ana, Ángeles, Ato, David, Elisa, Esmeralda, Juan, Júlia, Orene...

Agraïsc al meu pare científic Alfonso, perquè em va fer amic dels pugons i em và donar coratge per a caminar sol. També agraïsc a la meua germana científica Belen, per transmetre'm eixa il·lusió que té ella per la recerca. Em van vore nèixer com a investigador i sempre m'han donat bons consells. Agraïsc també als meus companys de l'IVIA, que em varen encoratjar quan encetava, aquest camí. Gràcies Ana, Alberto, Beatriz, César, Eva, Helga, Jose, Juan, M^aÁngeles, M^aJesús, Marta, Nacho, Óscar, Paco, Pili, Rafa, Rafa, Raquel, Sara, Sandra, Vicent, Vicky, Tatiana, Ximo...

My acknowledgment goes to people of Amsterdam University. I was working there for four months and I learned from them many things. The best reminiscence was their scientific philosophy. Thanks to Arne, Maus, Michiel, Paul, Pauline, Peter...

Agradezco todos los compañeros de laboratorio que he tenido en estos últimos años y en especial los de la última época con los que he compartido experiencias, anécdotas, alegrías y tristezas y que siempre han estado allí, sobre todo en los malos momentos que es cuando más se aprecia. Gracias, Adrián, Aingeru, Aline, Antonio, Barbara, Carmen, Fernando, Elena, Esperanza, Helena, Inma, Isabel, Javi, José Isidro, M^aÁngeles, M^aÁngeles, Mari Carmen, Marta, Modesto, Mohammed, Natalie, Nieves, Otón, Pepa, Paco, Vero, Asun, Santi, Sole...

Y por último agradezco a los pocos elfos y hobbits, que viven o han vivido en Mordor entre tantos orcos, gracias a ellos mi vida fuera del laboratorio no ha sido tan aburrida y solitaria. Gracias, Alexis, Andrés, Carmen, David, Michel, Nahia, Victor, Victoriano... Agradecimiento especial a mi bicicleta que me ha llevado a trabajar y a explorar nuevas tierras y cumbres.

¡GRACIAS! GRAZIE! GRAZZI! GRÀCIES! ESKERRIK ASKO! MERCI! THANKS!

Índices

Índice

Resumen.....	1
Abstract.....	5
Resum.....	9
Introducción y Objetivos.....	13
1. Características del Campo de Cartagena.....	13
1.1. Ubicación, geografía y geología del Campo de Cartagena.....	13
1.2. Clima del Campo de Cartagena.....	14
1.3. Evolución e importancia de la agricultura en el Campo de Cartagena.....	15
2. Importancia del cultivo de pimiento.....	18
3. Evolución y problemática del control de plagas en pimiento.....	19
4. Control de áfidos del cultivo de pimiento.....	21
4.1. Principales áfidos en pimiento.....	21
4.2. Problemática en el control de los áfidos de pimiento.....	21
5. <i>Myzus persicae</i>	23
5.1. Origen, distribución, hospedantes, daños y modo de reproducción.....	23
5.2. Estructura poblacional de <i>Myzus persicae</i>	24
5.3. Abundancia de determinados genotipos de <i>Myzus persicae</i> en pimiento.....	26
6. Objetivos.....	28
7. Referencias bibliográficas.....	29

Capítulo I. Ecología de los áfidos plaga en cultivos protegidos de pimiento y sus parasitoides en el Campo de Cartagena.....	39
1. Introducción.....	39
2. Material y métodos.....	42
2.1. Área de estudio.....	42
2.2. Características de los cultivos y muestreo para las dinámicas poblacionales de áfidos y parasitoides en invernaderos comerciales.....	42
2.3. Muestreos adicionales en invernaderos de pimiento y en la vegetación del entorno....	44
3. Resultados.....	45
3.1. Dinámicas poblacionales de los áfidos y parasitismo en los invernaderos comerciales de pimiento.....	45
3.2. Áfidos provenientes de muestreos adicionales de invernaderos y de la vegetación de su entorno.....	49
3.3. Parasitoides provenientes de muestras adicionales de invernaderos y de la vegetación de su entorno.....	54
4. Discusión.....	57
5. Conclusiones.....	61
6. Referencias bibliográficas.....	63
 Capítulo II. Variación clonal de la especie <i>Myzus persicae</i> en el sureste de la península Ibérica.	71
1. Introducción.....	71
2. Material y métodos.....	76
2.1. Áreas de estudio.....	76
2.2. Metodología de muestreo.....	76

2.3. Extracción ADN, amplificación de microsatélites y cálculo diversidad genotípica.....	77
2.4. Determinación del ciclo reproductivo de clones de <i>Myzus persicae</i>	78
3. Resultados.....	79
3.1. Genotipado de <i>Myzus persicae</i> y su distribución geográfica, temporal y por tipo de hospedante.....	79
3.2. Diversidad de las poblaciones de <i>Myzus persicae</i>	86
3.3. Ciclos reproductivos de los clones de <i>Myzus persicae</i> y coloración.....	87
4. Discusión.....	89
4.1. Distribución geográfica, temporal y por tipo de hospedante de clones de <i>Myzus persicae</i>	89
4.2. Diversidad de las poblaciones de <i>Myzus persicae</i>	91
4.3. Ciclos reproductivos y coloración de los clones de <i>Myzus persicae</i>	93
5. Conclusiones.....	96
6. Referencias bibliográficas.....	97
Chapter III. Inferring the population structure of <i>Myzus persicae</i> in diverse agroecosystems using microsatellite markers.....	107
1. Introduction.....	107
2. Materials and methods.....	110
2.1. Sampling of <i>Myzus persicae</i>	110
2.2. Amplification of microsatellites loci.....	112
2.3. Genetical statistical analyses.....	113
3. Results.....	115
3.1. Microsatellite markers, linkage disequilibrium and genetic diversity.....	115

3.2. Genetic population structure in <i>Myzus persicae</i> in relation to host plant.....	118
3.3. Genetic population structure at geographical and temporal scale.....	119
4. Discussion.....	124
4.1. Genetic diversity.....	124
4.2. Population genetic structure in relation to host plants.....	126
4.3. <i>Myzus persicae</i> population structure at geographical and temporal scale.....	127
5. Conclusions.....	129
6. Bibliographic references.....	131
Capítulo IV. Variación en los principales parámetros biológicos entre cuatro clones de <i>Myzus persicae</i>	139
1. Introducción.....	139
2. Material y métodos.....	142
2.1. Clones de <i>Myzus persicae</i>	142
2.2. Características del ensayo.....	143
2.3. Cálculo y análisis de desarrollo, umbrales de desarrollo, reproducción, longevidad y parámetros de la tabla de vida.....	143
3. Resultados.....	145
4. Discusión.....	150
5. Conclusiones.....	155
6. Referencias bibliográficas.....	156

Capítulo V. Análisis de la respuesta de diferentes clones de <i>Myzus persicae</i> en su interacción con el parasitoide <i>Aphidius colemani</i>	165
1. Introducción.....	165
2. Material y métodos.....	168
2.1. Insectos.....	168
2.2. Ensayos de comportamiento.....	169
2.3. Descripción de los comportamientos y análisis.....	169
3. Resultados.....	171
3.1. Comportamiento defensivo de los clones de <i>Myzus persicae</i>	171
3.2. Comportamiento del parasitoide <i>Aphidius colemani</i>	173
3.3. Parasitismo.....	174
4. Discusión.....	175
5. Conclusiones.....	180
6. Referencias bibliográficas.....	182
Conclusiones Generales.....	189
General Conclusions.....	191

Índice de tablas y figuras

Introducción y Objetivos.....	13
Figura 1. Localización del área agrícola del Campo de Cartagena.....	13
Tabla 1. Superficie de cultivos del Campo de Cartagena (CARM, 2011).....	17
Capítulo I. Ecología de los áfidos plaga en cultivos protegidos de pimiento y sus parasitoides en el Campo de Cartagena.....	39
Figura 1. Dinámicas de áfidos y parasitismo en el Invernadero 1 (Inv-1) durante el año 2003.....	46
Figura 2. Dinámicas de áfidos y parasitismo en el Invernadero 2 (Inv-2) durante el año 2003.....	46
Figura 3. Dinámicas de <i>Myzus persicae</i> y parasitismo en el Invernadero 3 (Inv-3) e Invernadero 4 (Inv-4) durante la campaña de 2004.....	47
Figura 4. Dinámicas de <i>Myzus persicae</i> y parasitismo en el Invernadero 5 (Inv-5) e Invernadero 6 (Inv-6) durante la campaña de 2005.....	47
Figura 5. Frecuencias de parasitoides en los invernaderos comerciales: Inv-1, Inv-2, Inv-3, Inv-4, Inv-5, Inv-6.....	48
Tabla 1. Presencia de áfidos en los hospedantes muestreados (notación: Tabla 1 Continuación).....	50
Tabla1 Continuación. Apc= <i>Aphis craccivora</i> , Apg= <i>Aphis gossypii</i> , Aus= <i>Aulacorthum solani</i> , Mae= <i>Macrosiphum euphorbiae</i> , Myp= <i>Myzus persicae</i> , Apf= <i>Aphis fabae</i> , Aps= <i>Aphis spiraecola</i> , Apu= <i>Aphis umbrellae</i> , Bra= <i>Brachycaudus amygdalinus</i> , Brh= <i>Brachycaudus helichrysis</i> , Brb= <i>Brevicoryne brassicae</i> , Cae= <i>Capitophorus elaeagni</i> , Cai= <i>Capitophorus inulae</i> , Dyp= <i>Dysaphis plantaginea</i> ,	

Hyp=*Hyalopterus pruni*, Hyl=*Hyperomyzus lactucae*, Lys=*Lipaphis* spp.,
 Nar=*Nasonovia ribis-nigri*, Rhm=*Rhopalosiphum maidis*, Sif=*Sitobion fragariae*,
 Urs=*Uroleucon sonchi*, Wan=*Wahlgreniella nervata*.....51

Figura 6. Frecuencia de los áfidos que atacan pimiento en los invernaderos y en los principales hospedantes de su entorno. Familias de plantas: AST= Asteraceae, BRA= Brassicaceae, CHE= Chenopodiaceae, CON= Convolvulaceae, MAL= Malvaceae, PLA= Plantaginaceae, ROS= Rosaceae, SOL= Solanaceae, URT= Urticaceae.....52

Tabla 2. Plantas hospedantes y porcentaje de especies de áfidos que no atacan pimiento encontrados en el entorno de los invernaderos de pimiento. N= número de muestras.....53

Figura 7. Parasitoides recolectados dentro de los invernaderos comerciales en especies que atacan pimiento. La longitud de las barras representa el número de muestras donde se encuentran las diferentes especies de parasitoides.....54

Figura 8. Parasitoides recolectados en diferentes familias de plantas del entorno de los invernaderos. La longitud de las barras representa el número de muestras donde se encuentra una determinada especie de parasitoide.....55

Tabla 3. Parasitoides encontrados en especies de áfidos que no atacan pimiento. N= número de muestras, N indiv.= número de individuos.....56

Capítulo II. Variación clonal de la especie *Myzus persicae* en el sureste de la península Ibérica. 71

Figura 1. Distribución geográfica de los puntos de muestreo.....76

Tabla 1. Frecuencias y tamaños de los alelos (pb) en los clones plurianuales de *Myzus persicae*.....80

Figura 2. Distribución anual y geográfica de diferentes genotipos de <i>Myzus persicae</i> en cultivo de pimiento, plantas adventicias (Adv) y hospedante primario (Ros).....	83
Figura 3. Distribución geográfica de diferentes genotipos de <i>Myzus persicae</i> en las familias botánicas.....	83
Figura 4. Distribución geográfica de los genotipos plurianuales, locales y únicos de <i>Myzus persicae</i> en el cultivo del pimiento durante los cuatro años de muestro en el “Campo de Cartagena”	84
Figura 5. Distribución geográfica de los genotipos plurianuales, locales y únicos de <i>Myzus persicae</i> en las plantas adventicias durante los cuatro años de muestro en el “Campo de Cartagena”	84
Figura 6. Distribución geográfica de los genotipos plurianuales, locales y únicos de <i>Myzus persicae</i> en el hospedante primario durante los cuatro años de muestro en el “Campo de Cartagena”	85
Tabla 2. Índices de diversidad genotípica e índices de Shannon-Wiener de las poblaciones de <i>Myzus persicae</i>	87
Figura 7. Ciclos reproductivos de los clones de <i>Myzus persicae</i> y color de los individuos analizados.....	88
 Chapter III. Inferring the population structure of <i>Myzus persicae</i> in diverse agroecosystems using microsatellite markers.....	 107
Figure 1. Location of the sampling areas (top) and maps with the isoclines of the average (bottom left) and minimum temperatures in winter (bottom right).....	111
Table 1. Localities, area, year and month of sampling, hosts and number of individuals genotyped (N) in <i>Myzus persicae</i> samples.....	112

- Table 2. Population code: 1= AGHER05, 2= CAPEP05, 3= CAPEP06, 4= CAPEP08, 5= CAHER05, 6= CAHER06, 7= CAHER07, 8= CAHER08, 9=CAPRU05, 10= CAPRU08, 11= JUPRU08, 12= MUPRU08, 13= NOHER05, 14= NOHER08, 15= NOPRU05, 16= NOPRU08. Number of alleles (n), Observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity, F_{IS} -values (* significantly different from expected in HW equilibrium after Bonferroni correction). NA, not available.....117
- Table 3. Pairwise comparison for genetic differentiation based on F_{ST} -values for *Myzus persicae* samples on different plant families. URT, Urticaceae; SOL, Solanaceae; PLA, Plantaginaceae; MAL, Malvaceae; BRA, Brassicaceae; CON, Convolvulaceae; CHE, Chenopodiaceae; ROS, Rosaceae (*Prunus* spp.). NS= non-significant, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Significance after the correction of P by Bonferroni. Number of individuals genotyped (excluding duplicates) in brackets.119
- Figure 2. Population dendrogram for samples of *Myzus persicae* collected from 2005 to 2008 on different host plants (see Table 1 for sample codes). Numbers on nodes show bootstrap support (10,000 pseudo replications).....121
- Figure 3. STRUCTURE analyses for $K=2$ and 3 clusters. *Myzus persicae* population structure based on microsatellite scores. Each line represents a single individual and is fragmented in different colours according to the coefficient of ancestry of each individual.....121
- Table 4. Pairwise comparison for genetic differentiation based on F_{ST} -values for *Myzus persicae* samples (see Table 1 for sample codes). P-values obtained after 136,000 permutations. NS= non-significant, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; P significance after Bonferroni correction.....122

Table 5. Hierarchical analysis of molecular variance AMOVA for samples of <i>Myzus persicae</i> collected from 2005 to 2008 grouped by host category (crop, secondary and primary host). Degrees of freedom (d.f.), sums of square deviations (SSD), the percentage of the total variance due to each level and the probability test calculated after 1,023 permutations.....	123
Table 6. Hierarchical analysis of molecular variance AMOVA for samples of <i>Myzus persicae</i> collected in 2005 and 2008 on different host categories grouped by year. Degrees of freedom (d.f.), sums of square deviations (SSD), the percentage of the total variance due to each level and the probability test calculated after 1,023 permutations.....	123
Table 7. Results of Bayesian analyses using STRUCTURE. Percentage of individuals in the <i>Myzus persicae</i> samples assigned to each cluster according to their respective probabilities of ancestry for $K=2$ and $K=3$ in samples.....	123
Capítulo IV. Variación en los principales parámetros biológicos entre cuatro clones de <i>Myzus persicae</i>	139
Tabla 1. Características de los clones de <i>Myzus persicae</i>	142
Tabla 2. Tiempos de desarrollo en días de los cuatro clones (notación Tabla 1) de <i>Myzus Persicae</i>	146
Tabla 3. Constante térmica (k) y umbral térmico inferior (t) de los cuatro clones (notación Tabla 1) de <i>Myzus persicae</i>	146
Tabla 4. Fecundidad total por hembra de los cuatro clones (notación Tabla 1) de <i>Myzus persicae</i>	146
Figura 1. Curvas de reproducción y supervivencia en cuatro clones (Tabla 1) de <i>Myzus</i>	

<i>persicae</i>	148
Tabla 5. Parámetros de tabla de vida de los clones (notación Tabla 1) de <i>Myzus persicae</i> . N: número de individuos; Ro: Tasa neta de reproducción; G: Tiempo medio de generación; D: Tiempo de duplicación; r_m : Tasa intrínseca de crecimiento natural; λ : Capacidad finita de crecimiento.....	150
Capítulo V. Análisis de la respuesta de diferentes clones de <i>Myzus persicae</i> en su interacción con el parasitoide <i>Aphidius colemani</i>	165
Tabla 1. Estadísticos de los ANOVAs para los análisis de las pautas de comportamiento defensivo del áfido <i>Myzus persicae</i> , de ataque del parasitoide <i>Aphidius colemani</i> y de las tasas de parasitismo.....	172
Figura 1. Comportamientos defensivos frente a <i>Aphidius colemani</i> de los cuatro clones (notación Tabla 1 – Capítulo IV) de <i>Myzus persicae</i> durante tres minutos desde el primer toque antenal del parasitoide.....	173
Figura 2. Comportamientos de ataque del parasitoide <i>Aphidius colemani</i> a los cuatro clones (notación Tabla 1 – Capítulo IV) de <i>Myzus persicae</i> durante tres minutos desde el primer toque antenal del parasitoide.....	174
Figura 3. Porcentaje de momias en los cuatro clones (notación Tabla 1 – Capítulo IV) de <i>Myzus persicae</i> expuestos a hembras de <i>Aphidius colemani</i>	175

Resumen

Abstract

Resum

Resumen

El área agrícola del Campo de Cartagena, está localizada en el sureste de la península Ibérica, su territorio se encuentra situado en su mayoría en la provincia de Murcia, y una pequeña parte en la de Alicante. Es una zona con una gran diversidad de cultivos y vegetación espontánea. Uno de los principales cultivos es el pimiento [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] bajo invernadero. En la década de los 90 esta comarca sufrió un cambio drástico en el concepto de control de plagas con la introducción de estrategias basadas en el control biológico. El cambio de estrategias llevó asociado el incremento de la relevancia de plagas secundarias como los áfidos, cuya problemática se acrecentó, siendo actualmente una de las plagas clave.

En este trabajo se ha analizado la ecología de los áfidos plaga del cultivo de pimiento y de sus parasitoides. Se muestrearon varios invernaderos de pimiento y su entorno para determinar las distintas plantas hospedantes de los áfidos plaga y sus parasitoides asociados. El áfido mayoritario en los invernaderos de pimiento fue *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), en menor cantidad aparecieron *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) y *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae). Los parasitoides encontrados en mayor número parasitando a *M. persicae* fueron *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) y *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Braconidae). *Myzus persicae* presentó una elevada polifagia, encontrándose en la mayor parte de las plantas muestreadas. *Aphidius matricariae* fue el parasitoide más abundante, parasitando un gran número de áfidos en un gran número de especies vegetales presentes en el entorno de los invernaderos. La vegetación del entorno supone un reservorio importante de determinadas especies de parasitoides, así como de áfidos no perjudiciales para el cultivo, pero si huéspedes de los parasitoides que controlan los áfidos de pimiento.

Se ha determinado la diversidad genética en poblaciones de *M. persicae* mediante el uso

de marcadores microsatélite en el sureste de la península Ibérica. Además, se determinó el ciclo reproductor de 40 genotipos diferentes de *M. persicae*. Se encontraron 323 genotipos en 1.025 individuos de *M. persicae* analizados. La diversidad genotípica estuvo influenciada por el tipo de hospedante y por la zona, siendo mayor en el hospedante primario y en la zona continental. Los distintos genotipos de *M. persicae* se agruparon en clones plurianuales, locales y únicos dependiendo de su distribución espacio-temporal. En el hospedante primario la mayoría de clones fueron únicos, mientras que en plantas adventicias y pimiento abundaron los plurianuales. Entre los clones plurianuales se detectaron genotipos que, por su abundancia y distribución a lo largo de la geografía, pueden considerarse como “superclones”. La similitud en la frecuencia de genotipos entre las plantas adventicias y el pimiento nos indica que la principal fuente de infestación del cultivo bajo invernadero son las plantas herbáceas del entorno de estos. Los clones únicos presentaron en su mayoría el ciclo holocíclico, mientras que los plurianuales fueron en su mayoría anholocíclicos. La coloración en *M. persicae* parece estar relacionada con el tipo de ciclo reproductivo, siendo rojas la mayoría de formas partenogénicas obligadas y verdes las cíclicas.

En la región de Murcia se han muestreado dos áreas geográficas con condiciones climáticas distintas. La primera área, el Campo de Cartagena, se sitúa en el sur de la región. En esta área debido a las condiciones climáticas favorables es posible que *M. persicae* se reproduzca por partenogénesis a lo largo de todo el año. Las plantas hospedantes de *M. persicae* muestreadas fueron: (1) Hospedante primario; (2) Plantas adventicias; (3) Cultivo de pimiento en invernadero. La segunda área se encuentra en el norte de la región de Murcia, donde las temperaturas invernales son más frías y se espera que la partenogénesis obligada sea menos frecuente. Se determinó la estructura genética poblacional espacial y temporal de *M. persicae* en relación al tipo de hospedante y al área geográfica. En el hospedante primario hay principalmente formas partenogénicas cíclicas, mientras que en el secundario la proporción de formas

partenogenéticas cíclicas y obligadas depende de la zona geográfica, abundando las formas cíclicas en el norte y las obligadas en el sur. No existen indicios de especialización de *M. persicae* en ninguna familia botánica. Se observan dos clusters principales en las poblaciones analizadas, uno que engloba el hospedante primario y otro que agrupa las poblaciones de los distintos hospedantes secundarios. Las diferencias entre las muestras del hospedante secundario y las del primario podrían ser debidas a las diferencias en las frecuencias de los clones con partenogénesis obligada y a la baja capacidad de dispersión de los mismos.

La temperatura es uno de los factores que influencia el crecimiento de las poblaciones de áfidos y en especial de *M. persicae*. Se han determinado los tiempos de desarrollo, umbrales térmicos de desarrollo, fecundidades, longevidades y tasas de crecimiento de cuatro clones provenientes de las poblaciones de *M. persicae* del sureste de la península Ibérica: (1) anholocíclico rojo (superclón); (2) anholocíclico verde; (3) holocíclico verde; (4) androcíclico verde oscuro (superclón). No se apreciaron diferencias ni en los tiempos de desarrollo ni en los umbrales de desarrollo de los clones ensayados. Entre los dos clones anholocíclicos estudiados el de coloración roja es el que mejor respuesta tiene a las altas temperaturas, presentando mayor fecundidad, longevidad y r_m que los demás. En los invernaderos de pimiento el régimen de temperaturas veraniegas (25 – 35°C) es más favorable al clon anholocíclico rojo que al resto de los clones ensayados, lo que podría explicar, al menos en parte su abundancia en este cultivo. No obstante, las diferencias observadas en los parámetros biológicos entre clones no explican totalmente la gran abundancia y la distribución geográfica de este superclón rojo en el sureste de la península Ibérica.

La vulnerabilidad frente a enemigos naturales podría ejercer una presión selectiva sobre *M. persicae* que favorecería a aquellos genotipos con una mejor respuesta. Se ha analizado el comportamiento defensivo, de los cuatro clones anteriormente estudiados y el comportamiento de ataque de *A. colemani*. Se ha observado una variación en la respuesta a los ataques de los

parasitoides en los clones estudiados. Todos los clones emplearon en mayor o menor medida el comportamiento “espasmo” que consiste en el movimiento brusco del cuerpo y las patas traseras. El clon anholocíclico rojo es el que más emplea este tipo de defensa, mientras que el androcíclico verde oscuro el que menos, resultando sin embargo en una diferencia de parasitismo inversamente proporcional al nivel de defensa. El espasmo del tipo III, se produce sin interacción directa con el parasitoide y es muy empleado por el clon anholocíclico rojo. Las diferencias entre las oviposiciones y el parasitismo en los clones verdes anholocíclico y holocíclico, podrían ser debidas a la existencia de algún tipo de mecanismo de encapsulación del parasitoide dentro del cuerpo del huésped. No se puede concluir con los resultados obtenidos que el éxito del superclón rojo sea debido a una menor vulnerabilidad de este frente al ataque de los parasitoides.

Abstract

The agricultural area of Campo de Cartagena is located in the south-east of Iberian peninsula, the majority of its territory is situated in the province of Murcia, and a small part in Alicante. It is an area with a wide diversity of crops and natural vegetation. The greenhouse sweet pepper [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] is one of the main crops. During the 90s this shire underwent a drastic change in the pest control notion due to the introduction of strategies based on biological control. The strategies change was associated with an increment of the relevance of secondary pests such as aphids, whose problematic has increased and at the moment are one of the key pests.

The ecology of sweet pepper aphids and their parasitoids has been analysed in this work. Several greenhouses of sweet pepper and their surrounding were sampled to determine the aphid plant hosts and their associated parasitoids. The species of aphid most commonly found on sweet pepper was *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), with less quantity appeared *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) and *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae). The parasitoids most abundant parasitizing *M. persicae* were *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) and *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Braconidae). *Myzus persicae* presented a huge polyphagia, it was found on most of sampled plants. *Aphidius matricariae* was the most abundant parasitoid, it was found to parasitize a high number of aphids on a great number of plants from the greenhouses surrounding. Vegetation from greenhouse surrounding means an important reservoir of certain parasitoid species and aphids non detrimental for crop, which are host of parasitoids that control the aphids of sweet pepper.

Genetic diversity in *M. persicae* populations from south-east of Iberian peninsula was determined by the use of microsatellites markers. Additionally, the reproductive mode of 40 *M.*

persicae genotypes was determined. A total of 323 different genotypes were found in the 1,025 *M. persicae* individuals analysed. Genotypic diversity was influenced by kind of host and area, it was higher on primary host and continental area. The different *M. persicae* genotypes were gathered in pluriannual, unique and local clones according to their space-temporal distribution. On primary host most of the clones were unique, while on herbaceous plant and sweet pepper abounded pluriannual clones. Among the pluriannual clones were detected some genotypes with a high abundance and geographic distribution that could be considered as “superclones”. The similarity in the frequency of genotypes between herbaceous plants and sweet pepper indicate that the main infestation origin on greenhouse sweet pepper are herbaceous plants from their surrounding. Most of the unique clones presented the holocyclic cycle, while most of the pluriannual clones were anholocyclics. The coloration in *M. persicae* seems to be related with reproductive mode, most of the red forms are obligate parthenogens and most of the green forms are cyclical parthenogens.

Two areas with different climatic conditions were sampled in the region of Murcia. The first one, Campo de Cartagena, is located in the south of the region. In this area, due to favourable climatic conditions is possible that *M. persicae* may reproduce by parthenogenesis throughout the year. The *M. persicae* host plants sampled were: (1) Primary host; (2) Herbaceous plant; (3) Greenhouse sweet pepper crop. The second area is located on the north of the region of Murcia, where winter temperatures are colder and is expected that obligate parthenogenesis is less frequent. The spatial and temporal genetic population structure was determined in relation to host plants and geographic area. On primary host there are mainly cyclical parthenogenetic forms, while on secondary host the proportion of cyclical and obligate parthenogenetic forms depends on geographic area, cyclical form abound in the north and obligate forms in the south. There are not signs of *M. persicae* specialization in any botanical family. Two main clusters were observed in analysed population, one encompassing the primary host and another that joins

populations from secondary hosts. The differences between samples from secondary and primary host could be due to differences in the frequency of clones with obligate parthenogenesis and their low dispersal capacity.

Temperature is one of the factors that influence the growth of aphid populations, especially on *M. persicae*. Development times, development thresholds, fertilities, longevities and growth rates were determined in four clones from *M. persicae* populations originally from south-east of Iberian peninsula: (1) red anholocyclic (superclone); (2) green anholocyclic; (3) green holocyclic; (4) dark green androcyclic (superclone). There were no differences on clones tested neither development time nor development thresholds. Among the two anholocyclic clones, the red clone had a better response at high temperatures, showing higher fertility, longevity and r_m than the others. In sweet pepper greenhouses the summer temperature range (25 – 35°C) is more favourable for red anholocyclic clone than for the other studied clones. Nevertheless, observed differences in biological parameters among clones do not totally explain the great abundance and geographic distribution of red superclone in the south-east of Iberian peninsula.

Vulnerability to natural enemies could exert a selective pressure on *M. persicae* that would favour those genotypes with a better response. Defensive behaviour was analysed on the four clones previously studied and the attack behaviour of *A. colemani*. A variation in the response to the parasitoid attack on clones was observed. All clones utilized to a greater or lesser extent the “shake” behaviour which consist in an abrupt movement of the body and hind legs. The red anholocyclic clone is the one that uses this kind of defence more frequently, while the green dark androcyclic clone uses it the least. However, this results in a parasitism difference inversely proportional to the level of defense. The shake type III, is produced without direct parasitoid interaction and is the main behaviour in red anholocyclic clone. Differences between ovipositions and parasitism in green anholocyclic and holocyclic clones, could be due on the

existence of some mechanism of encapsulation of the parasitoid inside the aphid body. With these results it can not be concluded that the success of red superclone is due to a lesser vulnerability to the attack of the parasitoid.

Resum

L'àrea agrícola del Campo de Cartagena, està localitzada en el sud-est de la península Ibèrica, el seu territori es troba situat en la seua majoria en la província de Múrcia, i una xicoteta part en la d'Alacant. És una zona amb una gran diversitat de cultius i vegetació espontània. Un dels principals cultius és el pimentó [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] baix hivernacle. En la dècada dels 90 aquesta comarca va patir un canvi dràstic en el concepte de control de plagues amb la introducció d'estratègies basades en el control biològic. El canvi d'estratègies va portar associat l'increment de la rellevància de plagues secundàries com els àfids, i la seua problemàtica es va créixer, sent actualment una de les plagues clau.

En aquest treball s'ha analitzat l'ecologia dels àfids plaga del cultiu del pimentó i dels seus parasitoides. Es mostrejaren diversos hivernacles de pimentó i el seu entorn per a determinar les diferents plantes hospedants dels àfids plaga i els seus parasitoides associats. L'àfid majoritari en els hivernacles de pimentó va ser *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), en menor quantitat van aparèixer *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) i *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae). Els parasitoides trobats en major nombre parasitant a *M. persicae* van ser *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) i *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Braconidae). *Myzus persicae* va presentar una elevada polifàgia, trobant-se en la major part de les plantes mostrejades. *Aphidius matricariae* va ser el parasitoid més abundant, parasitant un gran nombre d'àfids en un gran nombre d'espècies vegetals presents a l'entorn dels hivernacles. La vegetació de l'entorn suposa un reservori important de determinades espècies de parasitoides, així com d'àfids no perjudicials per al cultiu, però si hostes dels parasitoides que controlen els àfids de pimentó.

S'ha determinat la diversitat genètica en poblacions de *M. persicae* mitjançant l'ús de marcadors microsatèl·lit en el sud-est de la península Ibèrica. A més, es va determinar el cicle

reproductor de 40 genotips diferents de *M. persicae*. Es van trobar 323 genotips en 1.025 individus de *M. persicae* analitzats. La diversitat genotípica va estar influenciada pel tipus d'hospedant i per la zona, sent major en l'hospedant primari i en la zona continental. Els diferents genotips de *M. persicae* es van agrupar en clons plurianuals, locals i únics depenent de la seua distribució espai-temporal. En l'hospedant primari la majoria de clons van ser únics, mentre que en plantes adventícies i pimentó van abundar els plurianuals. Entre els clons plurianuals es van detectar genotips que, per la seua abundància i distribució al llarg de la geografia, poden considerar-se com "superclons". La similitud en la freqüència de genotips entre les plantes adventícies i el pimentó ens indica que la principal font d'infestació del cultiu baix hivernacle són les plantes herbàcies de l'entorn d'aquests. Els clons únics van presentar en la seua majoria el cicle holocíclic, mentre que els plurianuals van ser en la seua majoria anholocíclics. La coloració en *M. persicae* sembla estar relacionada amb el tipus de cicle reproductiu, sent roges la majoria de formes partenogenètiques obligades i verdes les cíclicues.

En la regió de Múrcia s'han mostrejat dues àrees geogràfiques amb condicions climàtiques diferents. La primera àrea, el Campo de Cartagena, se situa en el sud de la regió. En aquesta àrea a causa de les condicions climàtiques favorables és possible que *M. persicae* es reproduïska per partenogènesis al llarg de tot l'any. Les plantes hospedants de *M. persicae* mostrejades van ser: (1) Hospedant primari; (2) Plantes adventícies; (3) Cultiu de pimentó en hivernacle. La segona àrea es troba en el nord de la regió de Múrcia, on les temperatures hivernals són més fredes i s'espera que la partenogènesi obligada siga menys freqüent. Es va determinar l'estructura genètica poblacional espacial i temporal de *M. persicae* en relació al tipus d'hospedant i a l'àrea geogràfica. En l'hospedant primari hi ha principalment formes partenogenètiques cíclicues, mentre que en el secundari la proporció de formes partenogenètiques cíclicues i obligades depèn de la zona geogràfica, abundant les formes cíclicues en el nord i les obligades en el sud. No existeixen indicis d'especialització de *M.*

persicae en cap família botànica. S'observen dos clusters principals en les poblacions analitzades, un que engloba l'hospedant primari i un altre que agrupa les poblacions dels diferents hospedants secundaris. Les diferències entre les mostres de l'hospedant secundari i les del primari podrien ser degudes a les diferències en les freqüències dels clons amb partenogènesi obligada i a la baixa capacitat de dispersió dels mateixos.

La temperatura és un dels factors que influència el creixement de les poblacions d'àfids i especialment de *M. persicae*. S'han determinat els temps de desenvolupament, límits tèrmics de desenvolupament, fecunditats, longevitats i taxes de creixement de quatre clons provinents de les poblacions de *M. persicae* del sud-est de la península Ibèrica: (1) anholocíclic roig (superclon); (2) anholocíclic verd; (3) holocíclic verd; (4) androcíclic verd fosc (superclon). No es van apreciar diferències ni en els temps de desenvolupament ni en els límits de desenvolupament dels clons assajats. Entre els dos clons anholocíclics estudiats el de coloració roja és el que millor resposta té a les altes temperatures, presentant major fecunditat, longevitat i r_m que els altres. En els hivernacles de pimentó presents el règim de temperatures estiuenques (25 – 35°C) és més favorable al clon anholocíclic roig que a la resta dels clons assajats, la qual cosa podria explicar, almenys en part la seua abundància en aquest cultiu. No obstant açò, les diferències observades en els paràmetres biològics entre clons no expliquen totalment la gran abundància i la distribució geogràfica d'aquest superclon roig en el sud-est de la península Ibèrica

La vulnerabilitat enfront d'enemics naturals podria exercir una pressió selectiva sobre *M. persicae* que afavoriria a aquells genotips amb una millor resposta. S'ha analitzat el comportament defensiu, dels quatre clons anteriorment estudiats i el comportament d'atac d'*A. colemani*. S'ha observat una variació en la resposta als atacs dels parasitoid en els clons estudiats. Tots els clons van emprar en major o menor mesura el comportament “espasme” que consisteix en el moviment bruscat de cos i les potes posteriors. El clon anholocíclic roig és el que més empra aquest tipus de defensa, mentre que el androcíclic verd fosc el que menys, resultant no obstant

açò en una diferència de parasitisme inversament proporcional al nivell de defensa. L'espasme del tipus III, es produeix sense interacció directa amb el parasitoid i és molt emprat pel clon anholocíclic roig. Les diferències entre les oviposicions i el parasitisme en els clons verds anholocíclic i holocíclic, podrien ser degudes a l'existència d'algun tipus de mecanisme d'encapsulació del parasitoid dins del cos de l'hoste. No es pot concloure amb els resultats obtinguts que l'èxit del superclon roig siga a causa d'una menor vulnerabilitat d'aquest enfront de l'atac dels parasitoids.

Introducción y Objetivos

Introducción y Objetivos

1. Características del Campo de Cartagena.

1. 1. Ubicación, geografía y geología del Campo de Cartagena.

El Campo de Cartagena es una zona agrícola situada en el sureste de la península Ibérica (Figura 1). La mayoría de su territorio se encuentra en la región de Murcia y pertenece a los municipios de Cartagena, Torre Pacheco, Fuente Álamo de Murcia, San Javier, San Pedro del Pinatar, Los Alcázares, La Unión y a varias pedanías del municipio de Murcia (Corvera, Lobosillo, Sucina, Valladolides y Lo Jurado). También se pueden incluir en esta área agrícola los municipios del País Valenciano de El Pilar de la Horadada, Guardamar de Segura, Los Montesinos, San Miguel de Salinas y parte de los territorios de Orihuela y de Torrevieja.



Figura 1. Localización del área agrícola del Campo de Cartagena.

Geológicamente el Campo de Cartagena es un gran plano inclinado de 1.600 Km² de extensión con dirección NO-SE, formado por materiales recientes del Cuaternario, sobre todo del Holoceno y en menor medida del Pleistoceno superior y medio. A nivel morfogénético en su parte central se compone principalmente de costras, cantos redondeados, arenas y limos. Esta zona está delimitada por las últimas estribaciones orientales de las Cordilleras Béticas. Por el

norte y noroeste la frontera la marcan las sierras pre-litorales de Carrascoy, El Puerto, Los Villares, Columbares y Escalona, y por el sur y suroeste las sierras litorales de El Algarrobo, Sierra de la Muela, Sierra de Pelayo, Sierra Gorda, Sierra de La Fausilla y la Sierra minera de Cartagena-La Unión, con sus últimas estribaciones en el Cabo de Palos. Por el este cierra esta comarca el mar Menor. Todas las sierras limítrofes están formadas por calizas, dolomías, filitas y cuarcitas, de origen triásico. En el centro de la comarca se encuentra la única elevación significativa que es el Cabezo Gordo (312 s.n.m), geológicamente es el punto más antiguo de la comarca formado por micaesquistos feldespáticos, gneises, metabasitas y yesos (IGME 1993).

La formación geológica del Campo de Cartagena es bastante reciente, afloró del fondo del mar en el Mioceno superior, durante la denominada crisis salina del Mesiniense en la que el mar Mediterráneo se desecó por completo (Gargani y Rigollet 2007). Debido a esta desecación se produjo una conexión terrestre con el continente africano provocando también la colonización de la zona de numerosas especies vegetales y animales provenientes del norte de África. Durante esta era geológica, entre 5 y 7 millones de años desde la actualidad, se produjeron numerosas erupciones volcánicas que terminaron hace un millón de años (mitad del Pleistoceno) que dieron lugar a la formación de las islas del Mar Menor, la Isla Grosa, el Carmolí o el Cabezo Beaza (Lopez Ruiz y Rodriguez Badiola 1980). Durante el Plioceno el mar volvió a subir de nivel creando el estrecho de Gibraltar y el Campo de Cartagena quedó nuevamente inundado para volver finalmente a emerger poco después en el Cuaternario hace unos dos millones de años.

1.2. Clima del Campo de Cartagena.

El clima de esta región es de tipo mediterráneo seco de transición entre el mediterráneo típico y el desértico, caracterizado por tener temperaturas invernales algo más cálidas que las del mediterráneo típico, siendo el verano seco y caluroso con temperaturas medias por encima de los

25°C. La influencia del mar Mediterráneo modula el clima del Campo de Cartagena, favoreciendo inviernos menos fríos y veranos menos cálidos que las tierras del interior de la región de Murcia. Las precipitaciones oscilan entre los 265 y los 350 mm anuales, concentrándose casi todas ellas en invierno, otoño y primavera, teniendo lugar en estas dos últimas estaciones de una forma torrencial. Las zonas más cercanas a la costa mediterránea son ligeramente más cálidas en invierno que las próximas a las sierras circundantes, con temperaturas de entre 3 y 7°C durante 90 días, en contraste con los 115 días del interior del Campo de Cartagena. Son raras las ocasiones con temperaturas superiores a los 35°C en verano e inferiores a los 3°C en invierno (Conesa García 1990).

1.3. Evolución e importancia de la agricultura en el Campo de Cartagena.

El aprovechamiento agrícola de la comarca del Campo de Cartagena, data de los tiempos de los romanos. La primera especie que se aprovecha como cultivo es el esparto [*Stipa tenacissima* L. (Poaceae)], por ser una planta muy abundante en la zona. Esta especie era elaborada y comercializada por los romanos en toda el área del mar Mediterráneo bajo su influencia.

Las condiciones climatológicas y orográficas del terreno hacen que no existan cursos de agua continuos. Debido a la escasez hídrica, los cultivos de secano han sido tradicionalmente siempre los más abundantes e importantes en esta zona. Entre los cultivos de secano han destacado el olivo [*Olea europea* L. (Oleaceae)], el almendro [*Prunus dulcis* (Mill.) (Rosaceae)], el algarrobo [*Ceratonia siliqua* L. (Fabaceae)] y diferentes tipos de cereales. La vid [*Vitis vinífera* L. (Vitaceae)] también tuvo su importancia en el pasado, pero a partir del siglo XIX, empezó su decadencia hasta su casi desaparición debido a la filoxera. Otros cultivos de importancia han sido la sosa [*Suaeda maritima* (L.) (Amaranthaceae)] y la barrilla [*Salsola kali* L. (Amaranthaceae)], usadas para la fabricación de la sosa cáustica, de gran importancia en la

producción del jabón.

La introducción de los molinos de viento en el Campo de Cartagena permitió la extracción de agua de los acuíferos subterráneos y por lo tanto el establecimiento de los primeros cultivos de regadío: habas [*Vicia faba* L. (Fabaceae)], guisantes [*Pisum sativum* L. (Fabaceae)], melones [*Cucumis melo* L. (Cucurbitaceae)], sandías [*Citrullus lanatus* (Thunb.) (Cucurbitaceae)], pimientos [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] y tomates [*Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae)]. Pero sin duda el punto de inflexión en la agricultura en esta zona se produjo en el siglo XX, cuando en los años 80 llegó el agua proveniente del trasvase Tajo-Segura y miles de hectáreas de secano se convirtieron a regadío. La disponibilidad de agua y las condiciones climáticas favorables en la zona, junto a la introducción de las técnicas propias de los cultivos protegidos, permitieron un crecimiento importante de la agricultura basada en la producción de frutas y hortalizas. Como consecuencia de esto la agricultura del Campo de Cartagena se tecnificó y se profesionalizó, aumentando la producción y las exportaciones al resto de Europa y del Mundo.

El paso de la historia ha dibujado un Campo de Cartagena, con la agricultura como la principal actividad. Un espacio en el que conviven diferentes tipos de cultivos de secano, como los cereales, y de regadío como las hortalizas y los frutales. De entre todos los cultivos, el pimiento ocupa un lugar destacado por su importancia económica y abundancia. El cultivo de pimiento no es el mayoritario en cuanto a superficie, ya que el almendro, los cítricos y hortalizas como la lechuga [*Lactuca sativa* L. (Asteraceae)], el brócoli [*Brassica oleracea italica* Plenck (Brassicaceae)] y la alcachofa [*Cynara scolymus* L. (Asteraceae)] ocupan la mayor parte de la extensión agrícola. La existencia de un gran número de cultivos minoritarios (Tabla 1) junto a las diferentes plantas espontáneas del entorno hace que esta comarca tenga una gran diversidad ecológica.

Cultivo	Superficie (Ha)		
Almendro	5.430	Triticale	32
Lechuga	4.768	Kaki, Frambueso, Moral	30
Melón	4.629	Melocotonero	27
Limonero	3.683	Maíz	26
Alcachofa	3.103	Ciruelo	24
Naranja	2.445	Pimiento para pimentón	16
Brócoli	2.142	Cardo	15
Mandarino	1.874	Granado	15
Pimiento	1.243	Haba seca	14
Cebada	1.042	Berenjena	12
Patata	926	Pepino	12
Trigo	861	Espinaca	10
Olivar	755	Zanahoria	10
Coliflor	667	Guisante seco	10
Apio	547	Ajo	9
Algarrobo	494	Acelga	8
Escarola	386	Higuera	8
Sandía	382	Limero y otros cítricos	7
Cebolla	216	Caña vulgar	7
Haba verde	207	Algodón	6
Avena	182	Rosa	5
Calabacín	158	Calabaza	4
Pomelo	124	Cebolleta	4
Tomate	83	Rábano	4
Col	82	Chumbera	4
Viñedo de uva de mesa	79	Clavel	3
Alfalfa	75	Nabo	2
Viñedo de uva de vino	63	Albaricoquero	2
Puerro	60	Manzano	2
Plantas ornamentales	49	Níspero	2
Guisante verde	33	Sorgo forrajero	1
		Judía verde	1

Tabla 1. Superficie de cultivos del Campo de Cartagena (CARM, 2011).

2. Importancia del cultivo de pimiento.

El pimiento es un cultivo originario de Suramérica, concretamente de las áreas de Perú y Bolivia, desde aquí se extendió al resto de América Central y Meridional. Con la llegada de los europeos a América, el cultivo se introdujo en Europa y posteriormente se expandió al resto del mundo. En la actualidad China es el mayor productor de pimiento del mundo. La superficie de pimiento en este país representa un 35,78% de la superficie mundial destinada a este cultivo y su producción representa un 51,06% del total mundial. Por otro lado el cultivo de pimiento en España representa poco más del 0,98% (18.000 Ha) de la superficie mundial y un 2,96% (872.000 T) de la producción mundial de pimiento (FAOSTAT 2010). La mayor parte del cultivo se ubica en Andalucía, donde representa un 57,82% de la superficie nacional y un 62,67% de la producción nacional de pimiento. La región de Murcia ocupa el segundo lugar a nivel nacional tanto en superficie como en producción de pimiento con un 8,83% (1.671 Ha) y 13,64% (126.741 T) (MAGRAMA 2011). En esta región casi la totalidad de la superficie se ubica en la comarca del Campo de Cartagena (1.243 Ha) a la que hay que añadir las 140 ha de la comarca valenciana de la Vega Baja del Segura (Figura 1), limítrofe con la anterior. Ambas comarcas se consideran una única zona agrícola. Una gran proporción del cultivo en esta zona se hace en invernaderos de tipo parral (1.176 Ha) (CARM 2011, Generalitat Valenciana 2011).

En España existen en la actualidad tres ciclos de cultivo de pimiento. (1) El ciclo extratemprano que empieza en el semillero a partir de septiembre, se trasplanta en invernadero a finales de noviembre y se empieza a recolectar a mediados de febrero. Se trata de un ciclo de cultivo típico de zonas donde hay invernaderos, como es el caso del Campo de Cartagena y su producción se destina principalmente a la exportación. (2) El ciclo temprano se retrasa un par de meses respecto al anterior y se realiza en túneles en semiforzado: éste es un ciclo característico del área litoral valenciana. (3) El ciclo normal tardío, se hace al aire libre, se recolecta en verano

y es típico de las zonas de interior. En determinados casos para obtener cosechas más tempranas se hacen plantaciones en julio y agosto para recolectar en la época invernal, son explotaciones muy tecnificadas de la zona de Almería y del Campo de Cartagena (Maroto 2002). En la comarca agrícola del Campo de Cartagena las explotaciones son de un tamaño aproximado de una hectárea, siendo un cultivo familiar.

Durante los últimos 15 años la superficie de hortalizas en España ha ido descendiendo, sin embargo la producción y su valor ha ido aumentando: el cultivo de pimiento ha disminuido en unas 8.000 Ha y ha aumentando unas 300.000 toneladas. La intensificación de la producción ha sido debida a varios factores, pero sin duda el cambio en los planteamientos de control de plagas ha sido determinante. Por ejemplo, se ha registrado un incremento de la producción en los invernaderos donde se aplica el control biológico de plagas en relación a cuando se utilizaba el control químico (Sanchez y Lacasa 2006).

3. Evolución y problemática del control de plagas en pimiento.

En los cultivos intensivos, como es el caso del pimiento, se han planteado una serie de problemas a resolver en cuanto a abonado, riego y control de plagas. La poca diversidad vegetal de los cultivos en invernadero junto a las benignas condiciones climáticas hace de estos espacios, lugares propicios para el desarrollo de plagas. Tradicionalmente para luchar contra las plagas agrícolas del pimiento se ha recurrido a materias activas con un amplio espectro de acción, que controlaban las especies más perjudiciales del cultivo de pimiento, sobre todo thrips y ácaros, e indirectamente mantenían bajo control plagas secundarias como los áfidos (Ramakers 2004). El cultivo de pimiento del Campo de Cartagena está estrictamente vigilado por la Unión Europea, cuyas políticas respecto a residuos de materias activas en productos agrícolas son cada vez más restrictivas. En los últimos años se ha registrado la prohibición del empleo de numerosas

materias activas para el control de plagas en agricultura, en aplicación de las normativas de la Unión Europea (directivas 91/414/CEE, 2009/128/CE y Reglamento (CE) N° 1107/2009).

La introducción de estrategias de control biológico de plagas en el cultivo de pimiento supusieron un punto de inflexión en el sistema productivo de pimiento en invernadero del Campo de Cartagena (Sanchez y Lacasa 2006). A mediados de la década de los 80 llegó a los invernaderos de pimiento del Campo de Cartagena el thrip *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) (Lacasa 1990). Esta nueva plaga supuso un trastorno en los programas de control químico existentes y truncó los primeros intentos de desarrollo de programas de control integrado de plagas. En la década de los 90 el grupo de protección de los cultivos del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA) inició las investigaciones encaminadas a desarrollar programas de control biológico de plagas en el cultivo de pimiento del Campo de Cartagena. Dichas investigaciones en un primer momento catalogaron los enemigos naturales de *F. occidentalis* asociados al cultivo de pimiento (Lacasa et al. 1996), y en un segundo momento investigaron el potencial de *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae), *Orius albidipenis* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae) y *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) en el control de *F. occidentalis* (Sanchez et al. 1995, 1997). En menos de 10 años, en un 90% de la superficie de invernadero se aplicaban estrategias de control biológico de plagas y el número de materias activas descendió de 27 aplicaciones con distintas materias activas a 8,5 con *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillales: Bacillaceae). La aplicación de estas estrategias y la reducción de materias activas implicó: una reducción en el riesgo de salud de productores y consumidores de pimiento; una reducción en el impacto negativo de las materias activas en los ecosistemas cercanos; mayores ingresos por la mejor vegetación de las plantas, reducción de la incidencia del virus del bronceado del tomate (TSWV) y la ampliación del periodo de recolección (Sanchez y Lacasa 2006).

El abandono progresivo de las estrategias de control de plagas basados en productos químicos y su substitución por estrategias basadas en la introducción o conservación de enemigos naturales, hizo que determinadas plagas consideradas secundarias [*Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae), *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae), *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae), *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae),...], pasasen a ser problemáticas (Sanchez y Lacasa 2006).

4. Control de áfidos del cultivo de pimiento.

4.1. Principales áfidos en pimiento.

Los áfidos son una de las plagas secundarias que más problemas ocasiona en el cultivo de pimiento bajo invernadero (Sanchez y Lacasa 2006, La-Spina et al. 2008, Sanchez et al. 2010). Entre las especies que afectan a pimiento se pueden citar: *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae), *M. euphorbiae* y *A. solani* (Rabasse y van Steenis 1999, Blackman y Eastop 2000, Blümel 2004, Ramakers 2004). En general los problemas que ocasionan este tipo de áfidos derivan de la gran cantidad de melaza que secretan, y de la alta eficiencia en la transmisión de virus (Ferreeres et al. 1993, Fernandez-Calvino et al. 2006, La-Spina et al. 2008). Por otro lado, algunas especies como *A. solani* producen graves daños al provocar la defoliación de plantas incluso a densidades muy bajas (Hermoso-de-Mendoza et al. 2006, Sanchez et al. 2007).

4.2. Problemática en el control de los áfidos de pimiento.

En el control de los áfidos en cultivos protegidos se han usado diferentes especies de parasitoides y depredadores, entre las que destacan afelínidos, braconídeos y coccinélidos (Blümel 2004, Ramakers 2004). En el caso del cultivo de pimiento bajo invernadero las especies más

usadas han sido los braconidos *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae), *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) y *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae), el afelínido *Aphelinus abdominalis* Dalman (Hymenoptera: Aphelinidae), el coccinéido *Hippodamia convergens* Guérin (Coleoptera: Coccinellidae) y el crisópido *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) (Blümel 2004). Con el paso de los años el número de especies usadas para el control de áfidos en pimiento se ha ido reduciendo; por ejemplo *A. matricariae* ha sido sustituido por especies más polífagas como *A. colemani* (van Steenis 1995, Ramakers 2004).

Desafortunadamente el uso exclusivo de estos agentes de control no produce resultados totalmente satisfactorios, por lo que los agricultores acaban usando productos químicos compatibles con los enemigos naturales (Ramakers 2004). El uso reiterado de las pocas materias activas eficaces para el control de áfidos y compatibles con los enemigos naturales aumenta la probabilidad de la aparición de resistencias. Este uso repetido de materias activas para el control de los áfidos ha dado lugar a la generación de resistencias frente a organofosfatos, carbamatos y piretroides (Moore et al. 1994, Field et al. 1997, Martínez-Torres et al. 1997).

El uso de insecticidas compatibles con enemigos naturales ha supuesto una disminución en los esfuerzos en la investigación para la búsqueda de soluciones biológicas para los áfidos. El control biológico de áfidos en las últimas décadas se ha basado en el empleo de unas pocas especies de enemigos naturales, habiéndose dedicado muy pocos esfuerzos a la búsqueda de enemigos naturales más efectivos (Sanchez et al. 2010). El control biológico de áfidos se ha basado casi exclusivamente en la suelta de depredadores y parasitoides y, en raras ocasiones, se ha dado importancia a la conservación de las poblaciones de enemigos naturales en el entorno para el control de áfidos en los cultivos de pimiento en invernadero (Pineda et al. 2007, Pineda y Marcos-García 2008, Sanchez et al. 2010). En el ámbito agrícola la vegetación espontánea se

asocia por lo general a fuente de áfidos plaga y raramente como un reservorio de enemigos naturales. La estructura de los invernaderos de los cultivos protegidos de las áreas mediterráneas, a diferencia de las del norte de Europa, permiten el movimiento de insectos entre el interior y el exterior, jugando el control biológico natural un gran papel en el control de plagas (Gabarra et al. 2004). La mayoría de los braconidos que se desarrollan en los áfidos son muy polípagos y con capacidad de parasitar diferentes huéspedes provenientes de diferentes plantas: por esta razón no es de extrañar que el parasitismo encontrado en áfidos en los cultivos de pimiento se deba en gran medida a especies de parasitoides provenientes de la vegetación del entorno de los invernaderos (Stary 1986, Stary y Némec 1986, Kavallieratos et al. 2002, Sanchez et al. 2010).

El áfido más abundante y problemático en el cultivo de pimiento en invernadero en la zona del Campo de Cartagena es *M. persicae* (Sanchez et al. 2010). El difícil control por parte de los agricultores de alguno de sus fenotipos, su amplia distribución en diversos hospedantes o sus variaciones en el ciclo de vida, invitan a profundizar su estudio.

5. *Myzus persicae*.

5.1. Origen, distribución, hospedantes, daños y modo de reproducción.

Su origen es probablemente asiático, aunque actualmente está ampliamente distribuido por todo el mundo. El hospedante primario de *M. persicae* son algunas especies del género *Prunus* spp., también originarias de Asia. Los hospedantes secundarios de esta especie de áfido pertenecen a más de 40 familias botánicas, incluyendo los principales cultivos agrícolas. Entre los hospedantes secundarios se encuentra el cultivo de pimiento en el cual es considerado como una plaga en las zonas de producción bajo invernadero de todo el mundo: Argentina (Vasicek et al. 2001); Australia (Spooner-Hart 1993); Canadá (Gilkeson 1990); Países Bajos (van Steenis 1993); Reino Unido (Buxton et al. 1990); Rusia (Popov et al. 1987). Este áfido es también uno

de los más abundantes y uno de los más problemáticos en los invernaderos de pimiento del Campo de Cartagena (La-Spina et al. 2008, Sanchez et al. 2010).

Los daños ocasionados por *M. persicae* son de dos tipos: (1) directos, debidos a las picaduras de alimentación y a la melaza que secreta, la cual es colonizada por hongos saprofitos que reducen la capacidad fotosintética y el crecimiento de la planta; (2) indirectos por su capacidad para transmitir gran cantidad de virus de tipo persistente y no persistente, como el virus del enrollamiento de la hoja de la patata (PLRV), el virus Y de la patata (PVY) y el mosaico del pepino (CMV) (Kennedy et al. 1962).

Tiene un ciclo reproductor holocíclico heteróico, con una alternancia entre un hospedante primario, generalmente perteneciente al género *Prunus* spp., en el cual tiene lugar la reproducción sexual y la puesta de huevos en las ramas durante el otoño y el invierno, y uno o varios hospedantes secundarios a los que migran las hembras fundatrices emergidas de los huevos hibernantes que se reproducen de forma partenogenética durante la primavera y el verano (Blackman y Eastop 2000). *Myzus persicae* se caracteriza por presentar algunas variaciones al ciclo holocíclico heteróico, que se resumen en tres tipos: (1) el anholocíclico o partenogénesis obligada en el que hay ausencia de fase sexuada y en el que las formas partenogenéticas se reproducen partenogenéticamente durante todo el año; (2) el androcíclico llevado a cabo por formas partenogenéticas que en otoño desarrollan machos y hembras partenogenéticas; (3) el intermedio en el que hay formas sexuadas y otras partenogenéticas obligadas.

5.2. Estructura poblacional de *Myzus persicae*.

La abundancia de formas con diferentes tipos de reproducción depende en gran medida de la disponibilidad de hospedantes primarios y de la dureza del clima en invierno (Margaritopoulos et al. 2003, Vorburger 2004, Blackman et al. 2007). Esta versatilidad en la

reproducción permite a las especies mostrar un abanico de estrategias que les permiten aprovecharse de los beneficios de la reproducción sexual y asexual (Vorburger, Sunnucks, et al. 2003). La interacción entre factores genéticos, ambientales, climáticos y estocásticos conforman un mosaico de posibilidades que determinan la estructura de las poblaciones de *M. persicae* en los agroecosistemas. Generalmente, una población de *M. persicae* en verano está formada por una mezcla de clones, algunos de ellos proveniente del hospedante primario emergidos de los huevos originados por la fase sexual y otros de hembras partenogenéticas que han sobrevivido al invierno anterior en algún hospedante secundario (Blackman et al. 2007).

La estructura genética de una población de *M. persicae* en una determinada área geográfica puede resultar de un restringido flujo de genes entre poblaciones debido a una variación regional en las condiciones ambientales (Vorburger, Lancaster, et al. 2003). Sin embargo otros factores como los eventos demográficos asociados a la plasticidad de los modos reproductivos (Delmotte et al. 2002, Guillemaud et al. 2003, Blackman et al. 2007, Margaritopoulos et al. 2007), la especialización en determinadas especies de plantas hospedantes (De Barro et al. 1995, Sunnucks et al. 1997) y la alternancia entre el hospedante primario y secundario (Sunnucks et al. 1997), puede influir también en la diferenciación de las poblaciones de áfidos. En este sentido, se han observado variaciones en los parámetros biológicos de diferentes genotipos en relación con las plantas hospedantes (Weber 1985, 1986, Edwards 2001, Vorburger, Sunnucks, et al. 2003).

Las condiciones climatológicas del área agrícola del Campo de Cartagena permitirían hibernar a los clones partenogenéticos sin recurrir a la reproducción sexual en el hospedante primario. En las zonas agrícolas del interior de la región de Murcia, donde las condiciones invernales son más desfavorables, es de suponer que la supervivencia de las formas partenogenéticas sea menor debido a las bajas temperaturas invernales. Ambas zonas presentan

una gran diversidad ecológica, con una gran variedad de cultivos leñosos y herbáceos entremezclados con tierras no cultivadas y vegetación espontánea, que forman un gran mosaico de especies vegetales. El hospedante secundario de *M. persicae* en el Campo de Cartagena y en las zonas del interior está compuesto por un buen número de cultivos y vegetación espontánea del entorno de los mismos. Por otro lado, el hospedante primario está compuesto por diversos frutales del género *Prunus* y se encuentra en las zonas próximas a las sierras que delimitan el Campo de Cartagena, y en las zonas agrícolas del noreste de la región de Murcia.

5.3. Abundancia de determinados genotipos de *Myzus persicae* en pimiento.

En varias especies de áfidos se han encontrado determinados genotipos con una amplia distribución geográfica y persistencia en el tiempo. Este hecho se ha descrito para diferentes especies de áfidos como *M. persicae* en Argentina, Brasil, Chile, Escocia, Francia, Grecia, sur de Australia y sur de Italia (Fenton et al. 1998, Vorburger, Lancaster, et al. 2003, Zamoum et al. 2005, Blackman et al. 2007, Margaritopoulos et al. 2009, Zepeda-Paulo et al. 2010), en *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae) en Chile (Peccoud et al. 2008), en *A. gossypii* en Francia (Fuller et al. 1999), en *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae) en Francia (Gilabert et al. 2009) y en *Sitobion avenae* (Fabricius) (Hemiptera: Aphididae) en Australia, Chile, Francia, Gran Bretaña y Nueva Zelanda (Sunnucks et al. 1996, Wilson et al. 1999, Haack et al. 2000, Llewellyn et al. 2003, Figueroa et al. 2005). A este tipo de clones se les ha denominado “superclones” y han recibido el interés de la comunidad científica para tratar de explicar su abundancia y distribución.

En *M. persicae* la abundancia y dispersión de estos superclones podría ser debida a diferentes factores, entre ellos: (1) La aplicación reiterada de insecticidas podría haber ejercido una fuerte presión, propiciando la aparición de resistencias que podrían ser responsables de la

abundancia de estos clones. Sin embargo, no está tan claro el papel que tienen las resistencias a materias activas en la selección de clones en condiciones naturales, ya que en ocasiones los clones mayoritarios son sensibles a los insecticidas (Fenton et al. 1998), y en otras ocasiones resistentes (Zamoum et al. 2005). (2) La tolerancia a bajas temperaturas durante el invierno puede influir en la supervivencia de algunos clones con partenogénesis obligada, lo que explicaría la abundancia y amplia distribución geográfica de los mismos. Vorburger, (2004) encontró cierta variación en la supervivencia de diferentes genotipos expuestos a bajas temperaturas, sin embargo no encontró una mayor supervivencia al frío en los clones mayoritarios. (3) La variación en la vulnerabilidad frente a enemigos naturales, como los parasitoides, podría explicar también el éxito de determinados clones de *M. persicae* (Herzog et al. 2007, von Burg et al. 2008, Gillespie et al. 2009). No obstante, no se ha determinado si los clones con mejor respuesta frente al ataque de enemigos naturales son más abundantes y presentan una distribución geográfica más extensa que aquellos más vulnerables. En relación a este último factor cabe también señalar, que existe una diferente respuesta de los clones a las feromonas de alarma secretadas en presencia de depredadores (Foster et al. 1999, 2005). (4) La variación en las tasas de reproducción, podría también haber influido en la abundancia de determinados genotipos. Foster et al. (2003) y Gillespie et al. (2009), observan variaciones en las tasas de reproducción en diferentes clones.

En el Campo de Cartagena se desconoce la existencia de genotipos de *M. persicae* que puedan ser considerados como superclones, pero si se ha detectado por parte de agricultores y técnicos de la zona que determinados fenotipos en el cultivo de pimiento bajo invernadero resultan más difíciles de controlar que otros. Los factores que determinan el éxito de estos posibles superclones en nuestra área de estudio son de momento una incógnita. Como se ha mencionado anteriormente, la supervivencia a bajas temperaturas, diferencias en las tasas de

reproducción, la susceptibilidad frente al ataque de enemigos naturales, entre otros factores, podrían influir en la distribución y abundancia de los clones de *M. persicae* en la zona de estudio.

6. Objetivos.

1. Determinar las especies de áfidos que atacan el cultivo de pimiento y su incidencia, los parasitoides que se desarrollan sobre los áfidos plaga de pimiento, y determinar el papel de la vegetación natural como reservorio de áfidos y parasitoides para los cultivos de pimiento en invernadero del Campo de Cartagena.

2. Determinar la diversidad genética, abundancia, distribución geográfica y ciclo reproductivo de los genotipos de *M. persicae* en los diferentes hospedantes y áreas geográficas del sureste de la península Ibérica, mediante el empleo de microsatélites como marcadores moleculares.

3. Determinar la estructura genética de las poblaciones de *M. persicae* del sureste de la península Ibérica a nivel espacial y temporal, y en relación a las plantas hospedantes y las condiciones climáticas del área. Se comparará además la estructura de las poblaciones entre los cultivos de pimiento, el hospedante primario *Prunus* spp., y las plantas herbáceas usadas como hospedantes secundarios.

4. Analizar y comparar los principales parámetros biológicos, de varios clones con diferente abundancia y modos de reproducción, para determinar hasta que punto la temperatura puede estar influyendo en la abundancia de los mismos.

5. Estudiar, describir y comparar los comportamientos defensivos de cuatro clones de *M. persicae* durante el ataque por parte de uno de sus parasitoides principales, *A. colemani*.

7. Referencias bibliográficas.

- De Barro, P. J., T. N. Sherratt, C. P. Brookes, O. David, y N. Maclean. 1995.** Spatial and temporal genetic variation in British field populations of the grain aphid *Sitobion avenae* (F.) (Hemiptera: Aphididae) studied using RAPD-PCR. *Proceedings: Biological Sciences*. 262: 321–327.
- Blackman, R. L., y V. F. Eastop. 2000.** *Aphids on the world's Crops: An Identification and Information Guide*, ed. John Wiley & Sons, Chichester (UK).
- Blackman, R. L., G. Malarky, J. T. Margaritopoulos, y J. A. Tsitsipis. 2007.** Distribution of common genotypes of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in Greece, in relation to life cycle and host plant. *Bulletin of Entomological Research*. 97: 253–263.
- Blümel, S. 2004.** Biological Control of Aphids on Vegetable Crops. *In* Heinz, K.M., Driesche, V., Parella, M.P. (eds.), *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, IL (USA), pp. 297–312.
- Von Burg, S., J. Ferrari, C. B. Müller, y C. Vorburger. 2008.** Genetic variation and covariation of susceptibility to parasitoids in the aphid *Myzus persicae*: no evidence for trade-offs. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 275: 1089–1094.
- Buxton, J. H., R. Jacobsen, M. Saynor, R. Stoner, y L. Wardlow. 1990.** An integrated pest management programme for peppers: three years trial experience. *IOBC/WPRS Bulletin*. 13: 45–50.
- CARM. 2011.** Comunidad Autónoma Región de Murcia. Estadística Agraria Regional de Murcia. ([http://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=1174&IDTIPO=100&RASTRO=c1415\\$m](http://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=1174&IDTIPO=100&RASTRO=c1415$m)).

- Conesa Garcia, C. 1990.** El Campo de Cartagena: Clima e hidrología de un medio semiárido. Edit.um, Murcia (España).
- Delmotte, F., N. Leterme, J. P. Gauthier, C. Rispe, y J. C. Simon. 2002.** Genetic architecture of sexual and asexual populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* based on allozyme and microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11: 711–23.
- Edwards, O. R. 2001.** Interspecific and intraspecific variation in the performance of three pest aphid species on five grain legume hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 100: 21–30.
- FAOSTAT. 2010.** Producción y Superficie Agrícola. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma (Italy).
- Fenton, B., J. A. T. Woodford, y G. Malloch. 1998.** Analysis of clonal diversity of the peach–potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), in Scotland, UK and evidence for the existence of a predominant clone. *Molecular Ecology*. 7: 1475–1487.
- Fereres, A., P. Perez, C. Gemeno, y F. Ponz. 1993.** Transmission of spanish pepper-pvy and potato-pvy isolates by aphid (Homoptera, Aphididae) vectors - epidemiologic implications. *Environmental Entomology*. 22: 1260–1265.
- Fernandez-Calvino, L., D. Lopez-Abella, J. J. Lopez-Moya, y A. Fereres. 2006.** Comparison of Potato virus Y and Plum Pox Virus transmission by two aphid species in relation to their probing behavior. *Phytoparasitica*. 34: 315–324.
- Field, L. M., A. P. Anderson, I. Denholm, S. P. Foster, Z. K. Harling, N. Javed, D. Martinez-Torres, G. D. Moores, M. S. Williamson, y A. L. Devonshire. 1997.** Use of biochemical and DNA diagnostics for characterising multiple mechanisms of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pesticide Science*. 51: 283–289.

- Figuroa, C. C., J. C. Simon, J. F. Le Gallic, N. Prunier-Leterme, L. M. Briones, C. A. Dedryver, y H. M. Niemeyer. 2005.** Genetic structure and clonal diversity of an introduced pest in Chile, the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Heredity*. 95: 24–33.
- Foster, S. P., I. Denholm, R. Thompson, G. M. Poppy, y W. Powell. 2005.** Reduced response of insecticide-resistant aphids and attraction of parasitoids to aphid alarm pheromone; a potential fitness trade-off. *Bulletin of Entomological Research*. 95: 37–46.
- Foster, S. P., N. B. Kift, J. Baverstock, S. Sime, K. Reynolds, J. E. Jones, R. Thompson, y G. M. Tatchell. 2003.** Association of MACE-based insecticide resistance in *Myzus persicae* with reproductive rate, response to alarm pheromone and vulnerability to attack by *Aphidius*. *Pest Management Science*. 59: 1169–1178.
- Foster, S. P., C. M. Woodcock, M. S. Williamson, A. L. Devonshire, I. Denholm, y R. Thompson. 1999.** Reduced alarm response by peach–potato aphids, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), with knock-down resistance to insecticides (kdr) may impose a fitness cost through increased vulnerability to natural enemies. *Bulletin of Entomological Research*. 89: 133–138.
- Fuller, S. J., P. Chavigny, L. Lapchin, y F. Vanlerberghe-Masutti. 1999.** Variation in clonal diversity in glasshouse infestations of the aphid, *Aphis gossypii* Glover in southern France. *Molecular Ecology*. 8: 1867–1877.
- Gabarra, R., O. Alomar, C. Castañé, M. Goula, y R. Albajes. 2004.** Movement of greenhouse whitefly and its predators between in- and outside of Mediterranean greenhouses. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 102: 341–348.
- Gargani, J., y C. Rigollet. 2007.** Mediterranean Sea level variations during the Messinian salinity crisis. *Geographic Research Letters*. 34: 10.

- Generalitat Valenciana. 2011.** Estadístiques agrícoles Generalitat Valenciana. (<http://www.agricultura.gva.es/web/web/guest/la-conselleria/estadisticas/datos-basicos-del-sector-agroalimentario/estadisticas>)
- Gilabert, A., J. C. Simon, L. Mieuze, F. Halkett, S. Stoeckel, M. Plantegenest, y C. A. Dedryver. 2009.** Climate and agricultural context shape reproductive mode variation in an aphid crop pest. *Molecular Ecology*. 18: 3050–3061.
- Gilkeson, L. A. 1990.** Biological control of aphids in greenhouse sweet peppers and tomatoes. *IOBC/WPRS Bulletin*. 13: 64–70.
- Gillespie, D. R., D. J. M. Quiring, R. G. Footitt, S. P. Foster, y S. Acheampong. 2009.** Implications of phenotypic variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) for biological control on greenhouse pepper plants. *Journal of Applied Entomology*. 133: 505–511.
- Guillemaud, T., L. Mieuze, y J. C. Simon. 2003.** Spatial and temporal genetic variability in French populations of the peach–potato aphid, *Myzus persicae*. *Heredity*. 91: 143–152.
- Haack, L., J. C. Simon, J. P. Gauthier, M. Plantegenest, y C. A. Dedryver. 2000.** Evidence for predominant clones in a cyclically parthenogenetic organism provided by combined demographic and genetic analyses. *Molecular Ecology*. 9: 2055–2066.
- Hermoso-de-Mendoza, A., M. La-Spina, F. Marco, S. Tabanera, P. Vinaches, E. A. Carbonell, y J. Perez-Panades. 2006.** Nivel de daño económico para *Aulacorthum solani* (Hemiptera, Aphididae) sobre pimiento en invernadero comercial. *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*. 32: 181–187.
- Herzog, J., C. B. Müller, y C. Vorburger. 2007.** Strong parasitoid-mediated selection in experimental populations of aphids. *Biology Letters*. 3: 667–669.

- IGME. 1993.** Mapa Geológico de la Comunidad Autónoma de la región de Murcia: Cartografía Regional 1:200.000 Vectorial. Instituto Geológico y Minero de España.
- Kavallieratos, N. G., G. J. Stathas, C. G. Athanassiou, y G. T. Papadoulis. 2002.** *Dittrichia viscosa* and *Rubus ulmifolius* as reservoirs of aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) and the role of certain coccinellid species. *Phytoparasitica*. 30: 231–242.
- Kennedy, J. S., M. F. Day, y V. F. Eastop. 1962.** A conspectus of Aphids as Vectors of Plant Viruses. Commonwealth Institute of Entomology, London (UK).
- La-Spina, M., A. Hermoso-de-Mendoza, E. A. Carbonell, y J. Perez-Panades. 2008.** Umbrales económicos de *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphididae) sobre pimiento en invernadero comercial. *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*. 34: 485–491.
- Lacasa, A. 1990.** Un trienio de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en España. Evolución temporal y espacial de una plaga importada. *Cuadernos Phytoma*. 6: 9–16.
- Lacasa, A., J. Contreras, J. A. Sanchez, M. Lorca, y F. Garcia. 1996.** Ecology and natural enemies of *Frankliniella occidentalis* (Pergande 1895) in the southeast Spain. *Folia Entomologica Hungarica*. 57: 67–74.
- Llewellyn, K. S., H. D. Loxdale, R. Harrington, C. P. Brookes, S. J. Clark, y P. Sunnucks. 2003.** Migration and genetic structure of the grain aphid (*Sitobion avenae*) in Britain related to climate and clonal fluctuation as revealed using microsatellites. *Molecular Ecology*. 12: 21–34.
- Lopez Ruiz, J., y E. Rodriguez Badiola. 1980.** La Región Volcánica Neógena del Sureste de España. *Estudios Geológicos*. 36: 5–63.
- MAGRAMA. 2011.** Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Anuario de Estadística Agraria. (<http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estad-publicaciones/anuario->

de-estadistica/2011/default.aspx)

- Margaritopoulos, J. T., R. L. Blackman, J. A. Tsitsipis, y L. Sannino. 2003.** Co-existence of different host-adapted forms of the *Myzus persicae* group (Hemiptera: Aphididae) in southern Italy. *Bulletin of Entomological Research*. 93: 131–135.
- Margaritopoulos, J. T., L. Kasprowicz, G. Malloch, y B. Fenton. 2009.** Tracking the global dispersal of a cosmopolitan insect pest, the peach potato aphid. *BMC Ecology*. 9: 13.
- Margaritopoulos, J. T., G. Malarky, J. A. Tsitsipis, y R. L. Blackman. 2007.** Microsatellite DNA and behavioural studies provide evidence of host-mediated speciation in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 91: 687–702.
- Maroto, J. V. 2002.** *Horticultura Herbácea Especial*, 5th ed. Mundi-Prensa Libros, S.A., Madrid (España).
- Martinez-Torres, D., R. Carrio, A. Latorre, J. C. Simon, A. Hermoso-de-Mendoza, y A. Moya. 1997.** Assessing the nucleotide diversity of three aphid species by RAPD. *Journal of Evolutionary Biology*. 10: 459–477.
- Moores, G. D., G. J. Devine, y A. L. Devonshire. 1994.** Insecticide-insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase-based resistance in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 49: 114–120.
- Peccoud, J., C. C. Figueroa, A. Silva, C. C. Ramirez, L. Mieuzet, J. Bonhomme, S. Stoeckel, M. Plantegenest, y J. C. Simon. 2008.** Host range expansion of an introduced insect pest through multiple colonizations of specialized clones. *Molecular Ecology*. 17: 4608–4618.
- Pineda, A., y M. A. Marcos-García. 2008.** Evaluation of several strategies to increase the residence time of *Episyrphus balteatus* (Diptera, Syrphidae) releases in sweet pepper greenhouses. *Annals of Applied Biology*. 152: 271–276.

- Pineda, A., I. Morales, M. A. Marcos-García, y A. Fereres. 2007.** Oviposition avoidance of parasitized aphid colonies by the syrphid predator *Episyrphus balteatus* mediated by different cues. *Biological Control*. 42: 274–280.
- Popov, N. A., Y. V. Belousov, I. A. Zabudskaya, O.A. Khudyakova, V. B. Shevtchenko, y E. S. Shijko. 1987.** Biological Control of glasshouse crop pests in the south of the U.S.S.R. *IOBC/WPRS Bulletin*. 10: 155–157.
- Rabasse, J. M., y M. J. van Steenis. 1999.** Biological Control of Aphids. *In* Albajes, R., Giullino, M.A., van Lenteren, J.C., Elad, Y. (eds.), *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*. Kluwer, Dordrecht (The Netherlands), pp. 235–343.
- Ramakers, P. M. J. 2004.** IPM Program for Sweet Pepper. *In* Heinz, K.M., Driesche, V., Parella, M.P. (eds.), *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, IL, USA, pp. 439–455.
- Sanchez, J. A., F. Canovas, y A. Lacasa. 2007.** Thresholds and management strategies for *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae) in greenhouse pepper. *Journal of Economic Entomology*. 100: 123–130.
- Sanchez, J. A., J. Contreras, A. Lacasa, y M. Lorca. 1995.** Datos preliminares sobre la utilización de *Orius laevigatus* (Fieber) en el control de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en pimiento en invernadero. *Phytoma*. 68: 32–38.
- Sanchez, J. A., F. Garcia, A. Lacasa, L. Gutierrez, M. Oncina, J. Contreras, y Y. J. Gomez. 1997.** Response of the Anthocorids *Orius laevigatus* and *Orius albidipennis* and the Phytoseiid *Amblyseius cucumeris* for the Control of *Frankliniella occidentalis* in Commercial Crops of Sweet Peppers in Plastic Houses in Murcia, Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*. 20: 177–185.

Sanchez, J. A., M. La-Spina, J. M. Michelena, A. Lacasa, y A. Hermoso-de-Mendoza. 2010.

Ecology of the aphid pests of protected pepper crops and their parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*. 21: 171–188.

Sanchez, J. A., y A. Lacasa. 2006. A biological pest control story. *IOBC/WPRS Bulletin*. 29:

17–22.

Spooner-Hart, R. 1993. Arthropods in the antipodes: Pest and biological control in protected

crops in Australia. *IOBC/WPRS Bulletin*. 16: 153–156.

Stary, P. 1986. Specificity of parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) to the black bean aphid

Aphis fabae complex in agroecosystems. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*. 83: 24–29.

Stary, P., y V. Némec. 1986. Common elder *Sambucus nigra* L. as a reservoir of aphids and

parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*. 83: 271–278.

Van Steenis, M. J. 1993. Suitability of *Aphis gossypii* Glov., *Macrosiphum euphorbiae* (Thom.),

and *Myzus persicae* (Sulz.) (Hom.: Aphididae) as host for several aphid parasitoid species (Hym.: Braconidae). *IOBC/WPRS Bulletin*. 16: 157–160.

Van Steenis, M. J. 1995. Evaluation of four aphidiine parasitoids for biological control of *Aphis*

gossypii. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 75: 151–157.

Sunnucks, P., P. J. De Barro, G. Lushai, N. Maclean, y D. Hales. 1997. Genetic structure of

an aphid studied using microsatellites: cyclic parthenogenesis, differentiated lineages and host specialization. *Molecular Ecology*. 6: 1059–1073.

Sunnucks, P., P. R. England, A. C. Taylor, y D. F. Hales. 1996. Microsatellite and chromosome

evolution of parthenogenetic *Sitobion* aphids in Australia. *Genetics*. 144: 747–756.

Vasicek, A., F. de la Rossa, y A. Paglioni. 2001. Aspectos biológicos y poblacionales de

Aulacorthum solani, *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphidoidea) en Pimiento (*Capsicum annum* L.). Boletín Sanidad Vegetal. Plagas. 27: 439–446.

Vorburger, C. 2004. Cold tolerance in obligate and cyclical parthenogens of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. Ecological Entomology. 29: 498–505.

Vorburger, C., M. Lancaster, y P. Sunnucks. 2003. Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two “superclones” in Victoria, Australia. Molecular Ecology. 12: 3493–3504.

Vorburger, C., P. Sunnucks, y S. A. Ward. 2003. Explaining the coexistence of asexuals with their sexual progenitors: no evidence for general-purpose genotypes in obligate parthenogens of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. Ecology Letters. 6: 1091–1098.

Weber, G. 1985. Genetic-variability in host plant adaptation of the green peach aphid, *Myzus persicae*. Entomologia Experimentalis et Applicata. 38: 49–56.

Weber, G. 1986. Ecological genetics of host plant exploitation in the green peach aphid, *Myzus persicae*. Entomologia Experimentalis et Applicata. 40: 161–168.

Wilson, A. C. C., P. Sunnucks, y D. F. Hales. 1999. Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion* aphids in New Zealand. Molecular Ecology. 8: 1655–1666.

Zamoum, T., J. C. Simon, D. Crochard, Y. Ballanger, L. Lapchin, F. Vanlerberghe-Masutti, y T. Guillemaud. 2005. Does insecticide resistance alone account for the low genetic variability of asexually reproducing populations of the peach-potato aphid *Myzus persicae*? Heredity. 94: 630–639.

Zepeda-Paulo, F. A., J. C. Simon, C. C. Ramirez, E. Fuentes-Contreras, J. T. Margaritopoulos, D. V. Ohashi, C. Lacroix, L. Glais, y C. C. Figueroa. 2010. The

invasion route for an insect pest species: the tobacco aphid in the New World. *Molecular Ecology*. 19: 4738–4752.

Capítulo I

Ecología de los áfidos plaga en cultivos protegidos de pimiento y sus parasitoides en el Campo de Cartagena

Capítulo I

Ecología de los áfidos plaga en cultivos protegidos de pimiento y sus parasitoides en el Campo de Cartagena

1. Introducción.

Hasta la expansión del control biológico en el cultivo de pimiento [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)], a nivel mundial se han empleado materias activas con un amplio espectro de acción para controlar plagas clave como los thrips y los ácaros (Ramakers 2004). El empleo de dichas sustancias ha permitido controlar los thrips y los ácaros e indirectamente ha mantenido bajo control muchas plagas secundarias. La introducción progresiva de estrategias de control basadas en el uso de enemigos naturales, ha supuesto un punto de inflexión en el manejo de las plagas del cultivo de pimiento a nivel mundial (Buxton et al. 1990, Ramakers 2004, Sanchez y Lacasa 2006). La prohibición de muchas sustancias activas por parte de la Unión Europea y de los gobiernos de los Estados miembros mediante la aplicación de las normativas comunitarias de la Unión Europea (directivas 91/414/CEE, 2009/128/CE y Reglamento (CE) N° 1107/2009), unido al uso de sustancias más específicas y compatibles con los enemigos naturales, ha supuesto un incremento de plagas secundarias como los áfidos (Sanchez y Lacasa 2006). El cultivo de pimiento bajo invernadero se ve afectado por varias especies de áfidos, entre las cuales se pueden destacar: *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae), *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) y *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae) (Rabasse y van Steenis 1999, Blackman y Eastop 2000, Blümel 2004, Ramakers 2004). Los problemas que ocasionan este tipo de áfidos derivan de la gran cantidad de melaza que segregan, y de la alta eficiencia en la transmisión de virus (Ferreeres et al. 1993, Fernandez-Calvino et al. 2006, La-Spina et al. 2008). Por otro lado, determinadas especies, como *A. solani* producen graves daños al provocar la defoliación de plantas incluso a densidades muy bajas (Hermoso-de-Mendoza et al. 2006, Sanchez et al. 2007).

Para el control de los áfidos en cultivos protegidos se han usado diferentes especies de parasitoides y depredadores, entre las que destacan afelínidos, bracónidos y coccinélidos (Blümel 2004, Ramakers 2004). Pese al elevado número de enemigos naturales que atacan a los áfidos, su control en pimiento en invernadero no resulta en la actualidad totalmente satisfactorio, lo que hace que se recurra con frecuencia al empleo de productos químicos para la reducción de sus poblaciones (Ramakers 2004, Sanchez et al. 2010). Los áfidos poseen una gran capacidad para desarrollar resistencias: este hecho sumado a la reducción progresiva de las materias activas utilizadas para el control de áfidos configura un escenario propicio para la aparición de resistencias. El uso reiterado de insecticidas ha dado lugar a la aparición de resistencias a organofosfatos, carbamatos y piretroides en áfidos (Moore et al. 1994, Field et al. 1997, Martínez-Torres et al. 1997). Por otro lado, la existencia de productos fitosanitarios compatibles con enemigos naturales ha hecho que se reduzcan los esfuerzos en investigación para tratar de encontrar soluciones biológicas al problema de los áfidos. A lo largo de las últimas décadas el control biológico de áfidos se ha basado en el empleo de las mismas especies de enemigos naturales, y se han destinado pocos esfuerzos a la búsqueda de nuevos y más efectivos enemigos naturales. En el caso del cultivo de pimiento en invernadero las especies más usadas han sido los bracónidos *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae), *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) y *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae), el afelínido *Aphelinus abdominalis* Dalman (Hymenoptera: Aphelinidae), el coccinélido *Hippodamia convergens* Guérin (Coleoptera: Coccinellidae) y el crisópido *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) (Blümel 2004). Aunque, con el paso de los años el número de enemigos naturales usados en control biológico se ha visto reducido a unas pocas especies. Por ejemplo, *A. matricariae* ha sido sustituido por especies más polífagas como *A. colemani* (van Steenis 1995, Ramakers 2004). Por otro lado, el control biológico de áfidos se plantea casi

siempre mediante la suelta de depredadores y parasitoides, habiéndose prestado escasa atención a estrategias de conservación de los enemigos naturales en el entorno de los cultivos. La vegetación espontánea está generalmente considerada como una fuente de áfidos plaga y raramente como un reservorio de enemigos naturales. Las estructuras no herméticas de los invernaderos de las áreas mediterráneas permiten la entrada de enemigos naturales desde el exterior, lo que atribuye al control biológico natural gran parte de la regulación de las poblaciones de fitófagos en los cultivos (Gabarra et al. 2004, Sanchez et al. 2010). La mayoría de los braconidos que se desarrollan en los áfidos plaga de pimiento son muy polífagos y con capacidad de parasitar diferentes especies de áfidos. Al no encontrar barreras físicas, los parasitoides provenientes de la vegetación del entorno de los invernaderos, ejercerían la mayor parte del parasitismo en los áfidos plaga de pimiento (Stary 1986a, Stary y Némec 1986, Kavallieratos et al. 2002, Sanchez et al. 2010).

En el sureste de la península Ibérica, desde principios de la década de los 90 se han implementado nuevas estrategias en el control de plagas; actualmente en la mayoría del área dedicada al cultivo de pimiento en invernadero se ha reemplazado el control químico por uno integrado donde los enemigos naturales son el principal agente de regulación de las poblaciones de las plagas (Sanchez et al. 1997, Sanchez y Lacasa 2002, 2006). Hoy día en el control de los áfidos se combinan estrategias de sueltas de enemigos naturales comerciales y tratamientos con productos químicos compatibles con la fauna útil. Sin embargo, los enemigos naturales empleados en estos momentos para el control de áfidos tienen una baja eficiencia y en la mayoría de los casos no mantienen las poblaciones de áfidos a niveles aceptables. El control biológico de los áfidos, es todavía una asignatura pendiente en el cultivo de pimiento en invernadero, existiendo una fuerte demanda del sector agrícola por mejorar las estrategias de control biológico. El objetivo de este trabajo por lo tanto es determinar las especies de áfidos que atacan el cultivo de pimiento y su

incidencia, los parasitoides que se desarrollan sobre los áfidos plaga de pimiento, y determinar el papel de la vegetación natural como reservorio de áfidos y parasitoides para los cultivos de pimiento en invernadero del Campo de Cartagena. Nos hemos centrado en el estudio de los parasitoides de áfidos debido a que son posiblemente el grupo de enemigos naturales con mayor impacto en la regulación de las poblaciones de áfidos en cultivos de pimiento en invernadero.

2. Material y métodos.

2.1. Área de estudio.

El estudio se ha llevado a cabo en las comarcas del Campo de Cartagena (Murcia) y la Vega Baja (Alicante), zonas conocidas localmente como “Campo de Cartagena”. Esta zona se encuentra al oeste del mar Menor y se incluye dentro del rectángulo delimitado por las coordenadas 37°52'N, 1°08'W y 37°38'N, 0°45'W. El área se caracteriza por una horticultura intensiva con una gran diversidad de cultivos al aire libre, invernaderos de pimiento y zonas con vegetación silvestre.

2.2. Características de los cultivos y muestreo para las dinámicas poblacionales de áfidos y parasitoides en invernaderos comerciales.

Los trabajos para el seguimiento de las dinámicas poblacionales de áfidos y parasitoides se llevaron a cabo en seis invernaderos comerciales entre 2003 y 2005. Todos los invernaderos muestreados eran de plástico de tipo parral, con una superficie entre los 3.000 y los 5.500 m², sin calefacción, y mallas de 10 x 14 hilos/cm en las aperturas laterales y cenitales. El trasplante desde semilleros de pimiento se realizó alrededor de las dos últimas semanas del año. Se usaron *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) y *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae) para el control de *Frankliniella occidentalis* (Pergande)

(Thysanoptera: Thripidae); *Neoseiulus californicus* (McGregor)(Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) para *Tetranychus* spp. (Acari: Tetranychidae); y *Bacillus thuringiensis* Berliner (Var. Kurstaki) (Bacillales: Bacillaceae) contra lepidópteros. *Aphidius colemani* fue introducido para el control de *M. persicae* durante seis semanas consecutivas, a razón de 1 momia por metro cuadrado, después de la observación del primer áfido. Además se hicieron pulverizaciones con ZZ-Aphox (Pirimicarb, 50%) para controlar áfidos en el Invernadero 1 (Inv-1) el 7 de junio de 2003, en el Invernadero 2 (Inv-2) el 3 de junio de 2003, en el Invernadero 3 (Inv-3) el 8 de abril de 2004 y en el Invernadero 4 (Inv-4) el 26 de febrero y 6 de abril de 2004. Plenum (Pimetrozina 25%) fue pulverizado en el Inv-1 el 22 de marzo y el 16 de junio de 2003, en el Inv-3 el 11 de febrero y el 28 de abril de 2004 y en el Invernadero 6 (Inv-6) el 28 de marzo de 2005.

Cada año se muestrearon dos invernaderos diferentes con una periodicidad de una o dos semanas desde Febrero a Julio. Los áfidos se contaron en cuatro hojas de cada una de las 100 plantas seleccionadas al azar en cada invernadero: una hoja joven del ápice; la primera hoja bien desarrollada desde el ápice; una hoja desde la tercera bifurcación contando desde el ápice; y una hoja desde la quinta bifurcación. Este método se usó para tener en cuenta la distribución vertical de los áfidos en la planta y porque las momias de los parasitoides, se suelen encontrar por lo general en las hojas inferiores. La densidad de los áfidos se expresó como la media de los cuatro estratos de la planta. Las momias recogidas en campo se colocaron en contenedores de plástico transparente de 2 litros, en los que se anotaba la posición dentro del invernadero, la hoja y la planta. En el laboratorio, una muestra de áfidos se conservaba en alcohol al 70% para su identificación y las momias se dejaban evolucionar hasta la emergencia de los parasitoides. Las muestras se revisaban periódicamente y los adultos de parasitoides emergidos se conservaban en alcohol al 70% para su identificación. Los áfidos fueron identificados siguiendo las claves taxonómicas para especies de Shaposhnikov y Davletshina (1967). Los parasitoides fueron

identificados siguiendo las claves taxonómicas de identificación de Stary (1973, 1976), Pennacchio (1989) y Kavallieratos et al. (2005).

2.3. Muestras adicionales en invernaderos de pimiento y en la vegetación del entorno.

De forma ocasional se muestrearon también otros 82 invernaderos comerciales y la vegetación de su entorno para la búsqueda de áfidos y parasitoides entre los años 2003 y 2008. Los puntos de muestreo se distribuyeron por toda el área del cultivo de pimiento en invernaderos del Campo de Cartagena para que reflejaran la mayor parte de la diversidad medioambiental de la zona. La separación entre puntos de muestreo era de dos y tres kilómetros y la zona muestreada alrededor de los invernaderos se situaba dentro de un radio entre los 200 y los 300 metros, a partir de las paredes laterales del invernadero. Además, en 72 localidades extra se muestrearon las especies de plantas más comunes en las inmediaciones de los invernaderos. Estas localidades se muestrearon para proporcionar información adicional sobre las plantas hospedantes de los áfidos y sus parasitoides en el área de trabajo. En cada invernadero se seleccionaron al azar 100 plantas, que se muestrearon con el mismo procedimiento utilizado para el seguimiento de las dinámicas poblacionales de áfidos en invernaderos. En el caso de la vegetación espontánea y cultivos al aire libre, se muestrearon entre 10 y 20 plantas de cada especie, para un total de 22 especies de plantas pertenecientes a 12 familias botánicas diferentes. La abundancia de las diferentes especies de áfidos en cada especie de planta se expresó como proporción de plantas infestadas. El efecto de la especie de áfido y la familia de planta en los datos de la frecuencia de áfidos se testó con un análisis de la varianza (ANOVA), considerando los datos de cada localidad y familia de planta como una repetición. Los análisis se realizaron mediante el programa estadístico R v. 2.15.2 (R Core Team 2012). Todos los áfidos provenientes de la misma muestra (especie de planta y localidad) se introdujeron en un mismo contenedor de plástico y se llevaron al laboratorio para su

identificación. Las muestras se procesaron con ayuda de lupas binoculares; todos los áfidos y momias se separaron por especies en contenedores de plástico transparente de 2 litros con ventilación en la tapa. Las muestras se mantuvieron en una cámara con condiciones climáticas controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) y se revisaron periódicamente para controlar la emergencia de los parasitoides. Las muestras de áfidos y parasitoides se guardaron en alcohol al 70%.

3. Resultados.

3.1. Dinámicas poblacionales de los áfidos y parasitismo en los invernaderos comerciales de pimiento.

Myzus persicae fue la especie de áfido más abundante en todos los invernaderos de pimiento. Por lo general las poblaciones de *M. persicae* tuvieron dos picos cada año, salvo en el año 2004 y en un invernadero en el 2005. En 2003 el primer pico se dio a mediados de marzo y el segundo a principios de junio (Figura 1 y 2). En Inv-1, los dos picos fueron aproximadamente de la misma magnitud (0,462 – 0,740 individuos/hoja) (Figura 1), mientras que en Inv-2, el primer pico (1,54 individuos/hoja) fue más alto que el segundo (0,441 individuos/hoja) (Figura 2). En 2004, la abundancia de *M. persicae* fue muy baja en ambos invernaderos y casi no se observan picos destacables (Figura 3). En 2005, en el Inv-5, *M. persicae* tuvo solamente un pico de 2,59 individuos/hoja, en la primera semana de abril (Figura 4); Inv-6 tuvo un pico a finales de marzo (1,88 individuos/hoja) y otro a mediados de mayo (2,81 individuos/hoja) (Figura 4). *Macrosiphum euphorbiae* estuvo presente solamente en 2003 y en ambos invernaderos sus picos poblacionales coincidieron en el tiempo con el segundo pico de *M. persicae* (Figuras 1 y 2). *Aulacorthum solani* se observó en muy bajo número solamente el año 2003 (Figuras 1 y 2).

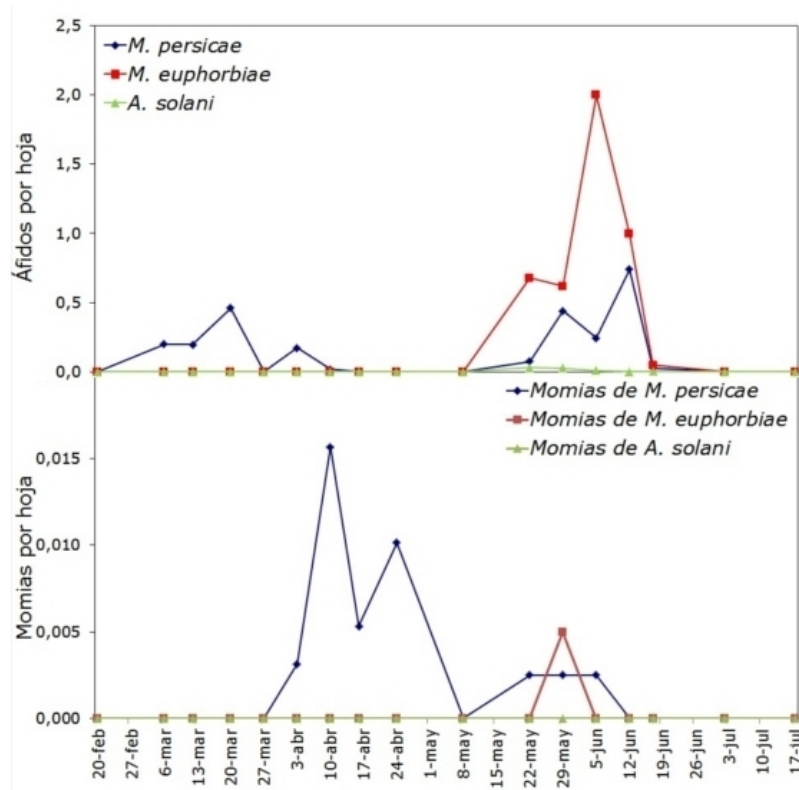


Figura 1. Dinámicas de áfidos y parasitismo en el Invernadero 1 (Inv-1) durante el año 2003.

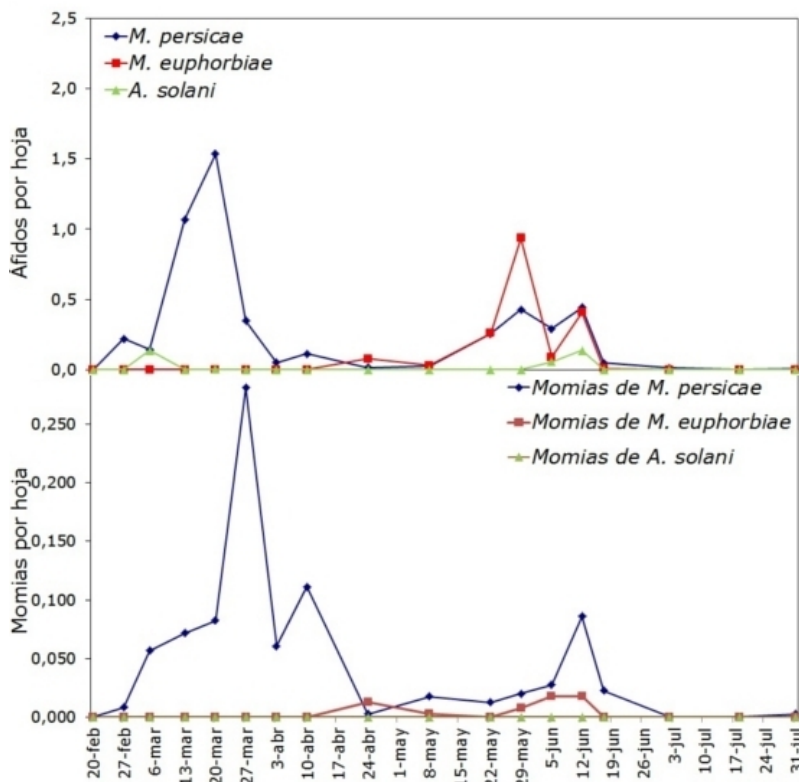


Figura 2. Dinámicas de áfidos y parasitismo en el Invernadero 2 (Inv-2) durante el año 2003.

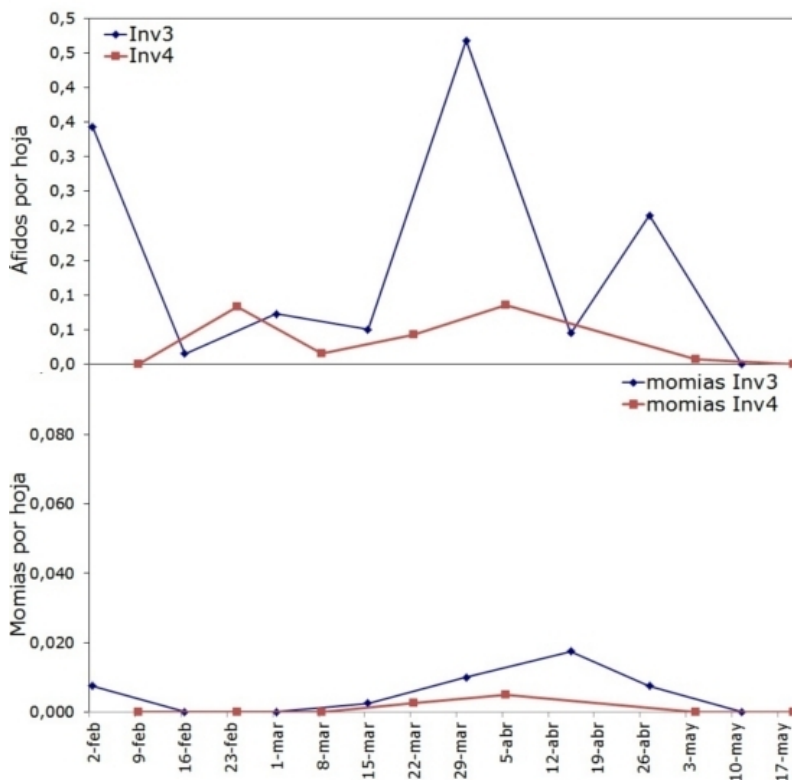


Figura 3. Dinámicas de *Myzus persicae* y parasitismo en el Invernadero 3 (Inv-3) e Invernadero 4 (Inv-4) durante la campaña de 2004.

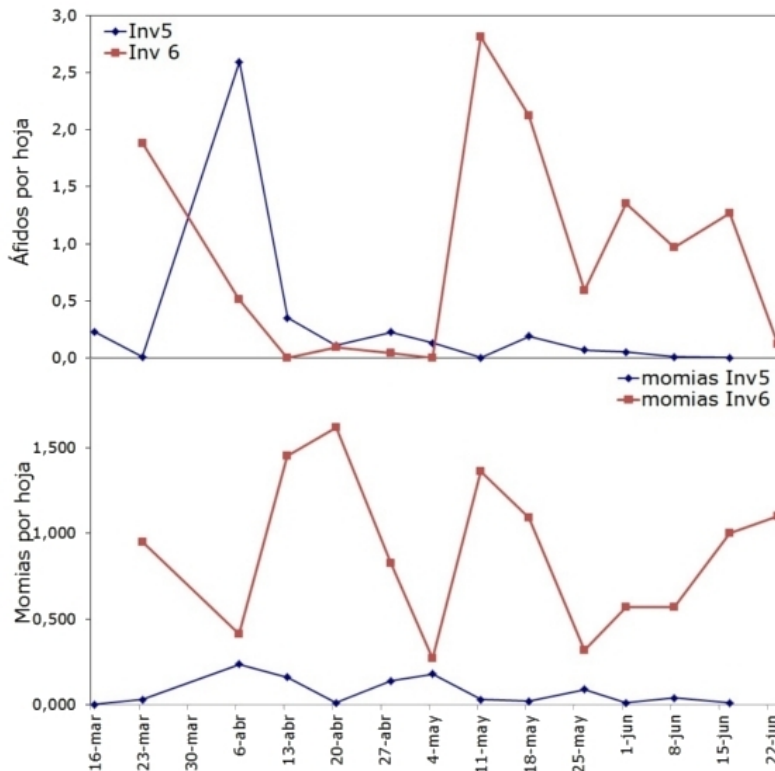


Figura 4. Dinámicas de *Myzus persicae* y parasitismo en el Invernadero 5 (Inv-5) e Invernadero 6 (Inv-6) durante la campaña de 2005.

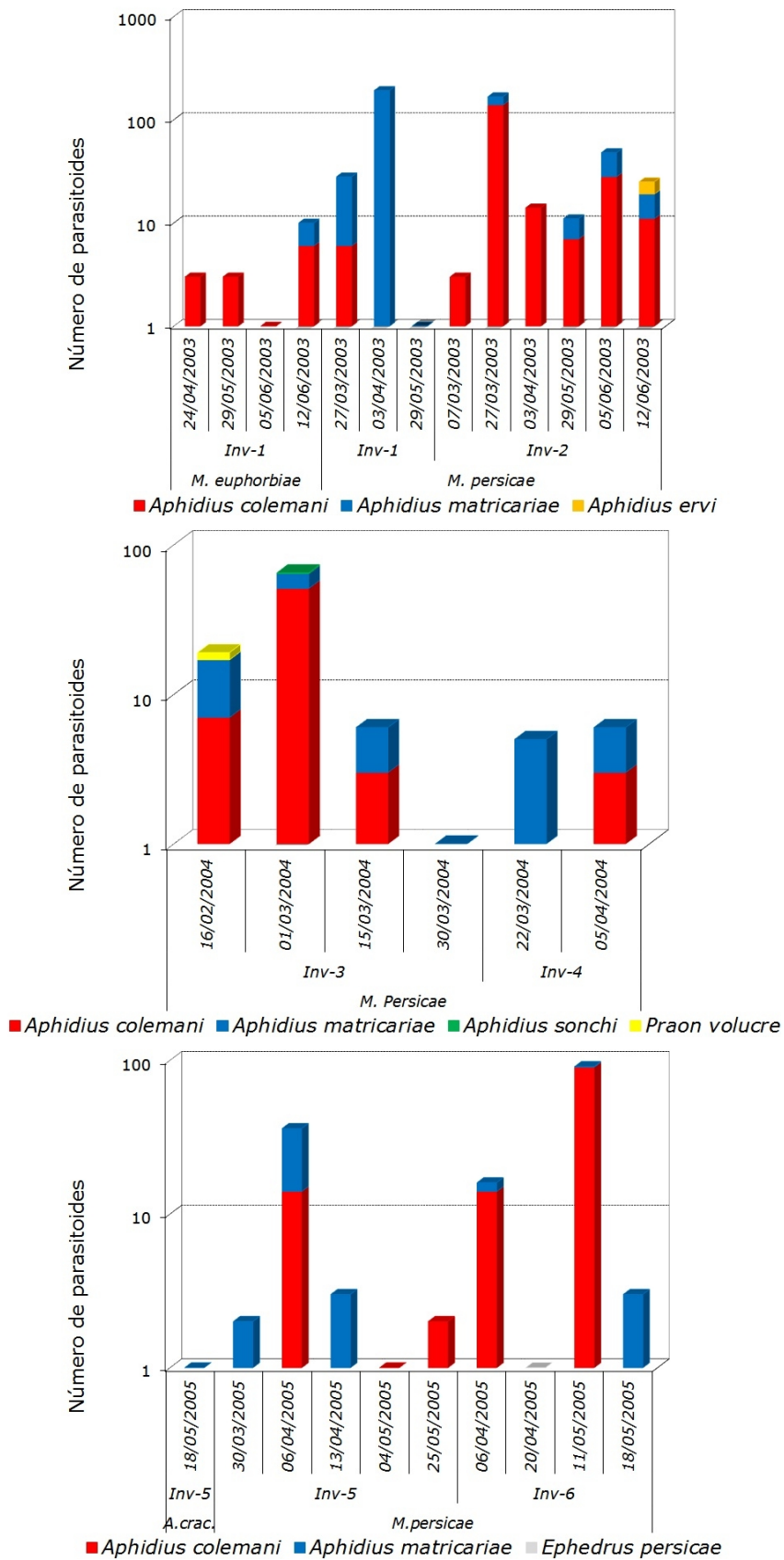


Figura 5. Frecuencias de parasitoides en los invernaderos comerciales: Inv-1, Inv-2, Inv-3, Inv-4, Inv-5, Inv-6.

En cuanto a parasitismo en la campaña 2003, se observaron tasas de parasitismo muy bajas para *M. persicae*, coincidiendo en el tiempo o con un ligero retraso con los picos de *M. persicae* en Inv-1 e Inv-2 (Figura 1 y 2); En Inv-2 se detectó una disminución en el número de *M. persicae* después del incremento de parasitismo (Figura 2). Las tasas de parasitismo de *M. euphorbiae* fueron muy bajas en los invernaderos muestreados en 2003 (Figura 1 y 2). En 2004 el parasitismo de *M. persicae* fue muy bajo (Figura 3). El mayor nivel de parasitismo en *M. persicae* fue registrado en 2005 con 1,62 momias por hoja en Inv-6 (Figura 4). En este invernadero el incremento de parasitismo estuvo asociado con una disminución en el número de *M. persicae* en los dos picos, sobre todo en el pico de principios de abril (Figura 4). *Aphidius matricariae* y *A. colemani* fueron las dos especies que parasitaron *M. persicae* mayoritariamente en los invernaderos de pimiento (Figura 5). Otras especies como *Aphidius sonchi* Marshall, *A. ervi*, *Praon volucre* (Haliday) y *Ephedrus persicae* Froggatt (Hymenoptera: Braconidae) se encontraron ocasionalmente en *M. persicae*. *Aphidius colemani* y *A. matricariae* se encontraron parasitando *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae) en una ocasión (Figura 5).

3.2. Áfidos provenientes de muestreos adicionales de invernaderos y de la vegetación de su entorno.

La Figura 6 muestra la abundancia de las distintas especies de áfidos plaga, en el cultivo de pimiento y en las principales plantas hospedantes del entorno de los invernaderos. *Myzus persicae* fue el más abundante y polífago de todas las especies de áfidos, estando presente en 25 de las 36 especies muestreadas (Tabla 1). *Brassica oleracea* L., *Diplotaxis erucoides* (L.), *Sisymbrium irio* L., y *Convolvulus* spp. fueron los principales hospedantes de *M. persicae* (Tabla 1 y Figura 6). Este áfido se encontró también de manera frecuente en otras plantas adventicias como *Malva parviflora* L., *Plantago lanceolata* L., *Urtica urens* L., *Beta* spp., y *Chenopodium* spp., y el hospedante primario *Prunus dulcis* (Mill.) (Tabla 1, Figura 6).

Familia	Especies	A p c	A p g	A u s	M a e	M y p	A p f	A p s	A p u	B r a	B r h	B r b	C a e	C a i	D y p	H y p	H y l	L y s	N a r	R h m	S i f	U r s	W a n
Amaranthaceae	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asparagaceae	<i>Asparagus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Asteraceae	<i>Cynaria scolymus</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) W. Greuter	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Lactuca sativa</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
	<i>Sonchus tenerrimus</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Brassicaceae	<i>Brassica oleracea</i> L.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Diplotaxis eruroides</i> (L.)	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Eruca vesicaria</i> (L.) Cav.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Moricandia arvensis</i> (L.) DC.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Rapistrum rugosum</i> (L.) Al	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Sisymbrium irio</i> L.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Chenopodiaceae	<i>Beta maritima</i> L.	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Beta vulgaris</i> L.	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium album</i> L.	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium murale</i> L.	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Convolvulaceae	<i>Convolvulus althaeoides</i> L.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 1. Presencia de áfidos en los hospedantes muestreados (notación: Tabla 1 Continuación).

Familia	Especies	A p c	A p g	A u s	M a e	M y p	A p f	A p s	A p u	B r a	B r h	B r b	C a e	C a i	D y p	H y p	H y l	L y s	N a r	R h m	S i f	U r s	W a n
Cucurbitaceae	<i>Cucumis melo</i> L.	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malvaceae	<i>Malva parviflora</i> L.	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Plantaginaceae	<i>Plantago lanceolata</i> L.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Poaceae	<i>Hordeum vulgare</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Rosaceae	<i>Prunus domestica</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Prunus dulcis</i> (Mill.)	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Rosa</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. fil.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i> L.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Solanum nigrum</i> L.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Solanum tuberosum</i> L.	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urticaceae	<i>Urtica urens</i> L.	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla1 Continuación. Apc=*Aphis craccivora*, Apg=*Aphis gossypii*, Aus=*Aulacorthum solani*, Mae=*Macrosiphum euphorbiae*, Myp=*Myzus persicae*, Apf=*Aphis fabae*, Aps=*Aphis spiraecola*, Apu=*Aphis umbrellae*, Bra=*Brachycaudus amygdalinus*, Brh=*Brachycaudus helichrysis*, Brb=*Brevicoryne brassicae*, Caе=*Capitophorus elaeagni*, Cai=*Capitophorus inulae*, Dyp=*Dysaphis plantaginea*, Hyp=*Hyalopterus pruni*, Hyl=*Hyperomyzus lactucae*, Lys=*Lipaphis* spp., Nar=*Nasonovia ribis-nigri*, Rhm=*Rhopalosiphum maidis*, Sif=*Sitobion fragariae*, Urs=*Uroleucon sonchi*, Wan=*Wahlgreniella nervata*.

Macrosiphum euphorbiae fue la segunda especie más frecuente en cultivos y vegetación espontánea de los alrededores de los invernaderos de pimiento, estando presente en 17 de las 36 especies de plantas muestreadas (Tabla 1). El principal hospedante de *M. euphorbiae* fue la brásica, *S. irio*; también fue encontrado en *B. oleracea*, *Beta vulgaris* L., *Chenopodium album* L. *Chenopodium murale* L., *M. parviflora* y *U. urens* (Tabla 1, Figura 6). *Aphis gossypii* fue hallada además de en pimiento en *Beta maritima* L., *C. album*, *M. parviflora*, *Solanum tuberosum* L., y *U. urens* (Tabla 1 y Figura 6). *Aphis craccivora* fue encontrada en *B. vulgaris*, *C. album* y *M. parviflora* (Tabla 1 y Figura 6). En la tabla 1 se citan también otras especies de áfido que no afectan el cultivo de pimiento, encontrados durante los seis años de estudio.

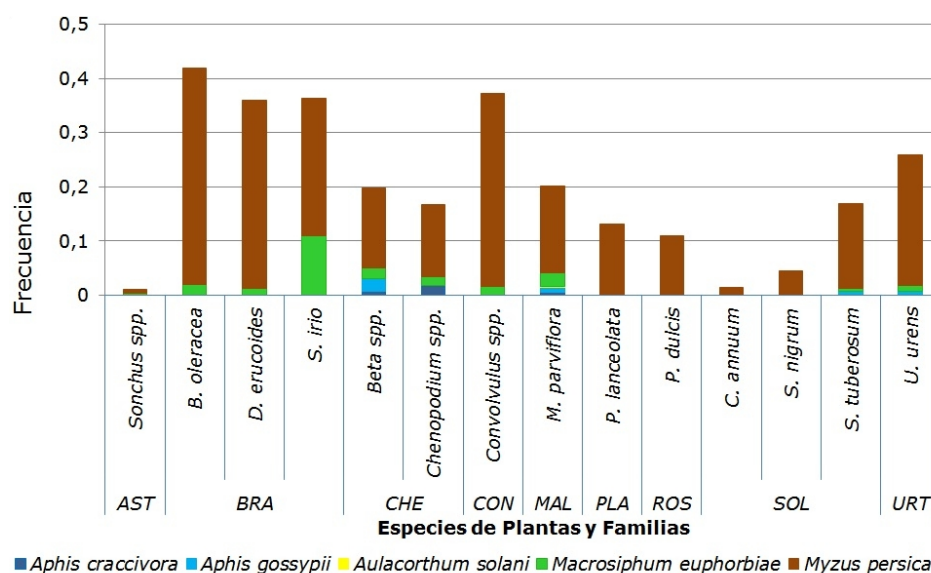


Figura 6. Frecuencia de los áfidos que atacan pimiento en los invernaderos y en los principales hospedantes de su entorno. Familias de plantas: AST= Asteraceae, BRA= Brassicaceae, CHE= Chenopodiaceae, CON= Convolvulaceae, MAL= Malvaceae, PLA= Plantaginaceae, ROS= Rosaceae, SOL= Solanaceae, URT= Urticaceae.

Las brásicas fue la familia con la mayor frecuencia de áfidos (5,87%), seguido de Urticaceae (5,16%), Rosaceae (4,64%), Chenopodiaceae (4,17%), Malvaceae (4,64%), Convolvulaceae (3,49%), Asteraceae (2,76%) y Solanaceae (0,79%). La frecuencia de *M. persicae* en las plantas muestreadas en el entorno de los invernaderos de pimiento, fue significativamente mayor (14,1%) que las otras especies de áfidos (test de Tukey, $P < 0,001$).

Algunos áfidos como *Brachycaudus amygdalinus* (Schouteden) (Hemiptera: Aphididae) y *Hyalopterus amygdali* Blanchard (Hemiptera: Aphididae) aparecieron con frecuencia en su principal hospedante, *P. dulcis* (Tabla 2). Este fue también el caso de *Hyperomyzus lactucae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) y *Uroleucon sonchi* (L.) (Hemiptera: Aphididae), especies muy comunes en *Sonchus* spp. (Tabla 2). La tabla 2 muestra la frecuencia de otros áfidos que no son plaga en pimiento encontrados en las plantas muestreadas. La frecuencia de áfidos en las plantas adventicias estuvo significativamente influenciada por la familia de planta hospedante y por las especies de áfidos (Familia de plantas: F=5,89; g.l.=7, 931; P<0,001); Especie de áfido F=46,50; g.l.=6, 931; P<0,001), existiendo una interacción significativa entre familia de planta y especie de áfido (F=7,77; g.l.=42, 931; P<0,001).

Áfido	Familia de planta	Especie de planta	N	Por. (%)
<i>Aphis fabae</i>	Asteraceae	<i>Cynaria scolymus</i>	21	0,09524
	Chenopodiaceae	<i>Beta</i> spp.	162	0,04321
		<i>Chenopodium</i> spp.	329	0,00304
		<i>Solanum nigrum</i>	22	0,04545
	Urticaceae	<i>Urtica urens</i>	162	0,00617
<i>Aphis spiraeicola</i>	Plantaginaceae	<i>Plantago lanceolata</i>	46	0,00000
<i>Aphis umbrella</i>	Malvaceae	<i>Malva parviflora</i>	885	0,00226
<i>Brachycaudus amygdalinus</i>	Asteraceae	<i>Dittrichia viscosa</i>	22	0,04545
	Chenopodiaceae	<i>Beta</i> spp.	162	0,00617
	Rosaceae	<i>Prunus dulcis</i>	145	0,34483
<i>Brevicoryne brassicae</i>	Brassicaceae	<i>Diplotaxis eruroides</i>	202	0,00495
<i>Capitophorus elaeagni</i>	Asteraceae	<i>Cynaria scolymus</i>	21	0,00000
		<i>Dittrichia viscosa</i>	22	0,04545
<i>Capitophorus inulae</i>	Asteraceae	<i>Dittrichia viscosa</i>	22	0,13636
<i>Hayhurstia atriplicis</i>	Chenopodiaceae	<i>Chenopodium</i> spp.	329	0,00304
<i>Hyalopterus amygdali</i>	Rosaceae	<i>Prunus dulcis</i>	145	0,00690
<i>Hyalopterus pruni</i>	Chenopodiaceae	<i>Chenopodium</i> spp.	329	0,00304
	Convolvulaceae	<i>Convolvulus</i> spp.	121	0,01653
	Malvaceae	<i>Malva parviflora</i>	885	0,01130
	Rosaceae	<i>Prunus dulcis</i>	145	0,01379
	Solanaceae	<i>Solanum nigrum</i>	22	0,04545
<i>Hyperomyzus lactucae</i>	Asteraceae	<i>Sonchus</i> spp.	291	0,05498
	Malvaceae	<i>Malva parviflora</i>	885	0,00000
<i>Lipaphis</i> spp.	Brassicaceae	<i>Sisymbrium irio</i>	91	0,01099
<i>Uroleucon sonchi</i>	Asteraceae	<i>Sonchus</i> spp.	291	0,14089

Tabla 2. Plantas hospedantes y porcentaje de especies de áfidos que no atacan pimiento encontrados en el entorno de los invernaderos de pimiento. N= número de muestras.

3.3. Parasitoides provenientes de muestras adicionales de invernaderos y de la vegetación de su entorno.

En muestreos llevados a cabo en invernaderos seleccionados al azar en el área de estudio, *A. colemani* y *A. matricariae* fueron los dos principales parasitoides de *M. persicae* (Figura 7). Otras especies encontradas ocasionalmente en *M. persicae* fueron *A. sonchi*, *E. persicae* y *P. volucre*. El hiperparasitoide *Phaenoglyphis* spp. (Hymenoptera: Charipidae) se encontró sólo en una ocasión. *Ahidius ervi* y *P. volucre* se hallaron sobre *M. euphorbiae* y *A. solani* (Figura 7). *Aphelinus asychis* Walker (Hymenoptera: Aphelinidae) se encontró solamente en *A. solani*. *Aphidius matricariae* y *A. colemani* fueron ambas recolectadas en *Aphis* spp. (Figura 7).

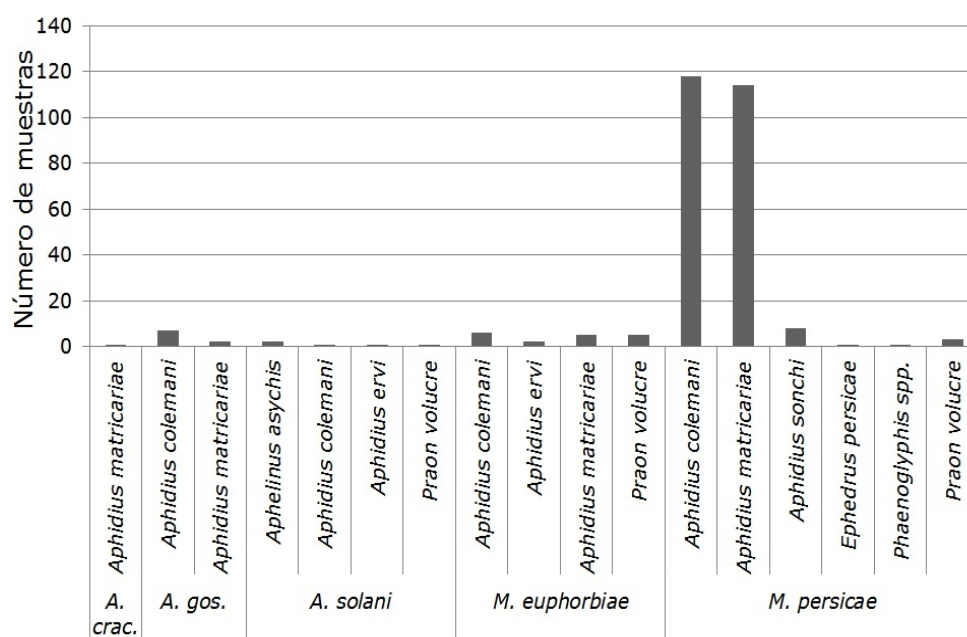


Figura 7. Parasitoides recolectados dentro de los invernaderos comerciales en especies que atacan pimiento. La longitud de las barras representa el número de muestras donde se encuentran las diferentes especies de parasitoides.

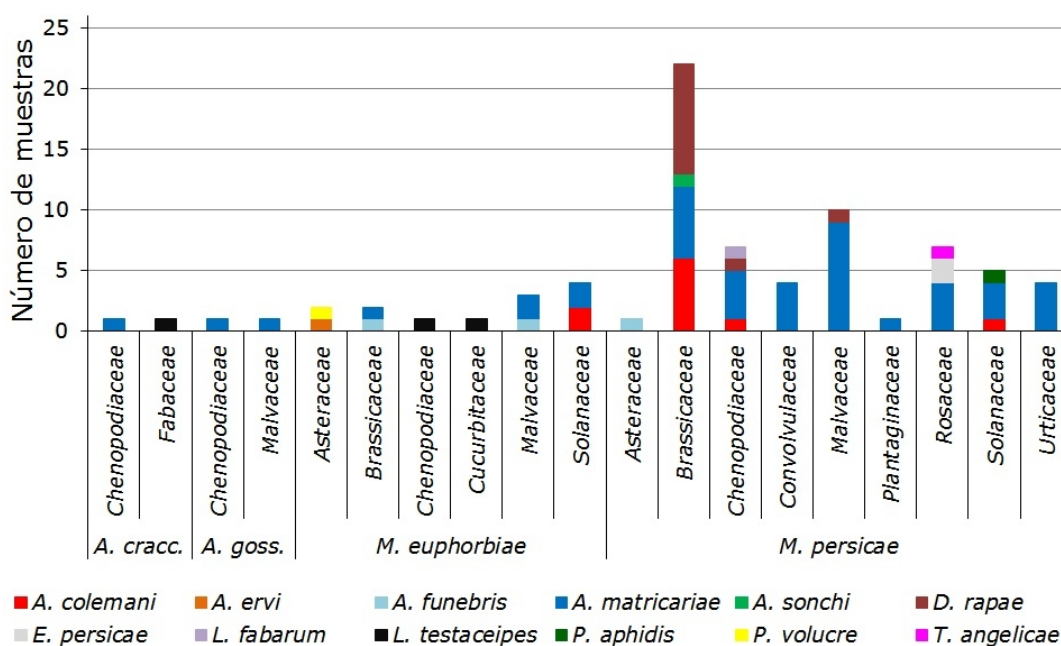


Figura 8. Parasitoides recolectados en diferentes familias de plantas del entorno de los invernaderos. La longitud de las barras representa el número de muestras donde se encuentra una determinada especie de parasitoide.

En la vegetación de los alrededores de los invernaderos de pimiento, *A. matricariae* fue el parasitoide encontrado de manera más frecuente sobre *M. persicae*, seguido de *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Braconidae), *A. colemani* y *A. sonchi* (Figura 8). *Aphidius matricariae* fue la especie más polífaga estando presente en 10 de los 22 áfidos muestreados (Figura 8 y Tabla 3). *Aphidius matricariae* fue también el más ubicuo, habiéndose encontrado en 8 de las 11 familias de plantas que son hospedantes frecuentes de áfidos que atacan pimiento (Figura 8). Estos parasitoides se encontraron en 25 especies de plantas pertenecientes a 10 familias. En contraste, *D. rapae* se encontró solamente en *M. persicae* y *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae), y la mayoría de las veces en (9 de 11 muestras) en Brassicaceae (Figura 8). Otros parasitoides como *Trioxys angelicae* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) y *E. persicae*, mostraron también un rango de plantas muy restringido y se recolectaron únicamente en *Prunus* spp. (Figura 8). *Aphidius funebris* Mackauer (Hymenoptera: Braconidae),

Lysiphlebus fabarum Marshall (Hymenoptera: Braconidae), *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) y *D. rapae* se encontraron solamente fuera de los invernaderos (Figura 8, Tabla 3). El hiperparasitoide *Pachyneuron aphidis* (Bouché) (Hymenoptera: Pteromalidae) se halló ocasionalmente. Además de las mismas especies encontradas en los invernaderos, en el entorno de los mismos *M. euphorbiae* estuvo parasitada también por *L. testaceipes* y *A. funebris* (Figura 8). La tabla 3 muestra una lista de parasitoides encontrados en otras especies de áfidos que no atacan pimiento. Todos estos parasitoides, con la excepción de *Trioxys acalephae* (Marshall) (Hymenoptera: Braconidae), se encontraron parasitando en una o varias ocasiones a las especies de áfidos que atacan pimiento (Tabla 3 y Figura 7 y 8).

Áfido	Familia planta	Parasitoide	N	N indiv.
<i>A. fabae</i>	Chenopodiaceae	<i>Aphidius matricariae</i>	1	1
		<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	1	1
<i>Aphis</i> spp.	Urticaceae	<i>Aphidius colemani</i>	1	18
		<i>Aphidius matricariae</i>	1	1
		<i>Trioxys acalephae</i>	1	2
<i>A. umbrella</i>	Malvaceae	<i>Aphidius matricariae</i>	2	2
<i>B. amygdalinus</i>	Asteraceae	<i>Aphidius matricariae</i>	1	1
	Malvaceae	<i>Aphidius matricariae</i>	1	1
	Rosaceae	<i>Aphidius matricariae</i>	5	6
		<i>Ephedrus persicae</i>	7	8
		<i>Trioxys angelicae</i>	1	1
<i>B. helichrysis</i>	Asteraceae	<i>Aphidius matricariae</i>	1	2
<i>B. brassicae</i>	Brassicaceae	<i>Diaeretiella rapae</i>	2	2
<i>Dysaphis</i> spp.	Poaceae	<i>Aphidius matricariae</i>	1	6
<i>H. pruni</i>	Chenopodiaceae	<i>Aphidius matricariae</i>	1	1
	Rosaceae	<i>Ephedrus persicae</i>	2	2
		<i>Trioxys angelicae</i>	1	1
<i>R. maidis</i>	Poaceae	<i>Diaeretiella rapae</i>	1	2
<i>U. sonchi</i>	Asteraceae	<i>Aphidius ervi</i>	1	1
		<i>Praon volucre</i>	1	1

Tabla 3. Parasitoides encontrados en especies de áfidos que no atacan pimiento. N= número de muestras, N indiv.= número de individuos.

4. Discusión.

En los invernaderos de pimiento del sureste de la península Ibérica, *M. persicae* fue el más abundante de todas las especies de áfidos seguido de *M. euphorbiae* y *A. solani*. Otras especies encontradas en bajo número como *A. gossypii* o *A. craccivora*, fueron señaladas como plagas de pimiento de forma ocasional en otras regiones (Valerio et al. 2007). Todas estas especies de áfidos tienen en la actualidad una distribución mundial, aunque *M. persicae* y *M. euphorbiae* son probablemente originarias de Asia y Norte América respectivamente, mientras que *A. craccivora* y *A. solani* son originarias de la región Paleártica (Blackman y Eastop 2000). Todas estas especies son altamente polífagas y han sido señaladas como plagas de cultivos de invernadero en todo el mundo (Rabasse y van Steenis 1999 (y referencias en él), Blackman y Eastop 2000, Blümel 2004). En casi todos los invernaderos muestreados tuvo lugar un incremento en el parasitismo después de incrementos en las poblaciones de áfidos. No obstante, la acción de los parasitoides no fue suficiente para regular las poblaciones de áfidos por debajo de niveles aceptables y se recurrió frecuentemente al uso de insecticidas. *Aphidius colemani* y *A. matricariae* fueron los parasitoides de *M. persicae* más abundantes en los invernaderos comerciales de pimiento. En todos los invernaderos, *A. colemani* fue introducido para controlar *M. persicae* al inicio de cada campaña, mientras que *A. matricariae* colonizó los cultivos espontáneamente, llegando a superar en número a la primera especie en varias ocasiones. Varios autores han señalado el uso y efectividad de *A. matricariae* para el control de *M. persicae* en diferentes cultivos como pimiento, berenjena y crisantemo (Rabasse y Shalaby 1980, Popov et al. 1987, Buxton et al. 1990, van Steenis 1992, Rabasse y van Steenis 1999, Wick 2009). No obstante, *A. matricariae* fue reemplazado casi por completo a nivel comercial por *A. colemani* a mediados de los 90, debido al amplio rango de huéspedes de esta segunda especie, que incluye entre otras a *A. gossypii* (van Steenis 1992, Rabasse y van Steenis 1999). Van Steenis (1995)

observó que en experimentos de laboratorio *A. matricariae* parasitaba menos del seis por ciento de *A. gossypii* y concluyó que este parasitoide tenía menos potencial como agente de control biológico. Estos resultados contradicen a los de Zamani et al. (2006), quienes señalaron altos niveles de parasitismo en *A. gossypii* en ambos parasitoides. En el presente trabajo se ha encontrado frecuentemente *A. matricariae* en invernaderos comerciales de pimiento y es posible que el control de *M. persicae* fuera más efectivo introduciendo esta especie de parasitoide en lugar de *A. colemani*. Otras especies como *A. sonchi*, *E. persicae* y *P. volucre*, se encontraron parasitando *M. persicae*, aunque a bajos niveles en invernadero, por lo que es de esperar que su papel en la regulación de *M. persicae* en invernaderos de pimiento sea poco relevante. En cuanto a las otras especies de áfidos que atacan al pimiento se ha observado que *P. volucre* y *A. ervi* parasitaron *M. euphorbiae* y *A. solani*, mientras que *A. asychis* atacó solamente *A. solani*. Tatsumi y Takada (2005) señalaron que *A. asychis* podía ser un agente de control biológico efectivo para *M. persicae* y *M. euphorbiae* en Japón, sin embargo en nuestros estudios no se ha detectado parasitismo en dicha especie de parasitoides en estos áfidos, por lo que la situación en el Campo de Cartagena podría ser bien diferente a la descrita en Japón.

Myzus persicae fue el áfido más polífago de todos los estudiados, estando presente en el 77% de las especies de plantas muestreadas alrededor de los invernaderos, seguido de *M. euphorbiae* (55%), *A. gossypii* (18%), *A. craccivora* (13%) y *A. solani* (4%). Las Brassicaceae fueron los principales hospedantes de *M. persicae* y *M. euphorbiae*. Otras plantas en las que hubo gran diversidad de áfidos fueron *M. parviflora*, *Convolvulus* spp., *Beta* spp., *Chenopodium* spp., y *U. urens*, plantas muy relevantes al ser adventicias muy comunes en el entorno de los invernaderos y al ser frecuentemente infestadas por áfidos. Todas las plantas señaladas en el presente estudio fueron ya citadas como hospedantes de estos áfidos por otros autores (Nieto Nafria et al. 1984, Michelena 2004, Holman 2009). La abundancia de las diferentes especies de

áfidos en los invernaderos de pimiento fue similar a la encontrada en la vegetación del entorno, lo que muestra la importancia de la misma como una fuente de áfidos plaga para el cultivo. Sin embargo, las plantas espontáneas también tienen un papel importante como refugio de parasitoides, que colonizan de una forma natural los cultivos de pimiento. La mayoría de los parasitoides recolectados fuera de los invernaderos se hallaron también dentro de los mismos y con abundancias similares. Todos los huéspedes de áfidos de parasitoides encontrados en el presente trabajo han sido previamente señalados por otros autores (Schlinger y Mackauer 1963, Stary 1973, 1976, Pennacchio 1989, Michelena 2004, Kavallieratos et al. 2005, Tatsumi y Takada 2005, Japoshvili y Abrantes 2006). Las 11 especies de parasitoides encontradas sobre los áfidos plaga de pimiento pueden contribuir también a la regulación de las poblaciones de dichas especies de áfidos en la vegetación espontánea del entorno de los invernaderos. Se han encontrado niveles muy bajos de hiperparasitoides de áfidos: especies como *P. aphidis* y *Phaenoglyphis* spp., se encontraron ocasionalmente dentro y fuera de los invernaderos. Como sucede en los invernaderos de pimiento en el entorno de los cultivos también se observó mayor número de parasitoides en *M. persicae* que en *M. euphorbiae* y *A. solani*. Estas observaciones parecen indicar que estas dos últimas especies de áfidos son menos susceptibles al ataque de los parasitoides que *M. persicae*: aunque, también hay que tener en cuenta que *M. euphorbiae* y *A. solani* fueron menos abundantes que *M. persicae* en la vegetación herbácea. *Aphidius matricariae* fue el más abundante y polífago de todos los parasitoides, habiéndose encontrado en 10 especies de áfidos pertenecientes a 7 géneros y en 23 especies de plantas pertenecientes a 10 familias. Estos resultados están de acuerdo con la polifagia de la especie referida por Schlinger y Mackauer (1963), que citan hasta 40 especies de áfidos pertenecientes a 21 géneros como huéspedes de este braconido. A diferencia de lo citado por Schlinger y Mackauer (1963) en el presente trabajo no se encontró *A. matricariae* sobre *A. solani*, por lo que resulta improbable que

en el sureste de la península Ibérica esta especie de parasitoide juegue un papel importante en el control de este áfido. Dicha puntualización coincide con las observaciones de Quentin et al. (1995), que citan *A. solani* como un no-huésped para *A. matricariae*. *Aphidius colemani* fue menos polífago y ubicuo que *A. matricariae*, habiéndose encontrado sólo en tres especies de áfido de tres géneros diferentes, en muestras provenientes de 12 plantas pertenecientes a 8 familias. La menor abundancia de *A. colemani* fuera de los invernaderos puede reflejar un rango de huéspedes más estrecho o una peor adaptación a las condiciones ambientales locales que *A. matricariae*. Otras especies como *A. ervi*, *A. funebris*, *A. sonchi*, *L. fabarum*, *L. testaceipes*, y *P. volucre* se encontraron en bajo número, otras como *D. rapae* y *T. angelicae*, no se encontraron dentro de los invernaderos, pero fueron abundantes en brásicas y *Prunus* spp., respectivamente. Aunque estos dos parasitoides no parecen que colonicen invernaderos de pimiento, pueden tener un importante papel en la regulación de poblaciones de *M. persicae* en el entorno de los mismos.

La abundancia de parasitoides en la vegetación del entorno de los invernaderos de pimiento ofrece una oportunidad de desarrollo de programas de control biológico de áfidos basados en la conservación de poblaciones nativas de parasitoides. Existen muchos estudios que han subrayado la importancia de la vegetación espontánea como reservorios de parasitoides de áfidos (Sary y Lyon 1980, Sary 1982, 1983, 1986b, 1987, 1991, Kavallieratos et al. 2002); Kavallieratos et al. (2002) argumentó que la abundancia de *A. matricariae* parasitando *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae) en trigo duro y cebada en Grecia podría atribuirse a la dispersión de los individuos que parasitan *Capitophorus inulae* (Passerini) (Hemiptera: Aphididae) en *Dittrichia viscosa* (L.) (Asteraceae). De forma similar, *Lysiphlebus confusus* Tremblay & Heady (Hymenoptera: Braconidae) y *L. fabarum* fueron las especies predominantes en *Rubus ulmifolius* Schott (Rosaceae) y algodón, donde parasitaban *Aphis ruborum* (Börner) (Hemiptera: Aphididae) y *A. gossypii*, respectivamente (Kavallieratos et al.

2002). Algunas de las plantas herbáceas de los invernaderos del sureste de la península Ibérica pueden albergar especies de áfidos sin importancia económica, pero que pueden ser usadas como huésped alternativo por los parasitoides que atacan las especies plaga del cultivo de pimiento. Este es el caso de las gramíneas, que pueden albergar áfidos sin importancia económica huéspedes de *A. matricariae* y de las compuestas (ej. *Sonchus* spp.), hospedantes de *U. sonchi* que es parasitado por *A. ervi* y *P. volucre*; estas dos especies de parasitoides se recolectaron en pocas ocasiones, pero son de gran importancia porque atacan *A. solani* y *M. euphorbiae*. Aunque *U. sonchi* ha sido señalado como un vector de virus que infecta la lechuga, la especie tiene poca importancia como plaga en lechuga en la provincia de Murcia (Nebrada et al. 2004, 2005).

5. Conclusiones.

En este estudio se ha enfocado el problema de los áfidos en pimiento desde una amplia perspectiva, considerando el invernadero no como una célula aislada, sino que integrada dentro de una amplia matriz ambiental con el libre movimiento de insectos entre los diferentes componentes del espacio. Esto es particularmente apropiado en el área mediterránea, donde los invernaderos no son estructuras herméticas y los agroecosistemas tienen una amplia diversidad de cultivos y vegetación natural. Las similitudes en la abundancia de áfidos entre el interior y el exterior de los invernaderos, refleja el impacto del ambiente de los alrededores en la dinámica poblacional de estas comunidades en cultivos de pimiento. Muchas fueron las especies de parasitoides encontradas durante los cinco años de este estudio, y algunas de ellas podrían mejorar el control de áfidos si se utilizaran en invernaderos comerciales. La vegetación del entorno de los invernaderos de pimiento puede servir como una fuente de ambos, áfidos y parasitoides. Algunas especies de plantas no hospedantes de áfidos diana podrían ser usadas como reservorios para parasitoides y algunos hospedantes de áfidos plaga, podrían tener también

un papel importante como reservorios, siempre y cuando el balance entre su papel como fuente de parasitoides y de áfidos plaga sea positivo. Algunas plantas adventicias podrían resultar más atractivas que los cultivos y servir como sumideros que reducen la migración hacia los cultivos; estas plantas podrían albergar a su vez parasitoides que se dispersarían hacia los cultivos cercanos y la vegetación espontánea.

6. Referencias bibliográficas.

- Blackman, R. L., y V. F. Eastop. 2000.** Aphids on the world's Crops: An Identification and Information Guide, ed. John Wiley & Sons, Chichester (UK).
- Blümel, S. 2004.** Biological Control of Aphids on Vegetable Crops. *In* Heinz, K.M., Driesche, V., Parella, M.P. (eds.), Biocontrol in Protected Culture. Ball Publishing, Batavia, IL (USA), pp. 297–312.
- Buxton, J. H., R. Jacobsen, M. Saynor, R. Stoner, y L. Wardlow. 1990.** An integrated pest management programme for peppers: three years trial experience. IOBC/WPRS Bulletin. 13: 45–50.
- Fereres, A., P. Perez, C. Gemenó, y F. Ponz. 1993.** Transmission of spanish pepper-pvy and potato-pvy isolates by aphid (Homoptera, Aphididae) vectors - epidemiologic implications. *Environmental Entomology*. 22: 1260–1265.
- Fernandez-Calvino, L., D. Lopez-Abella, J. J. Lopez-Moya, y A. Fereres. 2006.** Comparison of Potato virus Y and Plum Pox Virus transmission by two aphid species in relation to their probing behavior. *Phytoparasitica*. 34: 315–324.
- Field, L. M., A. P. Anderson, I. Denholm, S. P. Foster, Z. K. Harling, N. Javed, D. Martinez-Torres, G. D. Moores, M. S. Williamson, y A. L. Devonshire. 1997.** Use of biochemical and DNA diagnostics for characterising multiple mechanisms of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pesticide Science*. 51: 283–289.
- Gabarra, R., O. Alomar, C. Castañé, M. Goula, y R. Albajes. 2004.** Movement of greenhouse whitefly and its predators between in- and outside of Mediterranean greenhouses. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 102: 341–348.
- Hermoso-de-Mendoza, A., M. La-Spina, F. Marco, S. Tabanera, P. Vinaches, E. A.**

- Carbonell, y J. Perez-Panades. 2006.** Nivel de daño económico para *Aulacorthum solani* (Hemiptera, Aphididae) sobre pimiento en invernadero comercial. Boletín Sanidad Vegetal. Plagas. 32: 181–187.
- Holman, J. 2009.** Host Plant Catalog of Aphids. Palaearctic Region. Springer Science and Business Media, B.V., Dordrecht (The Netherlands).
- Japoshvili, G., y I. Abrantes. 2006.** *Aphelinus* Species (Hymenoptera: Aphelinidae) from the Iberian Peninsula, with the Description of One New Species from Portugal. Journal of Natural History. 40: 855–862.
- Kavallieratos, N. G., C. G. Athanassiou, Z. Tomanovic, A. Sciarretta, P. Trematerra, y V. Zikic. 2005.** Seasonal occurrence, distribution and sampling indices for *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphidoidea) and its parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) on tobacco. European Journal of Entomology. 102: 459–468.
- Kavallieratos, N. G., G. J. Stathas, C. G. Athanassiou, y G. T. Papadoulis. 2002.** *Dittrichia viscosa* and *Rubus ulmifolius* as reservoirs of aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) and the role of certain coccinellid species. Phytoparasitica. 30: 231–242.
- La-Spina, M., A. Hermoso-de-Mendoza, E. A. Carbonell, y J. Perez-Panades. 2008.** Umbrales económicos de *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphididae) sobre pimiento en invernadero comercial. Boletín Sanidad Vegetal. Plagas. 34: 485–491.
- Martinez-Torres, D., R. Carrio, A. Latorre, J. C. Simon, A. Hermoso-de-Mendoza, y A. Moya. 1997.** Assessing the nucleotide diversity of three aphid species by RAPD. Journal of Evolutionary Biology. 10: 459–477.
- Michelena, J. M. 2004.** Parasitoides afidiinos (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) de pulgones de cultivos agrícolas en la Comunidad Valenciana. Boletín Sanidad Vegetal.

Plagas. 49: 83–88.

- Moore, G. D., G. J. Devine, y A. L. Devonshire. 1994.** Insecticide-insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase-based resistance in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 49: 114–120.
- Nebrada, M., J. M. Michelena, y A. Fereres. 2005.** Seasonal Abundance of Aphid Species on Lettuce Crops in Central Spain and Identification of their Main Parasitoids. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 112: 412–415.
- Nebrada, M., A. Moreno, N. Perez, I. Palacios, V. Seco-Fernandez, y A. Fereres. 2004.** Activity of Aphids Associated with Lettuce and Broccoli in Spain and their Efficiency as Vectors of Lettuce Mosaic Virus. *Virus Research*. 100: 83–88.
- Nieto Nafria, J. M., T. E. Gonzalez, y M. P. Mier Durante. 1984.** Catálogo de los pulgones (Homoptera: Aphidoidea) de España y de sus plantas hospedadoras. Universidad de León. Servicio de Publicaciones, León (España).
- Pennacchio, F. 1989.** The Italian Species of the Genus *Aphidius* Nees (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). *Bollettino Laboratorio Entomologico Agrario Filippo Silvestri*. 46: 75–106.
- Popov, N. A., Y. V. Belousov, I. A. Zabudskaya, O.A. Khudyakova, V. B. Shevtchenko, y E. S. Shijko. 1987.** Biological Control of glasshouse crop pests in the south of the U.S.S.R. *IOBC/WPRS Bulletin*. 10: 155–157.
- Quentin, U., M. Hommes, y T. Basedow. 1995.** Laboratoire studies on the Biological Control of Aphids (Hom. Aphididae) on Lettuce in Greenhouses. *Journal of Applied Entomology*. 119: 227–232.

- R Core Team. 2012.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rabasse, J. M., y F. F. Shalaby. 1980.** Studies on the development of *Myzus persicae* Sulz (Hom., Aphididae) and its primary parasite, *Aphidius matricariae* Hal. (Hym., Aphidiidae) at constant temperatures. *Acta Oecologica. Oecologia Applicata*. 1: 21–28.
- Rabasse, J. M., y M. J. van Steenis. 1999.** Biological Control of Aphids. In Albajes, R., Giullino, M.A., van Lenteren, J.C., Elad, Y. (eds.), *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*. Kluwer, Dordrecht (The Netherlands), pp. 235–343.
- Ramakers, P. M. J. 2004.** IPM Program for Sweet Pepper. In Heinz, K.M., Driesche, V., Parella, M.P. (eds.), *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, IL (USA), pp. 439–55.
- Sanchez, J. A., F. Canovas, y A. Lacasa. 2007.** Thresholds and management strategies for *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae) in greenhouse pepper. *Journal of Economic Entomology*. 100: 123–130.
- Sanchez, J. A., F. Garcia, A. Lacasa, L. Gutierrez, M. Oncina, J. Contreras, y Y. J. Gomez. 1997.** Response of the Anthocorids *Orius laevigatus* and *Orius albidipennis* and the Phytoseiid *Amblyseius cucumeris* for the Control of *Frankliniella occidentalis* in Commercial Crops of Sweet Peppers in Plastic Houses in Murcia, Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*. 20: 177–185.
- Sanchez, J. A., M. La-Spina, J. M. Michelena, A. Lacasa, y A. Hermoso-de-Mendoza. 2010.** Ecology of the aphid pests of protected pepper crops and their parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*. 21: 171–188.
- Sanchez, J. A., y A. Lacasa. 2002.** Modelling population dynamics of *Orius laevigatus* and *O.*

- albidipennis* (Hemiptera: Anthocoridae) to optimize their use as biological control agents of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). Bulletin of Entomological Research. 92: 77–88.
- Sanchez, J. A., y A. Lacasa. 2006.** A biological pest control story. IOBC/WPRS Bulletin. 29: 17–22.
- Schlinger, E. I., y M. J. P. Mackauer. 1963.** Identity, Distribution, and Hosts of *Aphidius matricariae* Haliday, an Important Parasite of the Green Peach Aphid, *Myzus persicae* (Hymenoptera: Aphidiidae Homoptera: Aphidoidea). Annals of the Entomological Society of America. 56: 648–653.
- Shaposhnikov, G. K., y A. G. Davletshina. 1967.** Suborder Aphidinea. In Keys to the Insects of the European USSR. G.Y.a., Bei-Bienko, pp. 616–799.
- Stary, P. 1973.** A Review of the *Aphidius* species (Hymenoptera, Aphidiidae) of Europa. Annotationes Zoologicae et Botanicae. 84: 1–85.
- Stary, P. 1976.** Aphid Parasites (Hymenoptera, Aphidiidae) of the Mediterranean area. The Hague & Academia, Prague (Czech Republic).
- Stary, P. 1982.** The Role of Ash (*Fraxinus*) as a Reservoir of Aphid Parasitoids with Description of a New Species in Central Europe (Hymenoptera, Aphidiidae). Entomologica Bohemoslovaca. 79: 97–107.
- Stary, P. 1983.** The Perennial Stinging Nettle (*Urtica dioica*) as a Reservoir of Aphid Parasitoids (Hymenoptera, Aphidiidae). Acta Entomologica Bohemoslovaca. 80: 81–86.
- Stary, P. 1986a.** Specificity of parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) to the black bean aphid *Aphis fabae* complex in agroecosystems. Acta Entomologica Bohemoslovaca. 83: 24–29.

- Sary, P. 1986b.** Creeping Thistle *Cirsium arvense* L. as a Reservoir of Aphid Parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) in Agroecosystem. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*. 83: 425–431.
- Sary, P. 1987.** Aphid ant parasitoid Association on the Creeping Thistle *Cirsium arvense* L. in Agroecosystems in Czechoslovakia. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*. 84: 15–21.
- Sary, P. 1991.** *Philadelphus coronarius* L. as a Reservoir of Aphids and Parasitoids. *Journal of Applied Entomology*. 112: 1–10.
- Sary, P., y J. P. Lyon. 1980.** *Acyrtosiphon pisum ononis* (Homoptera, Aphididae) and *Ononis* Species as Reservoirs of Aphid Parasitoids (Hymenoptera, Aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*. 77: 65–75.
- Sary, P., y V. Némec. 1986.** Common elder *Sambucus nigra* L. as a reservoir of aphids and parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*. 83: 271–278.
- Van Steenis, M. J. 1992.** Suitability of *Aphis gossypii* Glov., *Macrosiphum euphorbiae* (Thom.), and *Myzus persicae* Sulz. (Hom.: Aphididae) as Host for Several Aphid Parasitoid Species (Hym.: Braconidae). *IOBC/WPRS Bulletin*. 16: 157–160.
- Van Steenis, M. J. 1995.** Evaluation of four aphidiine parasitoids for biological control of *Aphis gossypii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 75: 151–157.
- Tatsumi, E., y H. Takada. 2005.** Evaluation of *Aphelinus asychis* and *A. albipodus* (Hymenoptera: Aphelinidae) as Biological Control Agents Against Three Pest Aphids. *Applied Entomology and Zoology*. 40: 379–385.
- Valerio, E., A. Cecilio, y A. Mexia. 2007.** Interactions between Aphid Species and Beneficial Organisms in Sweet Pepper Protected Crop. *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*. 33: 143–152.

Wick, M. 2009. Release of *Aphidius matricariae* for Control of *Myzus persicae* in Glasshouses.

EPPO Bulletin. 22: 437–444.

Zamani, A. A., A. Talebi, Y. Fathipour, y V. Baniameri. 2006. Temperature-dependent Functional Response of Two Aphid Parasitoids, *Aphidius colemani* and *Aphidius matricariae* (Hymenoptera: Aphidiidae), on the Cotton Aphid. Journal of Pest Science. 79:

183–188.

Capítulo II

Variación clonal de la especie *Myzus persicae* en el sureste de la península Ibérica

Capítulo II

Variación clonal de la especie *Myzus persicae* en el sureste de la península Ibérica

1. Introducción.

Entre todos los áfidos que causan daños en el cultivo de pimiento en invernadero una de las especies más importantes es *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) (Rabasse y van Steenis 1999, Blackman y Eastop 2000, Blümel 2004, Ramakers 2004). Este áfido, cuyo origen es probablemente asiático, alcanza ya una distribución mundial y está citado como plaga en pimiento [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] en las zonas de producción bajo invernadero de todo el mundo: Argentina (Vasicek et al. 2001); Australia (Spooner-Hart 1993); Canadá (Gilkeson 1990); Países Bajos (van Steenis 1993); Reino Unido (Buxton et al. 1990); Rusia (Popov et al. 1987). *Myzus persicae* es también uno de los áfidos más abundantes y más difíciles de controlar en las zonas de producción de pimiento del sureste de la península Ibérica (La-Spina et al. 2008, Sanchez et al. 2010). Los daños que causa este áfido son de dos tipos: (1) directos, debidos a las picaduras que ocasiona con su estilete para alimentarse y a la melaza que secreta, que favorece la formación de negrilla; (2) indirectos por su capacidad para transmitir gran cantidad de virus de tipo persistente y no persistente, como el virus del enrollamiento de la hoja de la patata (PLRV), el virus Y de la patata (PVY) y el mosaico del pepino (CMV) (Kennedy et al. 1962). *Myzus persicae* tiene un ciclo reproductor holocíclico heteróico, es decir que se desarrolla alternando entre un hospedante primario, generalmente perteneciente al género *Prunus* (Rosaceae), donde tiene lugar la reproducción sexual, y múltiples hospedantes secundarios donde se produce una sucesión de generaciones que se reproducen por partenogénesis (Blackman y Eastop 2000).

Existen variaciones al tipo de reproducción partenogenética cíclica, que consisten básicamente en dejar de producir formas sexuadas de una forma total o parcial mediante la

producción de machos (Blackman 1971, 1972). Estas variaciones del ciclo holocíclico heteróico en *M. persicae* son las tres siguientes: (1) anholocíclico, en el que existen únicamente formas que se reproducen por partenogénesis obligada con ausencia de fase sexual; (2) androcíclico, llevado a cabo por formas partenogénicas que desarrollan machos y hembras partenogénicas; (3) intermedio, en el que hay formas sexuales y otras que son partenogénicas obligadas. Se han propuesto cuatro mecanismos para explicar como los áfidos pasan de una partenogénesis cíclica con reproducción sexual a una partenogénesis obligada (Simon et al. 2003, Loxdale 2010): (1) por una mutación en los genes implicados en la formación de formas sexuales y de la meiosis se obtiene una desaparición total o parcial de dichas formas (Delmotte et al. 2001); (2) por partenogénesis contagiosa, en la que machos procedentes de linajes en los que se ha perdido parcialmente la característica de producir formas sexuales se cruzan con hembras de otra población obteniendo una descendencia partenogénica obligada total o parcial (Delmotte et al. 2003); (3) por hibridación, en la que se cruzan dos líneas partenogénicas cíclicas, obteniéndose una línea partenogénica obligada total o parcial (Simon et al. 2003); (4) por partenogénesis infecciosa en la que por la asociación a determinadas bacterias simbiotes se dejan de producir formas sexuales (Simon et al. 2003, von Burg et al. 2008). La variabilidad genética en las poblaciones de *M. persicae* se genera en el hospedante primario mediante la reproducción sexual, en la que están implicadas las formas holocíclicas, androcíclicas e intermedias. La variabilidad genética generada por las formas anholocíclicas en los hospedantes secundarios es menor, y se debe fundamentalmente a mutaciones o a errores en la replicación durante la mitosis.

El fotoperiodo es uno de los principales factores que intervienen en el proceso de formación de formas sexuales en *M. persicae*, aunque la temperatura y la presencia de hospedantes también juegan un papel importante (Blackman 1971, 1974). Blackman (1974) hipotetizó la distribución mundial de los distintos ciclos de vida de *M. persicae* en las

diferentes latitudes en función de la temperatura, el fotoperiodo y la presencia o ausencia de hospedante primario del género *Prunus*. Según los umbrales establecidos por Blackman (1974) la producción de formas sexuadas tendría lugar a temperaturas inferiores a 22 °C y a duraciones de día inferiores a 13 horas. La zona medio-templada es la única en la que según sus previsiones podrían sobrevivir ciclos partenogenéticos obligados con ciclos que producen formas sexuadas, ya que los inviernos permitirían la hibernación de las hembras partenogenéticas. La convivencia de formas con diferentes ciclos de vida de *M. persicae* en la zona medio-templada planteada por Blackman en 1974, ha sido respaldada por posteriores estudios realizados en diferentes lugares del mundo, como Australia, España, Francia, Gran Bretaña, Grecia e Italia. En el caso de Australia y Grecia cuyos climas permiten la existencia de formas sexuales, se ha determinado que conviven los ciclos de vida holocíclicos, anholocíclicos, androcíclicos e intermedios (Margaritopoulos et al. 2002, Vorburger, Sunnucks, et al. 2003). La aparición de nuevas técnicas moleculares [amplificación aleatoria de ADN polimórfico combinada con la reacción en cadena de la polimerasa (RAPD-PCR); huellas de fragmentos de ADN ribosómico intergénico (IGS); microsátélites polimórficos de ADN] han permitido el estudio y comparación de las poblaciones de *M. persicae* provenientes de diferentes lugares y hospedantes. La diversidad genotípica es un indicador de la frecuencia de formas con diferentes ciclos de vida (Guillemaud et al. 2003): donde abunda el ciclo de vida partenogenético obligado el número de genotipos es mucho menor que donde predomina la partenogénesis cíclica, ya que cada año tras la reproducción sexual se producirán nuevos genotipos, mientras que cuando los áfidos partenogenéticos sobreviven al invierno, la única forma de variación es la mutación (Delmotte et al. 2002). La diversidad y abundancia de genotipos parece estar relacionada con la abundancia del hospedante primario. En Escocia, donde los hospedantes primarios son escasos, se han encontrado pocos genotipos (Fenton et al. 2005), mientras que en zonas de Australia, España, Francia y Grecia donde

abundan los hospedantes primarios la diversidad de genotipos es alta (Martinez-Torres et al. 1997, Guillemaud et al. 2003, Vorburger, Lancaster, et al. 2003, Blackman et al. 2007, Margaritopoulos et al. 2007).

Por otro lado, la variabilidad de las poblaciones de *M. persicae* puede estar influenciada por otro tipo de factores que influyen en la abundancia y dispersión de determinados genotipos en un área geográfica concreta. Entre otros, la aplicación sistemática de plaguicidas puede favorecer la predominancia de aquellos genotipos que hayan desarrollado resistencias a una determinada materia activa (Foster et al. 1998, Fenton et al. 2005, 2010, Kasprowicz et al. 2008). La especialización de clones de *M. persicae* en determinadas especies de plantas hospedantes podría dar lugar a variaciones en la estructura de las poblaciones (Figuerola et al. 2005, Peccoud et al. 2008, Vorburger y Ramsauer 2008). La adaptación a las temperaturas invernales de algunas líneas asexuales para pasar el invierno como hembra partenogenética podría seleccionar determinados genotipos tolerantes a las bajas temperaturas (Fenton et al. 1998, Vorburger, Lancaster, et al. 2003, Loxdale y Lushai 2007).

Myzus persicae está presente en muchos cultivos y vegetación espontánea de la costa mediterránea de la península Ibérica, su hospedante primario *Prunus* spp., es un cultivo tradicional presente en las zonas de interior de las provincias de València, Alicante y Murcia. En el caso del Campo de Cartagena, en la parte más occidental el almendro *Prunus dulcis* (Mill.) (Rosaceae) es abundante y en el resto del territorio se encuentra de manera ocasional. En esta zona son raras las ocasiones en las que se alcanzan temperaturas superiores a 35°C e inferiores a 3°C; en las zonas próximas a la costa del Mediterráneo las temperaturas medias no bajan de los 12°C durante los meses invernales (Conesa Garcia 1990). Según las predicciones de Blackman (1974), en este régimen de temperaturas sería posible la aparición de formas sexuales en otoño y la reproducción sexual en el hospedante primario (formas holocíclicas); además las condiciones

benignas del invierno permitirían la supervivencia de hembras con partenogénesis obligada en los hospedantes secundarios (formas anholocíclicas). El régimen de temperaturas favorable para la supervivencia de determinados genotipos y la presencia de hospedantes primarios, permitiría por lo tanto la coexistencia de formas con diferentes ciclos de vida, predicción que concuerda con la de los modelos matemáticos de coexistencia de ciclos en áfidos de Rispe y Pierre (1998) y Rispe et al. (1998). Por un lado, cabría esperar que la diversidad genotípica de *M. persicae* en toda la zona sea muy alta debido a la formación anual de nuevos genotipos por reproducción sexual. Sin embargo la supervivencia durante el invierno de algunos genotipos con partenogénesis obligada podría reducir la diversidad de las poblaciones. El flujo de individuos de *M. persicae* entre los hospedantes secundarios y el primario, y el papel que juegan los cultivos como hospedantes temporales determinará la abundancia y distribución geográfica de los genotipos (Vorburger, Sunnucks, et al. 2003, Vorburger 2006). Las nuevas formas partenogenéticas cíclicas originadas en el hospedante primario colonizarían los distintos hospedantes secundarios, entre los cuales en el Campo de Cartagena se encontraría el cultivo de pimiento bajo invernadero y volverían al hospedante primario para completar el ciclo sexual. En cambio, las formas partenogenéticas obligadas irían colonizando los hospedantes secundarios disponibles en cada época del año, entre ellos el cultivo de pimiento con una mayor probabilidad de supervivencia durante el invierno de los genotipos mejor adaptados a las bajas temperaturas.

Se espera encontrar una mayor variabilidad en el hospedante primario que en los secundarios, asociada a la mayor abundancia de formas partenogenéticas cíclicas que existirían en el primero. Por otro lado, se espera que existan diferencias entre diferentes áreas geográficas del sureste de la península Ibérica en cuanto a la diversidad de las poblaciones, debido a la abundancia de hospedante primario y a las diferencias climáticas. En el presente capítulo por lo tanto, se pretende determinar la diversidad genética, abundancia, distribución geográfica, y ciclo

reproductivo de los genotipos de *M. persicae* en los diferentes hospedantes y áreas geográficas del sureste de la península Ibérica, mediante el empleo de microsatélites como marcadores moleculares.

2. Material y métodos.

2.1. Áreas de estudio.

El estudio se ha realizado en el sureste de la península Ibérica, los puntos de muestreo se localizaron en tres áreas pertenecientes a la región de Murcia y a localidades puntuales de las provincias de València, Alicante y Granada (Figura 1). La mayor parte de las muestras provienen del “Campo de Cartagena”; las otras áreas muestreadas de la región de Murcia fueron, las comarcas del Noroeste y el Altiplano, y Águilas.



Figura 1. Distribución geográfica de los puntos de muestreo.

2.2. Metodología de muestreo.

Los muestreos se realizaron durante cuatro años desde 2005 a 2008, la metodología de recolección de muestras empleada fue la misma descrita en el precedente capítulo, con ligeras

variaciones. Los muestreos de *M. persicae* se realizaron en el hospedante primario *Prunus* spp. (melocotonero y almendro) y en los hospedantes secundarios, generalmente durante los meses primaverales. Las especies de plantas de donde provenían las muestras de *M. persicae* se detallan en el capítulo I (Tabla 1) y se agruparon en tres categorías: Cultivo de pimiento en invernadero, hospedantes secundarios (plantas adventicias y cultivos herbáceos al aire libre) y hospedante primario (*Prunus* spp.).

Cada localidad de muestreo se georeferenció con la ayuda de un GPS. En cada localidad, las muestras de áfidos recolectadas en pimiento en invernadero y en las distintas especies de plantas del entorno del cultivo se introdujeron por separado en contenedores de plástico. Las muestras se llevaron al laboratorio en neveras refrigeradas donde se introdujeron en viales de 4ml con etanol absoluto. Todos los viales se etiquetaron con las características de la muestra: planta, localidad, color del áfido, fecha y recolector. Todos estos datos se introdujeron en una base de datos para su trazabilidad y manejo de la información. La identificación de *M. persicae* se realizó mediante la observación bajo la lupa binocular de acuerdo con las claves de identificación de pulgones de cultivos de Blackman y Eastop (2000).

2.3. Extracción ADN, amplificación de microsatélites y cálculo diversidad genotípica.

El ADN fue extraído usando el método “Quelex 100 chelating ion Exchange resin” (Malloch et al. 2006). Se seleccionaron ocho loci de microsatélites para el genotipado de hembras ápteras adultas de *M. persicae*: M86, Myz25, Myz9, M49, M63, M37, M40 y M35 (Sloane et al. 2001, Wilson et al. 2004). Se analizaron dos individuos de *M. persicae* de cada una de las plantas de las especies muestreadas en cada localidad. Las reacciones para la amplificación de microsatélites mediante la técnica de la “polimerase chain reaction” (PCR) se prepararon usando 2 µl de aproximadamente 0,5 ng/µl de ADN genómico, 0,5 µM de cada

cebador, 0,2 μ M de dNTPs, 10 mM Tris HCl (pH 8,8), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,01% de Tween y 0,5 U de ADN polimerasa (DFS-Taq ADN polimerasa, Bioron GmbH, Ludwigshafen, Alemania), en un volumen total de 20 μ l. Los cebadores directos estaban marcados en el extremo 5' con alguno de los siguientes fluoróforos 6-FAM, VIC, NED o PET. La PCR se realizó en un Eppendorf Mastercycler EPgradient (Eppendorf AG, Hamburg, Alemania) en las siguientes condiciones: 2 min a 94°C seguido por 36 ciclos de 15 s a 94°C, 30 s a 61°C y 30 s a 72°C, para concluir con 10 min de incubación a 72°C. El análisis de los fragmentos amplificados mediante PCR se realizó en un AB3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California – USA) usando LIZ500 como marcador de tamaño (Applied Biosystems). La determinación del tamaño de los fragmentos se realizó manualmente con la ayuda del programa Peak Scanner™ v1.0 (Applied Biosystems).

Para cada genotipo de *M. persicae* se calcularon las frecuencias por hospedante, área y año. La diversidad genotípica se calculó mediante la función $D = G/N$ en la que “G” es el número de diferentes genotipos en una muestra y “N” el tamaño de la muestra. Además se calculó el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H) $\left(H = - \sum_{i=1}^k p_i \ln p_i \right)$ donde “p_i” es la frecuencia relativa del clon i y k es el número total de clones. Las diversidades clonales se compararon con un modelo lineal general del análisis de la varianza (GLM-ANOVA), en el que se transformó la variable dependiente diversidad genotípica mediante logaritmo natural [Ln(x+1)] y se introdujeron como factores la zona (litoral y continental) y el hospedante (plantas adventicias, pimiento y hospedante primario) como factores. Los análisis se realizaron mediante el programa estadístico R v. 2.15.2 (R Core Team 2012).

2.4. Determinación del ciclo reproductivo de clones de *Myzus persicae*.

De las muestras de campo llevadas al laboratorio se tomaba una hembra que se dejaba

reproducir en una planta de pimiento, para luego someter su descendencia a condiciones de fotoperiodo corto (10 horas de luz y 14 horas de oscuridad) y temperatura de 15°C. La descendencia de la hembra partenogenética se dejó reproducir durante tres meses en una planta de pimiento, dentro de un bastidor en una cámara climática. Cada semana se contabilizaron las hembras partenogenéticas y las formas sexuadas (machos y hembras). Al cabo de los tres meses los clones se catalogaron en base a las formas obtenidas a partir de la segunda generación según las siguientes categorías: Anholocíclicos (presencia de hembras partenogenéticas), Androcíclicos (presencia de hembras partenogenéticas y machos), Holocíclicos (formas sexuadas machos y hembras) e Intermedios (hembras partenogenéticas, y formas sexuadas).

3. Resultados.

3.1. Genotipado de *Myzus persicae* y su distribución geográfica, temporal y por tipo de hospedante.

Se analizaron un total de 1.025 muestras de *M. persicae* de 97 localidades (Figura 1), situadas en 4 provincias de la península Ibérica y recolectadas en 27 especies de plantas pertenecientes a 8 familias botánicas. Se identificaron un total de 323 genotipos diferentes. Todos los individuos con alelos del mismo tamaño en los 8 loci se consideraron como pertenecientes a un mismo clon. En el fragmento M86 se encontraron 22 alelos de diferentes tamaños (rango: 90 - 143 pares de bases (pb)), 12 alelos en el myz25 (114 - 143 pb), 27 alelos en el myz9 (193 - 229 pb), 34 alelos en el M49 (114 - 197 pb), 15 alelos en el M63 (160 - 193 pb), 16 alelos en el M37 (146 - 164 pb), 12 alelos en el M40 (111 - 144 bp) y 12 alelos en el M35 (161 - 201 pb).

Clon	Frecuencia	M86		Myz25		Myz9		M49		M63		M37		M40		M35	
		Al 1	Al 2	Al 1	Al 2	Al 1	Al 2	Al 1	Al 2	Al 1	Al 2	Al 1	Al 2	Al 1	Al 2	Al 1	Al 2
1	141	092	108	115	117	195	209	114	152	170	187	160	160	121	132	178	182
2	43	092	108	115	117	195	209	114	152	173	187	160	160	121	132	178	182
3	37	096	117	115	119	201	205	120	165	179	181	154	160	115	134	193	193
5	11	090	108	115	119	195	195	135	135	177	185	160	160	126	134	182	189
6	10	106	108	117	141	195	195	114	163	175	177	154	160	132	132	182	189
10	8	129	133	115	141	207	224	114	163	170	170	160	162	126	132	178	182
17	5	100	129	115	117	201	216	161	161	168	168	150	160	121	132	182	191
22	3	096	117	115	119	201	205	120	163	179	179	154	160	115	134	193	193
34	2	108	129	117	119	195	222	135	148	170	187	154	160	121	123	182	191

Tabla 1. Frecuencias y tamaños de los alelos (pb) en los clones plurianuales de *Myzus persicae*.

De los 323 genotipos, 37 se encontraron en más de una ocasión, en uno o más años, y 286 se encontraron en tan solo una ocasión (genotipos únicos). La mayoría de los clones repetidos, se hallaron tan solo en un año: 16 en 2005, uno en 2006, cuatro en 2007 y seis en 2008. Solamente 9 de los 37 clones que se encontraron en más de una ocasión se repitieron a lo largo de los años (clones 1, 2, 3, 5, 6, 10, 17, 22 y 34) (Tabla 1). El genotipo más abundante (clon 1) se encontró en 141 ocasiones, seguido por los clones 2 y 3 con 43 y 37 ocasiones, respectivamente. El clon 2 difiere del 1 en tan solo un alelo del microsatélite M63. Los demás clones plurianuales se encontraron en menos de 20 ocasiones.

Los 323 genotipos se agruparon en tres categorías, atendiendo a su repetición a lo largo del tiempo y del espacio: (1) clones únicos, aquellos que se encontraron en tan solo una ocasión a lo largo de los cuatro años de muestreo (286 genotipos); (2) clones plurianuales-permanentes, aquellos que se detectaron en más de un año (9 genotipos, Tabla 1); (3) clones locales, aquellos que se repitieron en más de una ocasión en un mismo año y en lugares diferentes (28 genotipos). Los clones únicos representaron el 42,47% del total de individuos genotipados, los clones plurianuales un 38,60% y los clones locales un 18,93% del total.

Dentro de los clones plurianuales, el clon 1 presentó una amplia distribución geográfica,

habiéndose encontrado en 47 localidades de todas las áreas muestreadas, desde la Alpujarra de Granada hasta l'Horta de València. El clon 2 se encontró en 22 localidades, la mayoría del área del Campo de Cartagena. El clon 3 se encontró en 12 localidades del Campo de Cartagena, Águilas y el Noroeste. Los otros 6 clones plurianuales se encontraron todos ellos en el Campo de Cartagena excepto el clon 34. Los clones 5 y 10 se encontraron en al menos otra zona además del Campo de Cartagena y el 34 en Granada y l'Horta de València.

En relación a la distribución anual y geográfica por tipo de hospedante (Figura 2), en líneas generales se observa que los clones plurianuales tienen proporciones similares en el cultivo del pimiento y en las plantas adventicias, mientras que los clones únicos predominan en el hospedante primario. Entre los clones plurianuales, los clones 1 y 2 representan en todos los tipos de hospedantes según el año, entre un 70 y un 100% del total de clones plurianuales (Figura 2). En el caso del Campo de Cartagena, la frecuencia de los clones plurianuales durante los cuatro años de muestreo osciló entre el 48,48% y el 100% en el cultivo del pimiento, y entre el 38,30% y el 73,61% en plantas adventicias (Figura 2). En el área del Noroeste de Murcia la proporción de clones plurianuales fue ligeramente inferior a la observada para el Campo de Cartagena, oscilando entre el 12,50% y el 33,33% en los diferentes años (Figura 2). La proporción de clones plurianuales en plantas adventicias en otras áreas de muestreo fue del 16,67% en València, del 50% en Alicante, entre el 10,53% y el 50% en Águilas, y del 60% en Granada (Figura 2). En todas las áreas muestreadas, en el hospedante primario, predominaron los clones únicos con valores del 100% en Águilas, València, Murcia y la comarca del Altiplano, y del 90% en el Campo de Cartagena y la comarca del Noroeste (Figura 2). Con la excepción del año 2007, donde el número de muestras fue bajo, los clones locales del Campo de Cartagena oscilaron entre un 5,56% y un 28,19% en plantas adventicias, entre un 21,21% y un 28,77% en pimiento y entre un 3,23% y un 5,88% en hospedante primario (Figura 2). La proporción de

clones locales en plantas adventicias en otros lugares fue de 16,67% en València, de 18,75% en la comarca del Noroeste y del 21,05% en Águilas (Figura 2). La proporción de clones locales en hospedante primario en la comarca del Noroeste osciló entre el 7,69% y el 11,76% (Figura 2).

En lo referente a la distribución de estos clones en las diferentes familias botánicas se observó que los clones plurianuales se encuentran mayoritariamente en familias de plantas herbáceas con proporciones medias superiores al 30% (Figura 3). En el Campo de Cartagena los clones plurianuales se encontraron en proporciones que van del 37,50% en Plantaginaceae al 75% en Urticaceae (Figura 3). En las Rosaceae la proporción de clones plurianuales fue del 7,84% en el Campo de Cartagena y del 2,94% en la comarca del Noroeste, mientras que en el Altiplano, Murcia, Águilas y la Costera no se hallaron (Figura 3). En el Campo de Cartagena los clones locales se encontraron en proporciones inferiores a los clones plurianuales, entre un 8% y un 40% para todas las familias, con la excepción de las Plantaginaceae (55%) (Figura 3). En los demás puntos de muestreo los clones locales oscilaron entre el 8,82% en Rosaceae en el Noroeste y el 20% en Malvaceae en Águilas y València (Figura 3). Los clones únicos abundaron especialmente en la familia de las Rosaceae con proporciones del 84,31% y 88,24% en el Campo de Cartagena y Noroeste respectivamente (Figura 3). En las áreas de València, Altiplano y Águilas la totalidad de clones encontrados en Rosaceae fueron únicos. El Clon 1, se encontró en todas las familias muestreadas del Campo de Cartagena, en Malvaceae en Águilas y València, en Solanaceae en Águilas, Alicante y Granada, y en Brassicaceae en el Noroeste (Figura 3). El Clon 2 se encontró presente en la mayoría de las familias muestreadas en el Campo de Cartagena, con la excepción de las Rosaceae, Convolvulaceae y Urticaceae; este clon si que se encontró en el Noroeste en Convolvulaceae (Figura 3). El Clon 3 se halló en el Campo de Cartagena en Chenopodiaceae, Malvaceae, Solanaceae, Urticaceae y Brassicaceae; en el Noroeste se encontró en Solanaceae y Brassicaceae y en Águilas en Malvaceae (Figura 3).

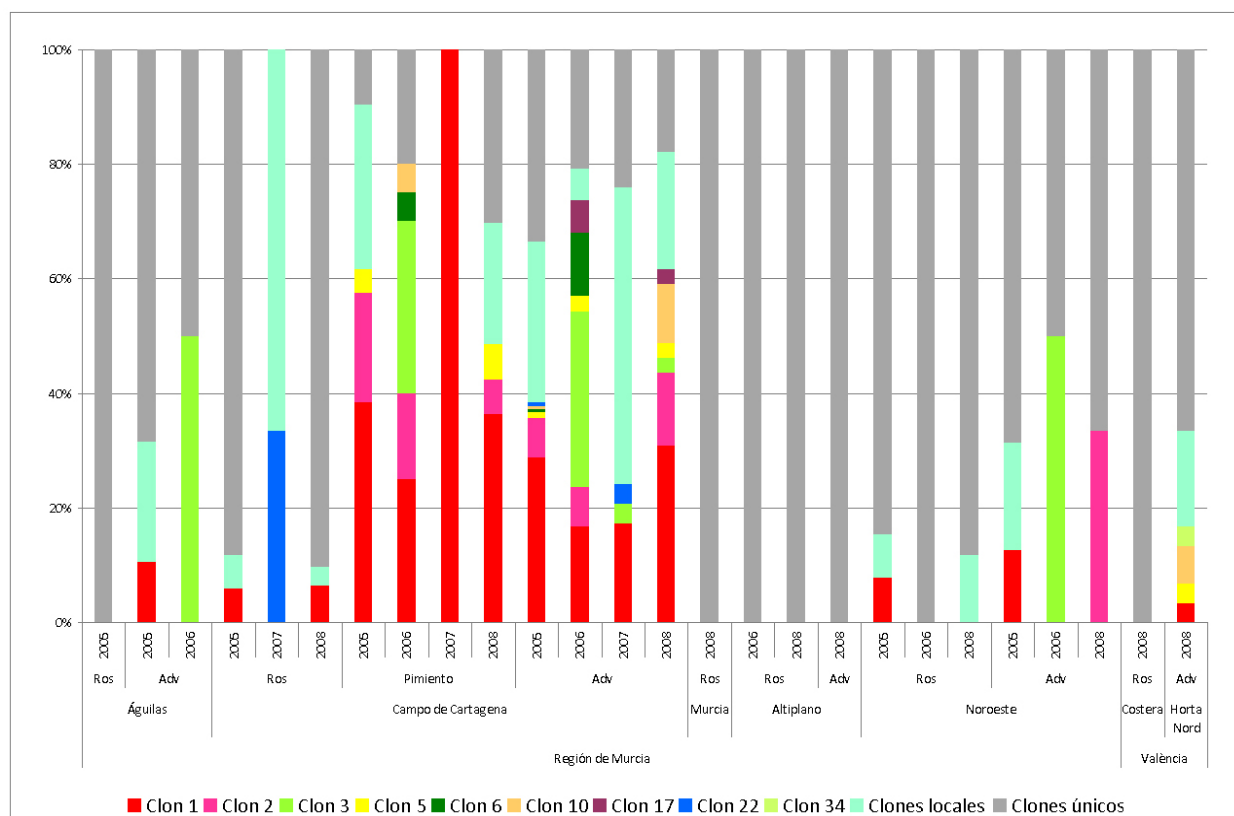


Figura 2. Distribución anual y geográfica de diferentes genotipos de *Myzus persicae* en cultivo de pimiento, plantas adventicias (Adv) y hospedante primario (Ros).

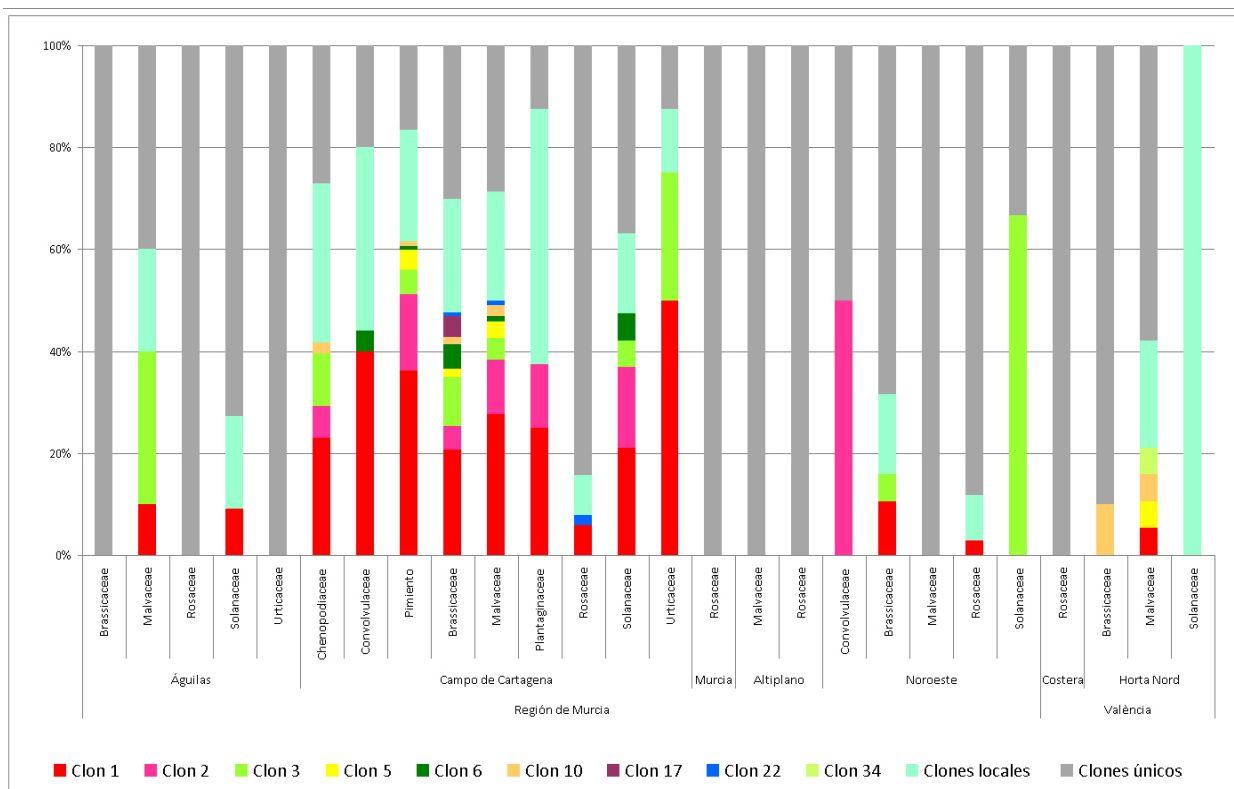


Figura 3. Distribución geográfica de diferentes genotipos de *Myzus persicae* en las familias botánicas.

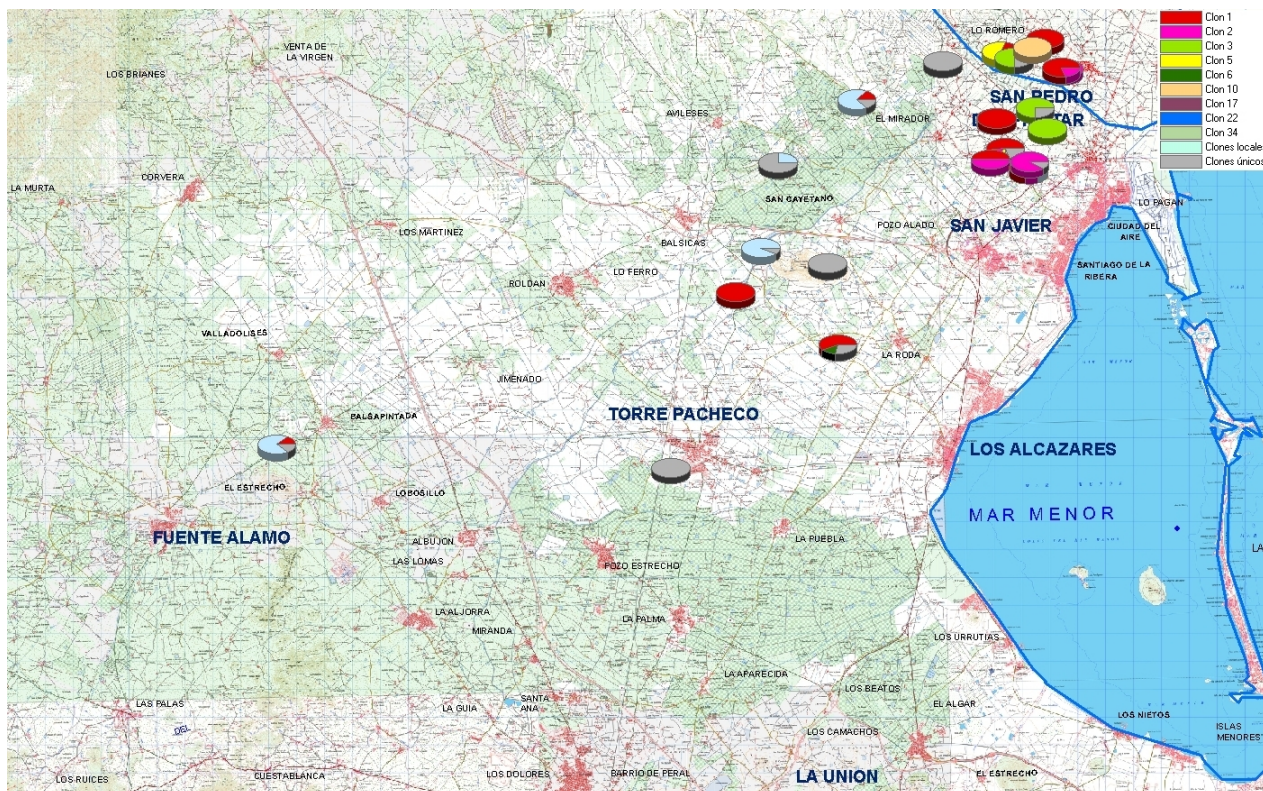


Figura 4. Distribución geográfica de los genotipos plurianuales, locales y únicos de *Myzus persicae* en el cultivo del pimientero durante los cuatro años de muestro en el “Campo de Cartagena”.

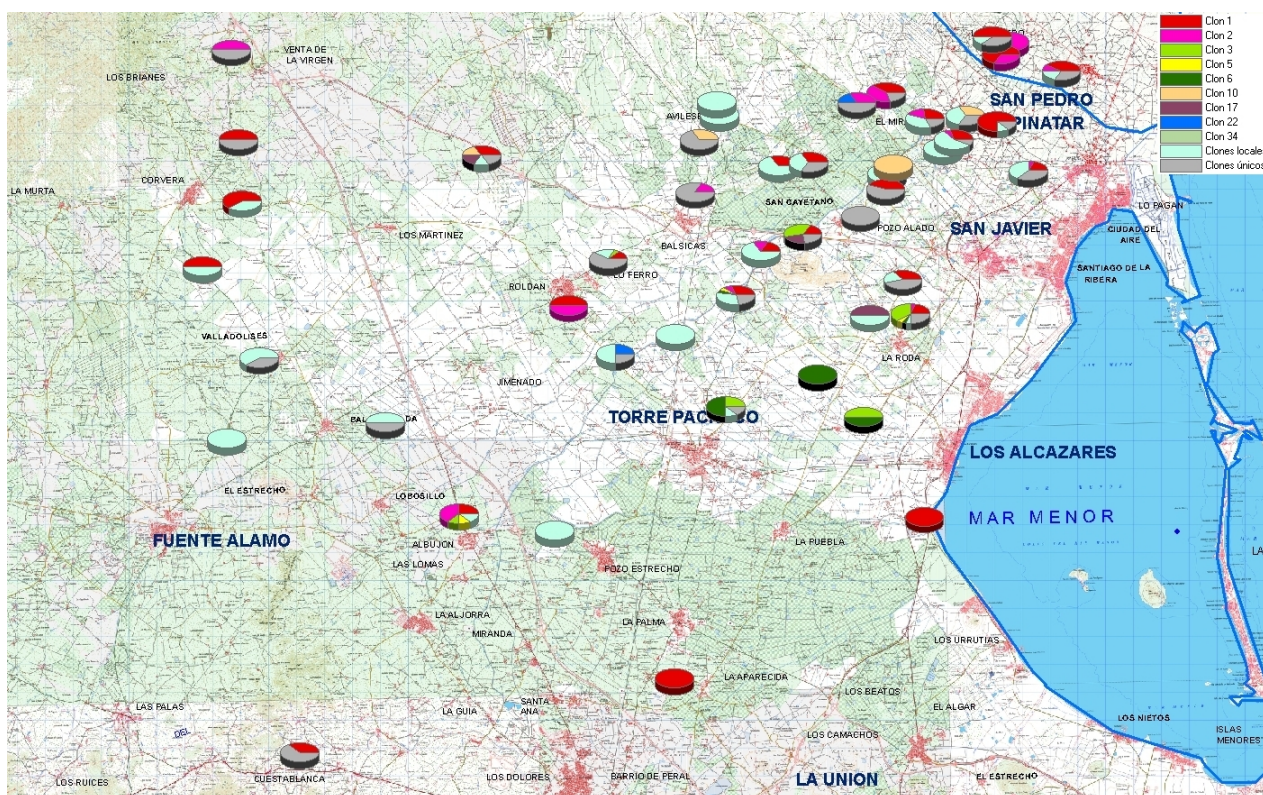


Figura 5. Distribución geográfica de los genotipos plurianuales, locales y únicos de *Myzus persicae* en las plantas adventicias durante los cuatro años de muestro en el “Campo de Cartagena”.

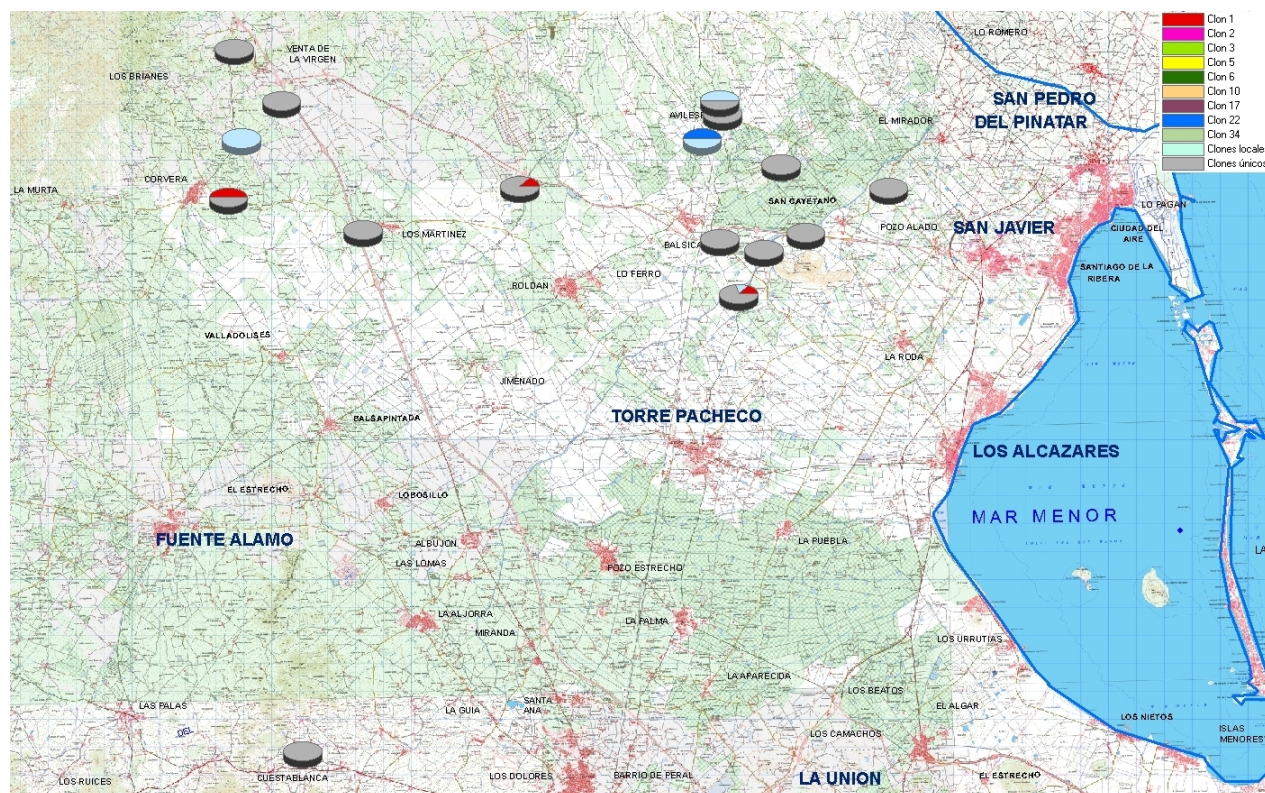


Figura 6. Distribución geográfica de los genotipos plurianuales, locales y únicos de *Myzus persicae* en el hospedante primario durante los cuatro años de muestro en el “Campo de Cartagena”.

La distribución geográfica de los clones en el área del Campo de Cartagena en cada tipo de hospedante se muestra en las Figuras 4, 5 y 6. En el cultivo de pimiento (Figura 4) los clones plurianuales fueron mayoritarios, siendo los clones 1 y 2 los que están más distribuidos en toda el área de cultivo. En las plantas adventicias los clones plurianuales fueron mayoritarios en las zonas donde abunda el cultivo de pimiento (Figura 5), mientras que los locales fueron mayoritarios en los puntos en los que no había próximo el cultivo del pimiento en invernadero, también en estas plantas los clones 1 y 2 muestran una amplia distribución. Por último, en el hospedante primario predominan los clones únicos en todo el Campo de Cartagena (Figura 6).

3.2. Diversidad de las poblaciones de *Myzus persicae*.

La diversidad de las poblaciones de *M. persicae* varió en función del tipo de hospedante y de la zona. En el hospedante primario se encontraron 123 genotipos en 195 muestras, en el cultivo de pimiento 38 en 223 muestras y en las plantas adventicias 211 en 607 muestras (Tabla 2). En la zona litoral se encontraron 273 genotipos en 872 muestras, mientras que en la zona continental se encontraron 99 en 153 muestras (Tabla 2). En el Campo de Cartagena se observó por lo general una mayor diversidad genética en el hospedante primario y plantas adventicias que en el cultivo de pimiento. Mientras que en las comarcas de la región de Murcia del Noroeste y del Altiplano la diversidad en el hospedante primario fue superior a la de las plantas adventicias. En el Campo de Cartagena los índices de Shannon-Wiener en los diferentes años muestreados oscilaron entre 2,55 y 3,33 (índice diversidad genotípica “D”=0,59 - 0,70) en el hospedante primario, entre 1,73 y 1,90 (D=0,11 - 0,26) en el cultivo del pimiento y entre 2,15 y 3,32 (D=0,16 - 0,37) en plantas adventicias (Tabla 2). En la comarca del Noroeste en el hospedante primario se obtuvieron unos índices de Shannon-Wiener entre 2,15 y 2,65 (D=0,52 - 0,72) y en plantas adventicias entre 1,05 y 2,18 (D = 0,57 a 0,60) (Tabla 2). Los índices de diversidad para plantas adventicias en las áreas de Águilas y de l'Horta de València de 2,76 y 3,11 (D=0,85 y 0,70) respectivamente, fueron similares a los del Campo de Cartagena y superiores a los de Granada de 0,88 (D=0,37) (Tabla 2). Se encontraron diferencias significativas en la diversidad genotípica entre tipos de hospedantes (F=3,474; g.l.=2, 22; P<0,05) y área geográfica (F=4,691; g.l.=1, 22; P<0,05), siendo mayor la diversidad genotípica en las zonas continentales que en las litorales. La interacción entre ambos factores no fue significativa (F=0,136; g.l.=1, 22; P=0,716).

Hospedante	Área	Zona	Año	Nº Genotipos	Nº Individuos	Diversidad Genotípica	Índice de Shannon
Plantas Adventicias	Águilas	litoral	2005	17	20	0,85	2,76
			2006	4	8	0,50	1,21
	Alicante	litoral	2005	2	3	0,67	0,64
	Granada	continental	2006	4	11	0,36	0,89
	Altiplano	continental	2008	4	4	1,00	1,39
	Campo de Cartagena	litoral	2005	82	221	0,37	3,32
			2006	23	114	0,20	2,16
			2007	14	86	0,16	2,24
			2008	15	70	0,21	2,19
	Horta Nord	litoral	2008	26	37	0,70	3,12
	Noroeste	continental	2005	13	21	0,62	2,19
			2006	4	7	0,57	1,15
			2008	3	5	0,60	1,05
Cultivo de Pimiento	Campo de Cartagena	litoral	2005	14	122	0,11	1,73
			2006	9	46	0,20	1,84
			2007	1	2	0,50	0,00
			2008	14	53	0,26	1,91
Hospedante Primario	Águilas	litoral	2005	2	10	0,20	0,33
			2006	2	4	0,50	0,69
	Altiplano	continental	2006	2	4	0,50	0,69
			2008	19	22	0,86	2,90
	Campo de Cartagena	litoral	2005	17	29	0,59	2,55
			2007	3	8	0,38	0,97
			2008	30	43	0,70	3,33
	Costera	continental	2008	8	8	1,00	2,08
	Murcia	litoral	2008	9	15	0,60	2,15
			2005	13	25	0,52	2,15
2006			4	9	0,44	1,00	
Noroeste	continental	2008	16	22	0,73	2,65	

Tabla 2. Índices de diversidad genotípica e índices de Shannon-Wiener de las poblaciones de *Myzus persicae*.

3.3. Ciclos reproductivos de los clones de *Myzus persicae* y coloración.

Se pudo determinar con éxito el ciclo reproductivo de 40 clones recolectados en su mayoría en el Campo de Cartagena (30), la provincia de València (6), la comarca del Noroeste

(3) y de Murcia (1). De estos el 71,15% fueron anholocíclicos, el 16,72% androcíclicos y el 12,13% holocíclicos. De los 7 clones plurianuales en los que se determinó el tipo de ciclo reproductivo, 4 fueron anholocíclicos (1, 2, 6 y 10) y 3 androcíclicos (3, 5 y 22). Entre los clones locales se determinó el ciclo en 6 de los 28 clones, 3 de ellos fueron anholocíclicos y los otros 3 holocíclicos. De los 27 clones únicos analizados, 6 resultaron anholocíclicos y 21 holocíclicos.

En lo referente a la coloración de los clones, el 87,59% de las muestras del clon 1, el 75,61% de las del clon 2 y el 100% de las del clon 10 fueron de color rojo, mientras que el 70,27% de las del clon 3, el 90,91% de las del clon 5 y el 100% de los clones 6 y 22 fueron de color verde (Figura 7). La mayoría de los clones holocíclicos (91,89%) y androcíclicos (76,47%) tuvo coloración verde, mientras que en los clones anholocíclicos el 91,89% presentó coloración roja. Entre los clones plurianuales anholocíclicos únicamente el clon 6 presentó coloración verde (Figura 7).

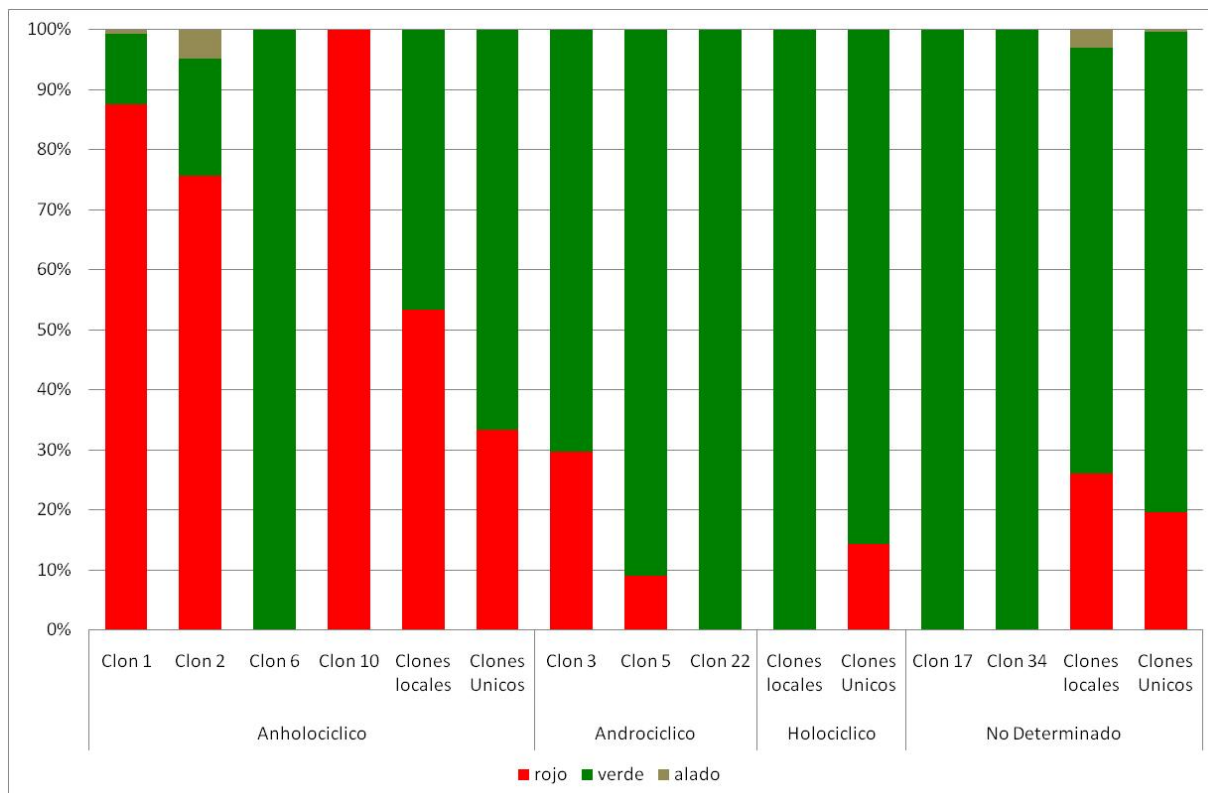


Figura 7. Ciclos reproductivos de los clones de *Myzus persicae* y color de los individuos analizados.

4. Discusión.

4.1. Distribución geográfica, temporal y por tipo de hospedante de clones de *Myzus persicae*.

En las áreas estudiadas del sureste de la península Ibérica y en los tipos de hospedantes muestreados (pimiento, hospedante primario y plantas adventicias), se han encontrado diferentes genotipos de *M. persicae*, que por su dispersión espacio temporal se categorizan en clones plurianuales, locales y únicos. La composición y frecuencia de clones fue similar en el cultivo de pimiento y en las plantas adventicias, mientras que entre el hospedante primario y los otros tipos de hospedante fue diferente. Se han detectado genotipos que por su abundancia y distribución a lo largo de la geografía, pueden considerarse como “superclones”.

Comparando la frecuencia de los distintos genotipos de *M. persicae* en el hospedante primario y en los hospedantes secundarios (plantas adventicias y pimiento), se observa que hay una mayor similitud entre las plantas adventicias y el cultivo de pimiento que entre adventicias y el hospedante primario. Muchos de los clones encontrados en plantas adventicias, se hallaron en el cultivo de pimiento, lo que supone un indicio de que la principal fuente de infestación de *M. persicae* en pimiento proviene de las plantas adventicias del entorno de los invernaderos. Otros autores observaron algo similar en el cultivo de tabaco en Grecia, donde la mayor parte de los genotipos de *M. persicae* presentes en el cultivo se encontraron también en otras plantas herbáceas (Blackman et al. 2007, Margaritopoulos et al. 2007). Sin embargo se observa que hay clones hallados en el hospedante primario que también se encuentran, aunque en menor medida, en los hospedantes secundarios. Entre los hospedantes secundarios y los hospedantes primarios hay un flujo de individuos, posiblemente en otoño y a comienzos de la primavera. Estos flujos genéticos se deberían estudiar con más detalle, ya que el otoñal representa la migración al hospedante primario de los genotipos, que han llegado con éxito al final del ciclo, mientras el primaveral representa la aportación de nuevos genotipos al hospedante secundario tras la

reproducción sexual.

Bajo la denominación de clones plurianuales se englobaron los clones hallados en más de un año y en más de una localidad; este tipo de clones fueron mayoritarios en las plantas adventicias y en el pimiento, además se encontraron en mayor o menor proporción en la mayor parte de las áreas muestreadas. La abundancia de este tipo de clones en los hospedantes secundarios fue observada también en Grecia por Blackman et al. (2007). No hay evidencia de que los distintos clones plurianuales tengan preferencia por un determinado tipo de hospedante o familia botánica, ya que se encuentran distribuidos en similares frecuencias entre todas las familias botánicas muestreadas. La falta de preferencia de los clones por un tipo de hospedante, coincide con los resultados obtenidos en Australia y Grecia por Vorburger, Lancaster, et al. (2003) y Blackman et al. (2007). En cambio en otros áfidos como *Sitobion avenae* (Fabricius) (Hemiptera: Aphididae) (Sunnucks et al. 1997, Figueroa et al. 2005) o *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae) (Peccoud et al. 2008) si se ha detectado una cierta especialización de un clon en concreto por un hospedante. Entre los clones plurianuales existen unos genotipos muy abundantes, con una amplia distribución geográfica y con una amplia polifagia, a los que se les ha asignado la denominación de “superclón”, denominación que ya ha sido usada en otros lugares donde han sido detectados. En el caso de *M. persicae* se han descrito por Fenton et al. (1998), Vorburger, Lancaster, et al. (2003), Zamoum et al. (2005), Blackman et al. (2007), Margaritopoulos et al. (2007) y Zepeda-Paulo et al. (2010), para *A. pisum* por Peccoud y Simon (2010), para *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) por Fuller et al. (1999), para *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae) por Gilabert et al. (2009) y para *S. avenae* por Sunnucks et al. (1996), Wilson et al. (1999), Haack et al. (2000), Llewellyn et al. (2003) y Figueroa et al. (2005). En nuestro caso parece que los clones 1, 2 y 3 cumplen los requisitos para tal denominación; entre estos el clon 1 es el más abundante y ampliamente

distribuido en todas las zonas estudiadas en el sureste de la península Ibérica. La amplia distribución geográfica y la abundancia de estos clones podría ser debida a diferentes motivos, como por ejemplo, el haber desarrollado resistencia a determinados insecticidas usados reiteradamente. No obstante, la resistencia a insecticidas en “superclones” no es una característica inequívoca, habiéndose observado entre los mismos, tanto sensibles como resistentes a insecticidas (Fenton et al. 1998, Zamoum et al. 2005). Otra posible causa podría ser la mejor tolerancia a temperaturas bajas: Vorburger (2004) encontró cierta variación entre genotipos en su sensibilidad a las bajas temperaturas, pero no encontró una mayor supervivencia al frío en los clones mayoritarios, por lo que el factor temperatura no parecía ser el atributo responsable de su éxito. Otro posible factor responsable de la abundancia y distribución de los “superclones” podría ser que apresten una menor vulnerabilidad frente al ataque de parasitoides. En este sentido se ha observado que determinados genotipos de *M. persicae* presentan baja vulnerabilidad a parasitoides (Herzog et al. 2007, von Burg et al. 2008, Gillespie et al. 2009), que podría dar lugar a la selección de determinados clones. Otro factor causante podría ser las mejores tasas de reproducción que algunos genotipos mayoritarios presentan respecto a los genotipos menos frecuentes (Foster et al. 2003, Gillespie et al. 2009). Por último cabe señalar que se ha observado una relación inversa entre la resistencia a insecticidas y la respuesta a feromonas de alarma, tasas de desarrollo, fecundidad y movilidad de los clones mayoritarios (Foster et al. 1997, 1999, 2000, 2005), por lo que la abundancia de estos clones mayoritarios podría deberse a la combinación de diferentes factores.

4.2. Diversidad de las poblaciones de *Myzus persicae*.

En las áreas muestreadas del sureste de la península Ibérica, se detectaron 323 genotipos diferentes de *M. persicae* entre los 1.025 individuos analizados. La diversidad genotípica está

influenciada por el tipo de hospedante y por la zona. El hospedante primario presentó los índices de diversidad más altos seguido de las plantas adventicias y del cultivo de pimiento. En la zona continental la diversidad genotípica fue mayor que en la zona litoral. Dentro del hospedante primario hay poca variación entre las áreas estudiadas, no observándose prácticamente diferencias entre las zonas de interior del Altiplano, Noroeste y la Costera respecto al Campo de Cartagena (zona litoral). En las plantas adventicias, las zonas continentales poseen índices de diversidad superiores a los del Campo de Cartagena (zona litoral). Estas diferencias, probablemente estarían asociadas a las bajas temperaturas de los meses invernales en las zonas continentales, que podrían estar reduciendo las poblaciones de genotipos partenogénicos obligados en hospedantes secundarios. Las pequeñas variaciones en la diversidad genotípica entre los puntos de muestreo de la zona continental y de la zona litoral corresponden en cierta manera a lo que Blackman (1974) hipotetizó en cuanto a la abundancia de poblaciones partenogénicas cíclicas (Holocíclica) en climas fríos y a la frecuencia de clones/genotipos con reproducción partenogénica obligada (Anholocíclicas) en regiones con climas templados. Los valores de diversidad en el hospedante primario fueron menores que los obtenidos en la zona litoral francesa en melocotonero [*Prunus persica* (L.) Batsch (Rosaceae)] en la que se encontraron 63 genotipos en 64 individuos (Guillemaud et al. 2003). En hospedante secundario (pimiento y plantas adventicias) los valores de diversidad aquí obtenidos son similares a los encontrados en el sur de Australia en el que se hallaron 73 genotipos en 167 linajes analizados (Vorburger, Lancaster, et al. 2003) e inferiores a los obtenidos en diferentes trampas de succión de diferentes puntos de Francia, donde se encontraron 115 genotipos en 173 individuos (Guillemaud et al. 2003). Esta diferencia observada en las trampas de succión podría ser debida a que estas trampas no discriminan entre áfidos procedentes de hospedante secundario y primario. Las diferencias entre hospedantes también fue descrita en Grecia y en el sur de Italia, donde la mayoría de clones procedentes de melocotonero pertenecía a

los clones minoritarios, mientras que en los cultivos y plantas adventicias, la mayoría de clones pertenecía a los clones más comunes (Blackman et al. 2007, Margaritopoulos et al. 2007). Las diversidades genotípicas obtenidas en todos los tipos de hospedante fueron muy superiores a las encontradas en Escocia donde se encontraron 21 genotipos en 1.497 individuos procedentes de trampas de succión (Kasprowicz et al. 2008). Este dato de poca diversidad en Escocia, con un clima más frío que el del sureste de la península Ibérica, no respaldaría la hipótesis de que en latitudes más septentrionales existen más formas partenogénicas cíclicas. Fenton et al. (1998), explica que el hospedante primario de *M. persicae* en Escocia es bastante raro y que las poblaciones pasan el invierno en forma asexual en cultivos de Brassicaceae y en plantas adventicias, pese a las bajas temperaturas invernales. La diferencia en la diversidad genotípica detectada aquí entre los puntos de la zona litoral y la continental, también se ha observado en el sur de Australia entre las muestras procedentes del hospedante secundario de la costa y del interior (Vorburger, Lancaster, et al. 2003). Estos autores detectaron 36 genotipos en 43 individuos en la zona continental y 58 genotipos en 124 individuos en la zona litoral del sur de Australia, valores similares a los encontrados en este trabajo.

4.3. Ciclos reproductivos y coloración de los clones de *Myzus persicae*.

Se detectaron tres tipos de ciclos reproductivos en los clones analizados, la mayoría de ellos presentó el ciclo anholocíclico (71,15%), mientras que minoritarios fueron el androcíclico (16,72%) y el holocíclico (12,13%). Entre los clones plurianuales la mayoría fueron anholocíclicos, entre los clones locales, la mitad fueron anholocíclicos y la otra holocíclicos, y entre los clones únicos la mayoría fueron holocíclicos. En cuanto a la coloración la mayoría de clones anholocíclicos presentó coloración roja, mientras que los androcíclicos y holocíclicos presentaron coloración verde.

Atendiendo a la proporción de los distintos grupos de clones en cada tipo de hospedante y al tipo de ciclo reproductivo mayoritario en cada uno de ellos se puede afirmar que en el hospedante primario, donde abundan los clones únicos, el ciclo holocíclico es el más frecuente, mientras que en el hospedante secundario, donde abundan los clones plurianuales el ciclo anholocíclico es el más habitual. Estas observaciones son similares a las realizadas por Margaritopoulos et al. (2002, 2007) y Blackman et al. (2007) en Grecia, donde el 94% de los clones hallados en melocotonero fueron holocíclicos, mientras que en los hospedantes secundarios, la mayoría fueron anholocíclicos, androcíclicos e intermedios. En cambio, en este trabajo los clones anholocíclicos fueron los mayoritarios, mientras que en el sur de Australia y en Grecia, los más abundantes fueron los androcíclicos y los holocíclicos, en función de la localidad y el hospedante (Margaritopoulos et al. 2002, Vorburger, Lancaster, et al. 2003). En el sureste de la península Ibérica se ha encontrado una mayor proporción de clones únicos, y por ende de formas holocíclicas, en la zona continental, y una mayor proporción de clones plurianuales, y por lo tanto de formas anholocíclicas, en la zona litoral. Esta observación también es detectada por Vorburger, Lancaster, et al. (2003) entre las zonas costeras y de interior del sur de Australia, así como entre el norte y sur de Grecia (Blackman et al. 2007); según estos autores esto era debido a las temperaturas más frías y a la disponibilidad de hospedante primario en las localidades del interior y septentrionales. Las observaciones aquí realizadas y las detectadas por (Vorburger, Lancaster, et al. 2003 y Blackman et al. (2007) concuerdan con la hipótesis climática de Blackman (1974), sobre la coexistencia de ciclos de vida en la zona medio-templada. Esta convivencia entre clones con partenogénesis cíclica y obligada confirma los modelos matemáticos de coexistencia de ciclos en áfidos de Risper y Pierre (1998) y Risper et al. (1998) que ya se ha observado además, en otros áfidos como *S. avenae* (Dedryver et al. 2001) o *R. padi* (Gilabert et al. 2009). Para tratar de explicar la abundancia y coexistencia de formas partenogenéticas cíclicas y partenogenéticas

obligadas en una población, se han esbozado dos hipótesis, la “General Purpose Genotype (GPG) y la “Frozen Niche Variation” (FNV). La GPG considera que entre los clones disponibles para la selección, las variaciones ambientales temporalmente favorecen la supervivencia de aquellos con una alta tolerancia ambiental y por lo tanto un rendimiento alto en diferentes ambientes (Lynch 1984). La FNV hipotetiza que los clones que se originan de progenitores sexuales fijan y replican una pequeña cantidad de la variabilidad presente en la población sexual, por lo que la selección interclonal favorece los clones que tienen pequeños solapamientos en el nicho con otros clones y sus progenitores sexuales (Vrijenhoek 1979, 1984). De acuerdo con ambas hipótesis las formas asexuales serían más abundantes en ambientes periféricos; según la primera hipótesis (GPG), porque tolerarían mejor las condiciones ecológicas de estos ambientes y según la otra hipótesis (FNV) porque los clones adaptados a la periferia escaparían a la competencia de sus progenitores. En nuestro caso, la distribución espacial de las formas asexuales soportaría la hipótesis de tolerancia ecológica en el litoral, por lo que la convivencia de ciclos reproductivos podría deberse a la teoría de la GPG. Futuros análisis basados en el estudio del nicho ecológico, podrían confirmar esta hipótesis como causa generadora de la distribución observada.

La coloración de la mayoría de clones anholocíclicos determinados fue roja, mientras que la de los holocíclicos verde. Dentro de los clones plurianuales la mayoría presentó coloración roja en una alta proporción. Esta observación es consistente con la realizada por Blackman et al. (2007) en la que la mayoría de los clones comunes de *M. persicae* presentaban coloración roja y eran anholocíclicos. Por otro lado Margaritopoulos et al. (2002, 2003) encontraron que en el hospedante primario la mayoría de clones caracterizados presentó coloración verde y ciclo holocíclico, mientras que en el hospedante secundario la coloración verde no fue tan mayoritaria, pero se observó que los clones con coloración roja no eran holocíclicos en su mayoría, al igual que sucede en nuestro caso. Tanto en este estudio como en otros, en líneas generales hay una asociación entre

la coloración de *M. persicae*, su ciclo reproductivo y el tipo de hospedante; asociación observada para este áfido en Japón por Ueda y Takada (1977) y Takada (1986). En otros áfidos también se ha detectado una relación entre coloración y ciclo reproductivo. Se puede citar el caso de *S. avenae* (Dedryver et al. 2001) en el que cada ciclo reproductivo está asociado a un color. La coloración por otro lado también se ha asociado a la resistencia de insecticidas como es el caso en *M. persicae* en Gran Bretaña donde la coloración roja está asociada a MACE (Modified AcetylCholinEsterase) y la verde con la ausencia de esta (Foster et al. 2003).

5. Conclusiones.

En el hospedante primario la mayoría de clones fueron únicos, mientras que en plantas adventicias y pimiento abundaron los plurianuales. No hay evidencias que los clones plurianuales tengan preferencia por un tipo de hospedante o familia botánica. Entre los clones plurianuales se han detectado genotipos que por su abundancia y dispersión a lo largo de la geografía, pueden considerarse como “superclones”. La similitud en la frecuencia de genotipos entre las plantas adventicias y el pimiento nos indica que la principal fuente de infestación del cultivo bajo invernadero son las plantas herbáceas del entorno de estos. La diversidad genotípica analizada en este trabajo está influenciada por el tipo de hospedante y por la zona, siendo mayor en el hospedante primario y en la zona continental. Se han encontrado diferentes genotipos de *M. persicae*, que por su distribución espacio temporal se categorizan en clones plurianuales, locales y únicos. Se han detectado tres tipos de ciclos reproductivos en los clones analizados, en su mayoría anholocíclicos. Los clones únicos presentan en su mayoría el ciclo holocíclico mientras que los plurianuales el anholocíclico. En cuanto a la coloración parece estar relacionada con el tipo de ciclo reproductivo, siendo rojas la mayoría de formas partenogenéticas obligadas y verdes las cíclicas.

6. Referencias bibliográficas.

- Blackman, R. L. 1971.** Variation in the photoperiodic response within natural populations of *Myzus persicae* (Sulz.). *Bulletin of Entomological Research*. 60: 533–546.
- Blackman, R. L. 1972.** The inheritance of life-cycle differences in *Myzus persicae* (Sulz.)(Hem., Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*. 62: 281–294.
- Blackman, R. L. 1974.** Life-cycle variation of *Myzus persicae* (Sulz.)(Hom., Aphididae) in different parts of the world, in relation to genotype and environment. *Bulletin of Entomological Research*. 63: 595–607.
- Blackman, R. L., y V. F. Eastop. 2000.** Aphids on the world's Crops: An Identification and Information Guide, ed. John Wiley & Sons, Chichester (UK).
- Blackman, R. L., G. Malarky, J. T. Margaritopoulos, y J. A. Tsitsipis. 2007.** Distribution of common genotypes of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in Greece, in relation to life cycle and host plant. *Bulletin of Entomological Research*. 97: 253–263.
- Blümel, S. 2004.** Biological Control of Aphids on Vegetable Crops. *In* Heinz, K.M., Driesche, V., Parella, M.P. (eds.), *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, IL, USA, pp. 297–312.
- Von Burg, S., J. Ferrari, C. B. Müller, y C. Vorburger. 2008.** Genetic variation and covariation of susceptibility to parasitoids in the aphid *Myzus persicae*: no evidence for trade-offs. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 275: 1089–1094.
- Buxton, J. H., R. Jacobsen, M. Saynor, R. Stoner, y L. Wardlow. 1990.** An integrated pest management programme for peppers: three years trial experience. *IOBC/WPRS Bulletin*. 13: 45–50.

- Conesa Garcia, C. 1990.** El Campo de Cartagena: Clima e hidrología de un medio semiárido. Edit.um, Murcia (España).
- Dedryver, C. A., M. Hullé, J. F. Le Gallic, M. C. Caillaud, y J. C. Simon. 2001.** Coexistence in space and time of sexual and asexual populations of the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Oecologia*. 128: 379–388.
- Delmotte, F., N. Leterme, J. Bonhomme, C. Rispe, y J. C. Simon. 2001.** Multiple routes to asexuality in an aphid species. *Proceedings of Royal Society of London*. 268: 2291–2299.
- Delmotte, F., N. Leterme, J. P. Gauthier, C. Rispe, y J. C. Simon. 2002.** Genetic architecture of sexual and asexual populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* based on allozyme and microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11: 711–23.
- Delmotte, F., B. Sabater-Muñoz, N. Prunier-Leterme, A. Latorre, P. Sunnucks, C. Rispe, y J. C. Simon. 2003.** Phylogenetic evidence for hybrid origins of asexual lineages in an aphid species. *Evolution*. 57: 1291–303.
- Fenton, B., L. Kasprowicz, G. Malloch, y J. Pickup. 2010.** Reproductive performance of asexual clones of the peach-potato aphid, (*Myzus persicae*, Homoptera: Aphididae), colonising Scotland in relation to host plant and field ecology. *Bulletin of Entomological Research*. 100: 451–460.
- Fenton, B., G. Malloch, S. P. Foster, J. Anstead, I. Denholm, L. King, y J. Pickup. 2005.** The attack of the clones: tracking the movement of insecticide-resistant peach–potato aphids *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*. 95: 483–494.
- Fenton, B., J. A. T. Woodford, y G. Malloch. 1998.** Analysis of clonal diversity of the peach–potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), in Scotland, UK and evidence for the existence of a predominant clone. *Molecular Ecology*. 7: 1475–1487.

- Figuroa, C. C., J. C. Simon, J. F. Le Gallic, N. Prunier-Leterme, L. M. Briones, C. A. Dedryver, y H. M. Niemeyer. 2005.** Genetic structure and clonal diversity of an introduced pest in Chile, the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Heredity*. 95: 24–33.
- Foster, S. P., I. Denholm, y A. L. Devonshire. 2000.** The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the UK. *Crop Protection*. 19: 873–879.
- Foster, S. P., I. Denholm, Z. K. Harling, G. D. Moores, y A. L. Devonshire. 1998.** Intensification of insecticide resistance in UK field populations of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in 1996. *Bulletin of Entomological Research*. 88: 127–130.
- Foster, S. P., I. Denholm, R. Thompson, G. M. Poppy, y W. Powell. 2005.** Reduced response of insecticide-resistant aphids and attraction of parasitoids to aphid alarm pheromone; a potential fitness trade-off. *Bulletin of Entomological Research*. 95: 37–46.
- Foster, S. P., R. Harrington, A. L. Devonshire, I. Denholm, S. J. Clark, y M. A. Mugglestone. 1997.** Evidence for a possible fitness trade-off between insecticide resistance and the low temperature movement that is essential for survival of UK populations of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*. 87: 573–580.
- Foster, S. P., N. B. Kift, J. Baverstock, S. Sime, K. Reynolds, J. E. Jones, R. Thompson, y G. M. Tatchell. 2003.** Association of MACE-based insecticide resistance in *Myzus persicae* with reproductive rate, response to alarm pheromone and vulnerability to attack by *Aphidius*. *Pest Management Science*. 59: 1169–1178.
- Foster, S. P., C. M. Woodcock, M. S. Williamson, A. L. Devonshire, I. Denholm, y R. Thompson. 1999.** Reduced alarm response by peach-potato aphids, *Myzus persicae*

(Hemiptera: Aphididae), with knock-down resistance to insecticides (kdr) may impose a fitness cost through increased vulnerability to natural enemies. *Bulletin of Entomological Research*. 89: 133–138.

Fuller, S. J., P. Chavigny, L. Lapchin, y F. Vanlerberghe-Masutti. 1999. Variation in clonal diversity in glasshouse infestations of the aphid, *Aphis gossypii* Glover in southern France. *Molecular Ecology*. 8: 1867–1877.

Gilabert, A., J. C. Simon, L. Mieuze, F. Halkett, S. Stoeckel, M. Plantegenest, y C. A. Dedryver. 2009. Climate and agricultural context shape reproductive mode variation in an aphid crop pest. *Molecular Ecology*. 18: 3050–3061.

Gilkeson, L. A. 1990. Biological control of aphids in greenhouse sweet peppers and tomatoes. *IOBC/WPRS Bulletin*. 13: 64–70.

Gillespie, D. R., D. J. M. Quiring, R. G. Footitt, S. P. Foster, y S. Acheampong. 2009. Implications of phenotypic variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) for biological control on greenhouse pepper plants. *Journal of Applied Entomology*. 133: 505–511.

Guillemaud, T., L. Mieuze, y J. C. Simon. 2003. Spatial and temporal genetic variability in French populations of the peach–potato aphid, *Myzus persicae*. *Heredity*. 91: 143–152.

Haack, L., J. C. Simon, J. P. Gauthier, M. Plantegenest, y C. A. Dedryver. 2000. Evidence for predominant clones in a cyclically parthenogenetic organism provided by combined demographic and genetic analyses. *Molecular Ecology*. 9: 2055–2066.

Herzog, J., C. B. Müller, y C. Vorburger. 2007. Strong parasitoid-mediated selection in experimental populations of aphids. *Biology Letters*. 3: 667–669.

Kasprovicz, L., G. Malloch, J. Pickup, y B. Fenton. 2008. Spatial and temporal dynamics of

- Myzus persicae* clones in fields and suction traps. *Agricultural and Forest Entomology*. 10: 91–100.
- Kennedy, J. S., M. F. Day, y V. F. Eastop. 1962.** A conspectus of Aphids as Vectors of Plant Viruses. Commonwealth Institute of Entomology, London (UK).
- La-Spina, M., A. Hermoso-de-Mendoza, E. A. Carbonell, y J. Perez-Panades. 2008.** Umbrales económicos de *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphididae) sobre pimiento en invernadero comercial. *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*. 34: 485–491.
- Llewellyn, K. S., H. D. Loxdale, R. Harrington, C. P. Brookes, S. J. Clark, y P. Sunnucks. 2003.** Migration and genetic structure of the grain aphid (*Sitobion avenae*) in Britain related to climate and clonal fluctuation as revealed using microsatellites. *Molecular Ecology*. 12: 21–34.
- Loxdale, H. D. 2010.** Rapid genetic changes in natural insect populations. *Ecological Entomology*. 35: 155–164.
- Loxdale, H. D., y G. Lushai. 2007.** Population Genetic Issues: The Unfolding Story Using Molecular Markers. *In* van Emden, H.F., Harrington, R. (eds.), *Aphids as Crop Pests*. CAB International, Wallingford (UK), pp. 31–67.
- Lynch, M. 1984.** The genetic structure of a cyclical parthenogen. *Evolution*. 38: 186–203.
- Malloch, G., F. Highet, L. Kasprowicz, J. Pickup, R. Neilson, y B. Fenton. 2006.** Microsatellite marker analysis of peach-potato aphids (*Myzus persicae*, Homoptera: Aphididae) from Scottish suction traps. *Bulletin of Entomological Research*. 96: 573–582.
- Margaritopoulos, J. T., R. L. Blackman, J. A. Tsitsipis, y L. Sannino. 2003.** Co-existence of different host-adapted forms of the *Myzus persicae* group (Hemiptera: Aphididae) in southern Italy. *Bulletin of Entomological Research*. 93: 131–135.

- Margaritopoulos, J. T., G. Malarky, J. A. Tsitsipis, y R. L. Blackman. 2007.** Microsatellite DNA and behavioural studies provide evidence of host-mediated speciation in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 91: 687–702.
- Margaritopoulos, J. T., J. A. Tsitsipis, S. Goudoudaki, and R. L. Blackman. 2002.** Life cycle variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in Greece. *Bulletin of Entomological Research*. 92: 309–320.
- Martinez-Torres, D., R. Carrio, A. Latorre, J. C. Simon, A. Hermoso-de-Mendoza, y A. Moya. 1997.** Assessing the nucleotide diversity of three aphid species by RAPD. *Journal of Evolutionary Biology*. 10: 459–477.
- Peccoud, J., C. C. Figueroa, A. Silva, C. C. Ramirez, L. Mieuzet, J. Bonhomme, S. Stoeckel, M. Plantegenest, y J. C. Simon. 2008.** Host range expansion of an introduced insect pest through multiple colonizations of specialized clones. *Molecular Ecology*. 17: 4608–4618.
- Peccoud, J., y J. C. Simon. 2010.** The pea aphid complex as a model of ecological speciation. *Ecological Entomology*. 35: 119–130.
- Popov, N. A., Y. V. Belousov, I. A. Zabudskaya, O.A. Khudyakova, V. B. Shevtchenko, y E. S. Shijko. 1987.** Biological Control of glasshouse crop pests in the south of the U.S.S.R. *IOBC/WPRS Bulletin*. 10: 155–157.
- R Core Team. 2012.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rabasse, J. M., y M. J. van Steenis. 1999.** Biological Control of Aphids. *In* Albajes, R., Giullino, M.A., van Lenteren, J.C., Elad, Y. (eds.), *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*. Kluwer, Dordrecht (The Netherlands), pp. 235–343.
- Ramakers, P. M. J. 2004.** IPM Program for Sweet Pepper. *In* Heinz, K.M., Driesche, V., Parella,

-
- M.P. (eds.), *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, IL (USA), pp. 439–455.
- Rispe, C., M. Hullé, J. P. Gauthier, J. S. Pierre, y R. Harrington. 1998.** Effect of climate on the proportion of males in the autumn flight of the aphid *Rhopalosiphum padi* L. (Hom., Aphididae). *Journal of Applied Entomology*. 122: 129–136.
- Rispe, C., y J. S. Pierre. 1998.** Coexistence between cyclical parthenogens, obligate parthenogens, and intermediates in a fluctuating environment. *Journal of Theoretical Biology*. 195: 97–110.
- Sanchez, J. A., M. La-Spina, J. M. Michelena, A. Lacasa, y A. Hermoso-de-Mendoza. 2010.** Ecology of the aphid pests of protected pepper crops and their parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*. 21: 171–188.
- Simon, J. C., F. Delmotte, C. Rispe, y T. Crease. 2003.** Phylogenetic relationships between parthenogens and their sexual relatives: the possible routes to parthenogenesis in animals. *Biological Journal of the Linnean Society*. 79: 151–163.
- Sloane, M. A., P. Sunnucks, A. C. C. Wilson, y D. F. Hales. 2001.** Microsatellite isolation, linkage group identification and determination of recombination frequency in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer)(Hemiptera: Aphididae). *Genetical Research*. 77: 251–260.
- Spooner-Hart, R. 1993.** Arthropods in the antipodes: Pest and biological control in protected crops in Australia. *IOBC/WPRS Bulletin*. 16: 153–156.
- Van Steenis, M. J. 1993.** Suitability of *Aphis gossypii* Glov., *Macrosiphum euphorbiae* (Thom.), and *Myzus persicae* (Sulz.) (Hom.: Aphididae) as host for several aphid parasitoid species (Hym.: Braconidae). *IOBC/WPRS Bulletin*. 16: 157–160.

- Sunnucks, P., P. J. De Barro, G. Lushai, N. Maclean, y D. Hales. 1997.** Genetic structure of an aphid studied using microsatellites: cyclic parthenogenesis, differentiated lineages and host specialization. *Molecular Ecology*. 6: 1059–1073.
- Sunnucks, P., P. R. England, A. C. Taylor, y D. F. Hales. 1996.** Microsatellite and chromosome evolution of parthenogenetic *Sitobion* aphids in Australia. *Genetics*. 144: 747–756.
- Takada, H. 1986.** Genotype composition and insecticide resistance of Japanese population of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*. 102: 19–38.
- Ueda, N., y H. Takada. 1977.** Differential relative abundance of green-yellow and red forms of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) according to host plant and season. *Applied Entomology and Zoology*. 12: 124–133.
- Vasicek, A., F. de la Rossa, y A. Paglioni. 2001.** Aspectos biológicos y poblacionales de *Aulacorthum solani*, *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphidoidea) en Pimiento (*Capsicum annum* L.). *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*. 27: 439–446.
- Vorburger, C. 2004.** Cold tolerance in obligate and cyclical parthenogens of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Ecological Entomology*. 29: 498–505.
- Vorburger, C. 2006.** Temporal dynamics of genotypic diversity reveal strong clonal selection in the aphid *Myzus persicae*. *Journal of Evolutionary Biology*. 19: 97–107.
- Vorburger, C., M. Lancaster, y P. Sunnucks. 2003.** Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two “superclones” in Victoria, Australia. *Molecular Ecology*. 12: 3493–3504.
- Vorburger, C., y N. Ramsauer. 2008.** Genetic variation and covariation of aphid life-history traits across unrelated host plants. *Bulletin of Entomological Research*. 98: 543–553.

- Vorburger, C., P. Sunnucks, y S. A. Ward. 2003.** Explaining the coexistence of asexuals with their sexual progenitors: no evidence for general-purpose genotypes in obligate parthenogenens of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Ecology Letters*. 6: 1091–1098.
- Vrijenhoek, R. C. 1979.** Factors affecting clonal diversity and coexistence. *American Zoologist*. 19: 787–797.
- Vrijenhoek, R. C. 1984.** Ecological differentiation among clones: the frozen niche variation model. In Wöhrmann, K., Loescheke, V. (eds.), *Population Biology and Evolution*. Springer, Heidelberg (Germany), pp. 617–628.
- Wilson, A. C. C., B. Massonnet, J. C. Simon, N. Prunier-Leterme, L. Dolatti, K. S. Llewellyn, C. C. Figueroa, C. C. Ramirez, R. L. Blackman, A. Estoup, y P. Sunnucks. 2004.** Cross-species amplification of microsatellite loci in aphids: assessment and application. *Molecular Ecology Notes*. 4: 104–109.
- Wilson, A. C. C., P. Sunnucks, y D. F. Hales. 1999.** Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion* aphids in New Zealand. *Molecular Ecology*. 8: 1655–1666.
- Zamoum, T., J. C. Simon, D. Crochard, Y. Ballanger, L. Lapchin, F. Vanlerberghe-Masutti, y T. Guillemaud. 2005.** Does insecticide resistance alone account for the low genetic variability of asexually reproducing populations of the peach-potato aphid *Myzus persicae*? *Heredity*. 94: 630–639.
- Zepeda-Paulo, F. A., J. C. Simon, C. C. Ramirez, E. Fuentes-Contreras, J. T. Margaritopoulos, D. V. Ohashi, C. Lacroix, L. Glais, y C. C. Figueroa. 2010.** The invasion route for an insect pest species: the tobacco aphid in the New World. *Molecular Ecology*. 19: 4738–4752.

Chapter III

Inferring the population structure of *Myzus persicae* in diverse agroecosystems using microsatellite markers

Chapter III

Inferring the population structure of *Myzus persicae* in diverse agroecosystems using microsatellite markers

1. Introduction.

The complex environmental matrix of diverse agroecosystems offers phytophagous insects a wide array of host plants with variable degrees of suitability for development and reproduction. In this scenario, it is likely that different genotypes perform differently according to their intrinsic aptitudes and the characteristics of their host plants. Ecotypes associated with particular host plant species have been reported in many phytophagous arthropods, leading eventually to the formation of new species living in sympatry (Feder et al. 1998, Berlocher and Feder 2002). Aphids are a very interesting group for studying the effect of host plants on population structure because of their polyphagy, host alternation and variations in their reproduction modes. *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) and *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae) are among the aphid species in which population differentiation and the ecological and genetic factors driving divergence between host-races have been most extensively investigated (Carrol and Boyd 1992, Via 1999, Via et al. 2000, Via and Hawthorne 2002, Del Campo and Via 2003, Barker 2005, Frantz et al. 2006).

Myzus persicae is an ubiquitous and polyphagous aphid of great economic importance, frequently found in many agroecosystems in areas with a moderate climate (Blackman and Eastop 2000). The life cycle of *M. persicae* generally involves the alternation of several parthenogenetic generations in herbaceous plants with migration to the primary host for sexual reproduction. However, there are many variations in the general pattern of cyclical alternation of holocyclic morphs between primary and secondary hosts, for example: (1) obligate parthenogenetic morphs, which reproduce cyclically by parthenogenesis and lack the capacity to

reproduce sexually, also known as anholocyclic; (2) morphs that reproduce by obligate parthenogenesis but produce males that migrate to the primary host, where they mate with the cyclical parthenogens (androcyclic); and (3) morphs with an intermediate kind of life cycle, with females reproducing continuously by parthenogenesis, but occasionally producing females that migrate to the primary host, where they originate females and males which mate to produce the overwintering eggs (Blackman 1971, 1972). The abundance of morphs with different kinds of reproduction in a population depends greatly on the availability of the primary host and the severity of the climate (Margaritopoulos et al. 2003, Vorburger 2004, Blackman et al. 2007). This versatility in reproduction allows the species to display an abacus of strategies, profiting from the advantages of both sexual and asexual reproduction (Vorburger, Sunnucks, et al. 2003). Interaction among genetic, environmental, climate and stochastic factors gives rise to a mosaic of possibilities that ultimately determine the structure of *M. persicae* populations in agroecosystems. A population of *M. persicae* in secondary hosts in summer generally consist of a mixture of clones, some of them migrating from the primary host, and others obligate parthenogenetic clones from the previous winter (Blackman et al. 2007).

A geographic genetic structure may result from restricted gene flow among local populations due to regional variations in environmental conditions (Vorburger, Lancaster, et al. 2003). However, other factors, such as demographic events associated with the plasticity of reproductive modes (Delmotte et al. 2002, Guillemaud et al. 2003, Blackman et al. 2007, Margaritopoulos, Malarky, et al. 2007), host specialization (De Barro et al. 1995, Sunnucks et al. 1997) and the alternation between primary and secondary hosts (Sunnucks et al. 1997), may also influence differentiation in aphid populations. Host plant related variations in the performance of different genotypes have been observed in *M. Persicae* (Weber 1985, 1986, Edwards 2001, Vorburger, Sunnucks, et al. 2003). Molecular and morphological studies have revealed that

populations of *M. persicae* on *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) are genetically and morphologically different from those on other host plants, and support the existence of a host race associated to tobacco (Blackman 1987, Blackman and Spence 1992, Margaritopoulos et al. 1998, 2000, 2003, Zitoudi et al. 2001, Blackman et al. 2007, Margaritopoulos, Malarky, et al. 2007, Margaritopoulos, Shigehara, et al. 2007). Microsatellite or DNA short tandem repeats (STR) are codominant markers which have been successfully used to provide information about the population structure in aphids in relation to their life cycle, host, geographical distribution and dynamics (Sunnucks et al. 1997, Simon et al. 1999, Delmotte et al. 2002, Guillemaud et al. 2003, Vorburger, Lancaster, et al. 2003, Vorburger 2006, Blackman et al. 2007, Margaritopoulos, Malarky, et al. 2007).

In agricultural areas of south-eastern Iberian peninsula, agroecosystems are very diverse, with a great variety of crops intermingling with uncultivated land harbouring many wild plant species that are potential hosts for *M. persicae* (Sanchez et al. 2010). In the southern part of that region, the mild climate and the abundance of both the primary and secondary hosts enable *M. persicae* to reproduce continuously through parthenogenesis on herbaceous plants, or to engage in cyclical switching between the secondary and primary hosts. These favourable conditions allow *M. persicae* to overwinter on wild herbaceous plants, which serve as a source of aphids for temporal crops (e.g. pepper [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] grown in greenhouses). In the northern part of the working area, winter temperatures frequently fall below 0°C and the survival of aphids with anholocyclic life cycles is expected to be lower than in the southern part (Blackman 1974). The aim of this work was to determine the spatial and temporal genetic population structure of *M. persicae* in the diverse agroecosystems of Murcia province (south-eastern Iberian peninsula) in relation to host plants and the climatic conditions of the area. We were also interested in comparing the population structure in temporal elements of the landscape,

like pepper crops, *versus* permanently available resources, such as *Prunus* spp., and the herbaceous plants used as secondary hosts. For that purpose, we scored eight microsatellite loci in *M. persicae* collected in different host plant species in the province over a period of four years. These data provided information about genetic diversity, the population structure at spatial and temporal scales, and the colonization pattern of pepper greenhouses by *M. persicae*.

2. Materials and methods.

2.1. Sampling of *Myzus persicae*.

Myzus persicae was collected from 2005 to 2008 from several areas of the province of Murcia in south-eastern Iberian peninsula (Table 1, Figure 1). Samples were collected from 130 sampling sites in the Campo de Cartagena area, 20 sites from Águilas, 10 sites around Murcia city and 14 sites in the northern part of Murcia province. The isocline maps for the average and minimum temperatures in January were produced by inverse distance weighting interpolation of the average temperature records from 2000 to 2010 obtained from 40 meteorological stations of SIAM, IMIDA (<http://siam.imida.es>) (Figure 1). The southern part of the province is within the warm temperate zone as described by Blackman (1974), corresponding to the 10°C isotherm, with average temperatures in January of between 10 and 20°C. The northern part of the province is within the medium temperate zone corresponding to the 0°C isotherm, with average temperatures in January of between 0 and 10°C (Figure 1).

The distance between sampling sites within the same area ranged from 0.5 to 10 km. *Myzus persicae* was collected on different secondary host plant species of Brassicaceae [*Sisymbrium irio* L., *Brassica oleracea* L., *Diplotaxis eruroides* (L.), *Eruca vesicaria* (L.) Cav., *Moricandia arvensis* (L.) DC., *Raphanus raphanistrum* L. and *Rapistrum rugosum* (L.) Al.], Chenopodiaceae [*Chenopodium album* L., *Chenopodium murale* L., *Beta vulgaris* L. and *Beta*

maritima L.], Convolvulaceae [*Convolvulus arvensis* L. and *Convolvulus althaeoides* L.], Malvaceae [*Malva parviflora* L.], Rosaceae [*Prunus dulcis* (Mill.) and *Prunus persica* (L.) Batsch] and Solanaceae [*C. annuum* and *Solanum tuberosum* L.]. The primary host samples were collected on *P. dulcis* in the southern part of the province, and on *P. dulcis* and *P. persicae* in the northern part. The aphids were collected separately from individual plants and introduced into single translucent plastic containers. To reduce the chances of individuals descending from the same progenitor, individual plants at the sampling sites were more than five metres apart. The *M. persicae* samples were taken to the laboratory in refrigerated boxes, placed in glass vials with absolute ethanol and stored at 4°C.

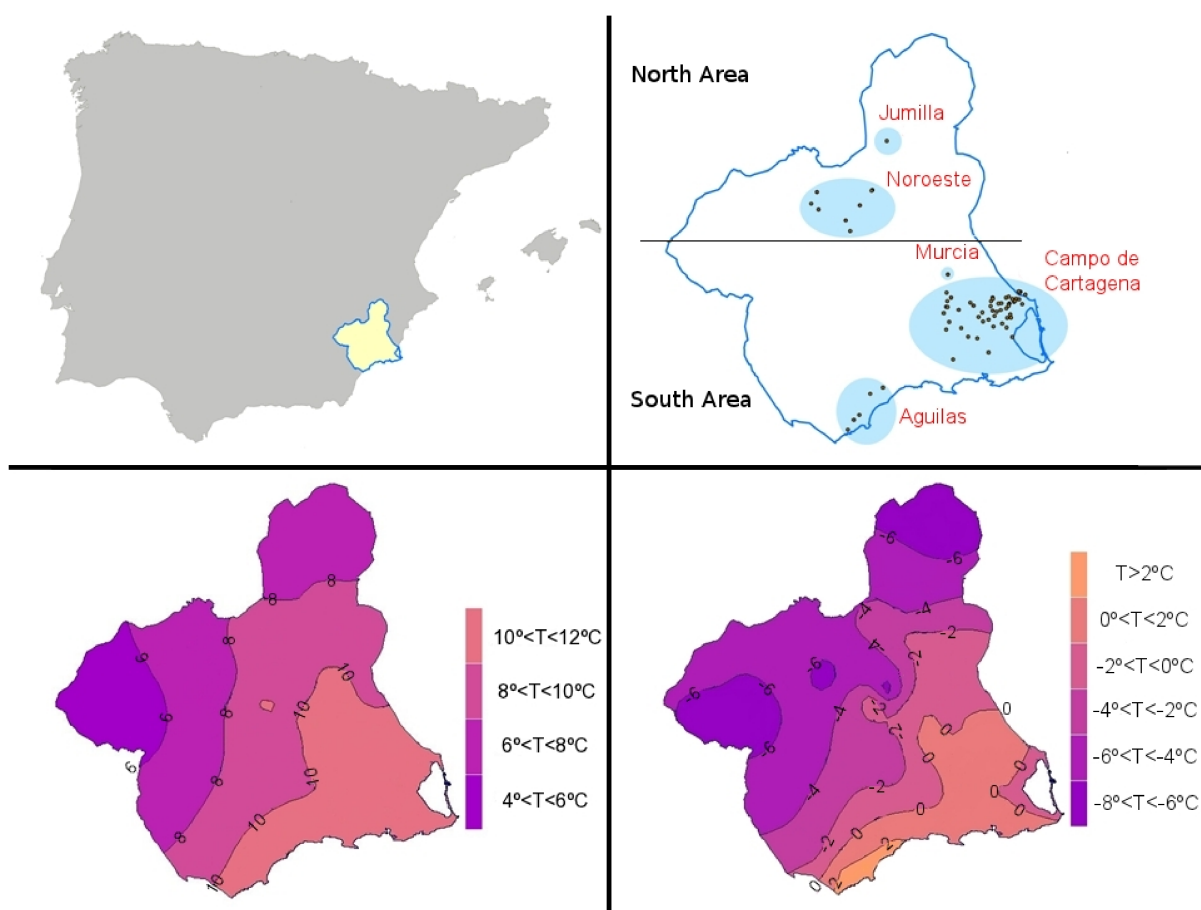


Figure 1. Location of the sampling areas (top) and maps with the isoclines of the average (bottom left) and minimum temperatures in winter (bottom right).

Locality	Area	Year	Month	Host	Sample code	N		
Campo de Cartagena	South	2005	March,	Pepper	CAPEP05	122		
			April, May					
			March,					
		2006	April, May	April	<i>Prunus dulcis</i>	CAHER05	222	
								April
								April
		2007	April, May	April	Pepper	CAPRU05	29	
								March,
								April
		2008	April, May	April	Pepper	CAPEP06	26	
								April, May
								April,
		2008	April, June	February	Herbaceous plants	CAHER06	121	
April,								
October								
2008	April, June	February	Herbaceous plants	CAHER07	79			
						April, May		
						April, June		
2008	April, June	February	Herbaceous plants	CAPEP08	61			
						April		
						April		
2008	April	April	<i>Prunus dulcis</i>	CAHER08	70			
						April		
						April		
2008	April	April	<i>Prunus dulcis</i>	CAPRU08	43			
						April		
						April		
Aguilas, Murcia	South	2005	April	Herbaceous plants	AGHER05	27		
Jumilla, Murcia	North	2008	April	<i>Prunus persicae</i>	JUPRU08	26		
Murcia, Murcia	South	2008	April	<i>Prunus persicae</i>	MUPRU08	15		
Noroeste, Murcia	North	2005	April	Herbaceous plants	NOHER05	19		
			April, May					
			April, May					
2008	North	April	April	<i>Prunus dulcis</i>	NOPRU05	25		
							April	
2008	North	April	April	Herbaceous plants	NOHER08	16		
							April	
2008	North	April	April	<i>Prunus dulcis</i>	NOPRU08	22		
							April	

Table 1. Localities, area, year and month of sampling, hosts and number of individuals genotyped (N) in *Myzus persicae* samples.

2.2. Amplification of microsatellites loci.

Two individuals for each plant species, collected on different individual plants at each sampling site, were analysed. DNA was extracted from apterous adult females of *Myzus persicae* using the Quelex 100 chelating ion exchange resin method (Malloch et al. 2006). The loci used in this study were two X-linked (M86, Myz25) and six autosomal (Myz9, M35, M37, M40, M49, M63) loci (Sloane et al. 2001, Wilson et al. 2004). The X-linked loci, M37-M49 and M35-M63 belonged to three different linkage groups (Sloane et al. 2001). Amplification reactions were prepared using 2 µl of approximately 0.5 ng/µl of genomic DNA, 0.5 µM of each primer, 0.2 µM of dNTPs, 10 mM Tris HCl (pH 8.8), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.01% of Tween and 0.5 U of DNA polymerase (DFS-Taq DNA polymerase, Bioron GmbH, Ludwigshafen, Germany), in a

total volume of 20 μ l. Forward primers were 5' labeled with 6-FAM, VIC, NED or PET dyes (Applied Biosystems, Foster City, California – USA). PCR amplifications were carried out in an Eppendorf Mastercycler EPgradient (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) under the following conditions: 2 min at 94°C followed by 36 cycles of 15 s at 94°C, 30 s at 61°C and 30 s at 72°C, and then a 10 min incubation at 72°C. The PCR products were run at 1:50 dilution on an AB3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems) with the LIZ500-labeled size standard (Applied Biosystems). Fragments were detected with Peak Scanner™ v1.0 (Applied Biosystems) and verified manually.

2.3. Genetical statistical analyses.

A total of 923 *M. persicae* were successfully genotyped for the eight microsatellite loci (Table 1). To prevent unreliable results due to the inclusion of multiple clonal copies (Sunnucks et al. 1997), genotypes with the same score for the eight microsatellites on samples from the same plant species and sampling sites were excluded from the analyses. We assumed that two individuals were the same genotype or clone whenever they had the same score for the eight microsatellites. The number of allele per locus and population, heterozygosity, deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE), the fixation index (F_{IS}) and genotypic linkage disequilibrium (LD) were calculated using the FSTAT 2.9.3.2 software (Goudet 2002). All probabilities were Bonferroni corrected (Rice 1989). The frequency of null alleles was estimated using Genepop 4.0 (Rousset 2008). ANOVA was used to test whether the proportion of a linked pair of loci in samples (number of linked loci / total number of possible pairwise comparisons) was significantly influenced by linkage group (same or different chromosome), host (primary/secondary host) and geographical area (north/south). The number of alleles per individual, the proportion of genotypes (number different of genotypes / number of individuals

genotyped) and the number of loci not under HWE in the samples were tested by ANOVA as a function of the host and the geographical area. Data were transformed by the natural logarithm of $(x+1)$ when needed to account for heteroscedasticity. All the above statistical analyses were performed using the R software v. 2.15.2 (R Core Team 2012).

Pairwise genetic distances for populations were calculated using the Cavalli-Sforza and Edwards chord distance (D_C) (Cavalli-Sforza and Edwards 1967) using FSTAT. D_C is considered the most efficient distance for obtaining the correct tree topology under different conditions for microsatellite markers (Takezaki and Nei 1996). A neighbour-joining tree for all populations (Table 1) was constructed using Population 1.2.32 software (Langella 1999). The dendrogram was displayed using Treeview software (Page 1996). Genotypic differentiation between populations was tested by F_{ST} according to Weir and Cockerman (1984), and P-values obtained after 36,000 permutations using FSTAT; probabilities were Bonferroni corrected (Rice 1989). Population differentiation in *M. persicae* in relation to host plant families was tested using the samples from Campo de Cartagena collected in 2005. To test whether samples of the different plant families represented different *M. persicae* subpopulations, aphids collected on the different plant species were pooled by family to calculate pairwise F_{ST} -values. For analysis of the genetic population structure at geographical and temporal scale, F_{ST} -values were calculated by grouping the samples from each year by crop (pepper), secondary host (herbaceous plants other than pepper) and primary host (*Prunus* spp.). Two AMOVA analyses were performed using ARLEQUIN 2.0 (Excoffier et al. 2005); grouping the samples according to host category (pepper, secondary and primary host) and year, respectively. The AMOVA in which the samples were grouped by year was performed using only the samples from 2005 and 2008 because some of the host categories were not available for 2006 and 2007. The population structure was inferred using STRUCTURE v2.3 following the method described by Pritchard et al. (2000),

assuming a model with 1 to 10 populations (K clusters). Each K was replicated 20 times for 100,000 iterations after a burn-in of 100,000 without any prior information on the population of origin. The *ad hoc* statistic ΔK , based on the rate of change in the log probability between successive K values, was used to estimate the uppermost hierarchical level of structure (optimal K) (Evanno et al. 2005).

3. Results.

3.1. *Microsatellite markers, linkage disequilibrium and genetic diversity.*

All eight microsatellite loci amplified successfully for the *M. persicae* samples. A total of 289 different genotypes were found in the 630 individuals scored for the eight microsatellites, excluding duplicates from the same sampling site and plant species. Polymorphism was observed for the eight loci in all the samples with the exception of MUPRU08, which was monomorphic for M37 (Table 2). The average allelic richness across loci was higher for the herbaceous (mean, 5.75: range, 3 - 10.53) and primary host (5.56: 1 - 10) than for pepper (4.52: 2.06 - 6.53) (Table 2) samples. The maximum number of alleles was observed in Myz9 (18), followed by M49 (17) (Table 2). The maximum number of alleles across samples was found in the samples from herbaceous plants in 2005 (91) followed by the samples in the primary host in 2008 (78) (Table 2). There were no significant differences in the number of alleles between the primary and secondary hosts ($F=0.368$; d.f.=1, 12; $P=0.556$), nor between samples from the southern and northern part of the province ($F=0.723$; d.f.=1, 12; $P=0.412$). However, the number of alleles on pepper samples in Campo de Cartagena was significantly lower than on samples from herbaceous plants ($F=9.07$; d.f.=1, 5; $P=0.030$) and *Prunus* ($F=6.78$; d.f.=1, 3; $P=0.080$). The proportion of unique genotypes in the primary host was similar in the northern (mean \pm SE, 0.961 ± 0.036) and southern (0.987 ± 0.013) part of the province. In the secondary host, the

proportion of unique genotypes was higher in the north (0.801 ± 0.159) than in the south (0.318 ± 0.063). The ANOVA denoted significant differences in the proportion of unique genotypes between areas ($F=18.50$; d.f.=1, 12; $P<0.001$) and host ($F=58.58$; d.f.=1, 12; $P<0.001$), with a significant area-host interaction ($F=11.10$; d.f.=1, 12; $P<0.01$). The proportion of unique genotypes on pepper and herbaceous plants in the surroundings of greenhouses in Campo de Cartagena was not significantly different ($F=1.13$; d.f.= 1, 5; $P=0.336$).

The average proportion of null alleles across samples ranged from 0.04% to 5.27%. In samples from the southern part of the province, significant disequilibrium was detected between loci belonging to the same and different linkage groups, both in herbaceous plants and *Prunus* spp. The average linkage proportions for pairs of loci located in the same chromosome in the southern part of the province were 0.333 and 0.222 in herbaceous and *Prunus*, respectively. For the loci in different chromosomes, the linkage proportion was higher in herbaceous plants (0.395) than in *Prunus* spp. (0.133). In the northern part of the province, no linkage disequilibrium was observed between loci located in different groups, and low linkage was observed for loci located in the same group in samples from herbaceous plants (0.02). The proportion of linked loci did not differ significantly in relation to linkage group ($F=0.021$; d.f.=1, 28; $P=0.887$) or host (herbaceous plants/*Prunus*) ($F=0.962$; d.f.=1, 28; $P=0.335$), but significant differences were found between the southern and northern part of the province ($F=6.10$; d.f.=1, 28; $P=0.020$).

		SAMPLES															
Loci		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
M86	n	11	6	7	8	13	11	8	11	8	14	8	7	7	10	7	8
	H_o	0.917	1	0.933	1	0.974	0.973	1	0.974	0.765	0.871	1	0.778	0.929	0.727	0.385	0.765
	H_e	0.854	0.734	0.818	0.783	0.795	0.845	0.763	0.831	0.875	0.828	0.875	0.778	0.743	0.939	0.865	0.807
	F_{IS}	-0.075	-0.367*	-0.146	-0.282*	-0.225*	-0.154*	-0.318*	-0.176	0.121	-0.053	-0.148	0.000	-0.261	0.204	0.542*	0.055
Myz25	n	5	4	4	4	6	5	6	5	5	7	5	5	4	3	3	4
	H_o	0.792	1	0.867	0.737	0.984	0.947*	1	0.974	0.588	0.677	0.667	0.556	0.786	0.818	1	0.647
	H_e	0.671	0.556	0.729	0.544	0.655	0.713	0.805	0.685	0.529	0.661	0.712	0.680	0.669	0.658	0.649	0.709
	F_{IS}	-0.184	-0.810*	-0.221	-0.36	-0.505*	-0.331	-0.248	-0.429*	-0.115	-0.025	0.065	0.101	-0.182	-0.259	-0.576	0.051
Myz9	n	14	7	7	7	18	11	9	9	5	12	8	3	10	9	7	7
	H_o	0.833	0.959	0.933	0.921	0.948	0.853	0.926	0.974	0.824	0.839	0.81	0.778	0.929	0.818	0.769	0.882
	H_e	0.777	0.721	0.818	0.755	0.750	0.795	0.763	0.793	0.62	0.82	0.826	0.621	0.815	0.913	0.649	0.799
	F_{IS}	-0.075	-0.332*	-0.146	-0.223	-0.264*	-0.074	-0.218	-0.232	-0.341	-0.032	-0.01	-0.273	-0.146	0.100	-0.194	-0.109
M49	n	16	6	6	10	17	9	8	12	12	15	16	6	10	11	8	6
	H_o	0.917	0.699	0.933	0.868	0.921	0.84	0.63	0.947	1	0.774	0.667	0.444	0.929	0.818	0.846	0.824
	H_e	0.926	0.718	0.834	0.816	0.744	0.843	0.752	0.836	0.913	0.906	0.895	0.830	0.860	0.948	0.852	0.865
	F_{IS}	0.010	0.021	-0.123	-0.079	-0.239*	0.003	0.148	-0.136	-0.099	0.148	0.259	0.439	-0.083	0.130	0.008	0.049
M63	n	9	7	7	8	10	11	9	10	10	10	8	4	8	9	7	7
	H_o	0.958	1	0.933	0.974	0.911	0.907	0.852	0.816	1	0.742	0.905	0.667	1.000	1.000	0.923	0.941
	H_e	0.842	0.757	0.844	0.802	0.813	0.87	0.788	0.766	0.838	0.747	0.754	0.660	0.825	0.909	0.806	0.754
	F_{IS}	-0.141	-0.325*	-0.11	-0.217	-0.120*	-0.042	-0.086	-0.066	-0.201	0.007	-0.206	-0.055	-0.221	-0.106	-0.152	-0.258
M37	n	6	3	4	4	10	6	4	7	7	7	6	1	4	4	5	3
	H_o	0.458	0.274	0.6	0.342	0.482	0.573	0.296	0.395	0.529	0.452	0.429	0.000	0.357	0.636	0.538	0.588
	H_e	0.726	0.252	0.543	0.446	0.474	0.504	0.384	0.431	0.754	0.528	0.512	0.000	0.675	0.688	0.751	0.456
	F_{IS}	0.345	-0.143	-0.212	0.235	-0.024	-0.139	0.168	0.039	0.282	0.109	0.165	NA	0.454	0.079	0.273	-0.301
M40	n	7	4	5	7	9	7	6	6	5	7	5	5	6	6	4	4
	H_o	0.917	0.945	0.867	0.974	0.812	0.853	0.926	0.816	0.941	0.903	0.714	1.000	0.929	0.818	0.923	0.471
	H_e	0.787	0.629	0.770	0.742	0.62	0.77	0.712	0.773	0.766	0.797	0.625	0.771	0.762	0.853	0.717	0.613
	F_{IS}	-0.169	-0.507*	-0.13	-0.317*	-0.311*	-0.108	-0.308	-0.064	-0.252	-0.136	-0.2	-0.321	-0.229	0.027	-0.303	0.229
M35	n	6	4	4	5	8	7	6	6	6	6	6	3	4	8	5	4
	H_o	0.667	0.986	0.533	0.921	0.906	0.653	0.556	0.947	0.647	0.71	0.714	0.667	1.000	0.727	1	0.529
	H_e	0.784	0.645	0.708	0.652	0.706	0.748	0.588	0.592	0.699	0.777	0.698	0.667	0.659	0.823	0.797	0.756
	F_{IS}	0.142	-0.535*	0.22	-0.425*	-0.283*	0.122	0.011	-0.613*	0.036	0.074	-0.062	-0.185	-0.549	0.121	-0.268	0.306

Table 2. Population code: 1= AGHER05, 2= CAPEP05, 3= CAPEP06, 4= CAPEP08, 5= CAHER05, 6= CAHER06, 7= CAHER07, 8= CAHER08, 9=CAPRU05, 10= CAPRU08, 11= JUPRU08, 12= MUPRU08, 13= NOHER05, 14= NOHER08, 15= NOPRU05, 16= NOPRU08. Number of alleles (n), Observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity, F_{IS}-values (* significantly different from expected in HW equilibrium after Boferroni correction). NA, not available.

Heterozygosity was high in most of the samples and loci (Table 2). The average H_o ranged from 0.452 to 0.900, and the average H_e from 0.513 to 0.844 (Table 2). Heterozygosity excess was observed in most of the samples, with a significant departure from HWE in all samples on pepper and herbaceous plants in Campo de Cartagena (Table 2); the average number of loci not in HWE was the same for pepper and herbaceous plant samples (3 loci). Significantly lower heterozygosity than expected was found only for M86 in NOPRU08 (Table 2). The number of loci not in HWE was significantly higher in the southern than in the northern part of the province ($F=5.45$; d.f.=1, 12; $P=0.034$), and in the secondary than on the primary host ($F=4.22$; d.f.= 1, 12; $P=0.062$).

3.2. Genetic population structure in *Myzus persicae* in relation to host plant.

The F_{ST} -values pointed to a degree of differentiation in *M. persicae* samples according to the primary and secondary hosts. The overall F_{ST} -values among the samples from the different families of herbaceous plants in the environment of pepper greenhouses were low (0.001 - 0.053) and not significant in any case (Table 3). These low F_{ST} -values indicate null or little genetic differentiation among samples in relation to plant family. However, significant F_{ST} -values were found between pepper and most of the herbaceous plant samples, and between herbaceous plants (including pepper) and the primary host (Table 3). The highest F_{ST} -values (0.072 - 0.130) were found between samples on the primary host and the rest of the samples (Table 3). Given the lack of population differentiation in relation to plant families, *M. persicae* samples on herbaceous plants in the same year and locality were grouped together for the following analyses.

	SAMPLES								
	Pepper (73)	URT (5)	SOL (13)	PLA (7)	MAL (56)	BRA (57)	CON (16)	CHE (37)	ROS (17)
Pepper		NS	***	NS	***	***	NS	***	***
URT	0.015		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
SOL	0.053	0.043		NS	NS	NS	NS	NS	**
PLA	0.021	0.007	0.029		NS	NS	NS	NS	NS
MAL	0.026	0.000	0.018	0.014		NS	NS	NS	***
BRA	0.041	0.019	0.011	0.002	0.007		NS	NS	***
CON	0.022	0.004	0.033	0.022	0.001	0.008		NS	**
CHE	0.052	0.045	0.037	0.014	0.017	0.013	0.001		***
ROS	0.130	0.111	0.080	0.089	0.090	0.072	0.080	0.087	

Table 3. Pairwise comparison for genetic differentiation based on F_{ST} -values for *Myzus persicae* samples on different plant families. URT, Urticaceae; SOL, Solanaceae; PLA, Plantaginaceae; MAL, Malvaceae; BRA, Brassicaceae; CON, Convolvulaceae; CHE, Chenopodiaceae; ROS, Rosaceae (*Prunus* spp.). NS= non-significant, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Significance after the correction of P by Bonferroni. Number of individuals genotyped (excluding duplicates) in brackets.

3.3. Genetic population structure at geographical and temporal scale.

F_{ST} -values ranged from 0.001 to 0.156 and denoted a variable degree of differentiation among samples in the three groups of hosts (pepper, herbaceous plants and *Prunus*) in the different geographical areas and years (Table 4). F_{ST} -values in the four years of the study ranged from 0.037 to 0.090 among pepper samples, from 0.022 to 0.068 among samples of herbaceous plants, and from 0.010 to 0.127 among samples of *Prunus* (Table 4). F_{ST} -values among pepper and herbaceous plant samples in Campo de Cartagena ranged from 0.010 to 0.017, with lower F_{ST} -values among pepper and herbaceous plant samples in the same year than among those in different years (Table 4). Significant differences were found among pepper samples from Campo de Cartagena and samples on herbaceous plants from other localities in approximately half of the cases (Table 4). F_{ST} -values always showed significant differences in pairwise comparisons among pepper and *Prunus* samples, with the exception of CAPEP06 and CAPRU08 (Table 4). Samples on herbaceous plants in the north and the south of the province differed significantly in 6 out of 10 pairwise comparisons (Table 4). No significant differences were found among any

Prunus samples in the same year, which was also sometimes the case with pairwise comparison among samples from different years (Table 4).

AMOVA pointed to a significant population structure when samples were grouped by host category (pepper, secondary and primary host). Differences between individuals within samples accounted for most of the genetic variation (94.14%), followed by the variation among samples within groups (4.15%) and differences among groups of hosts (1.71%) (Table 5). When samples were grouped by year, most of the genetic variation was also due to differences between individuals within samples (94.80%), followed by variations among samples within groups (4.54%) and between groups (0.66%) (Table 6). Two main clusters may be observed in the dendrogram showing the relationship among *M. persicae* samples: one of the clusters includes all the samples from *Prunus* and the other all the samples on pepper and the rest of herbaceous plants (Figure 2). There was no clear structure associated with the year of sampling, although, samples from the same year were frequently located in the same branch. A structure analysis was run for K values ranging from 1 to 10, with the *ad hoc* statistic (ΔK) reaching its maximum at $K=3$ (55.4 ± 3.9 , average \pm SE) followed by $K=2$ (52.4 ± 4.2). For $K=2$, most of the individuals from the primary host were included in the first cluster, while the samples from pepper and the rest of the secondary hosts were a mixture of individuals assigned to both clusters (Figure 3). The percentage of individuals assigned to the first cluster in the primary host ranged from 88.2 to 99.3%. In the pepper samples most of the individuals were generally included in the second cluster (47.4 - 70.9%), while for the other secondary hosts the highest number of individuals were assigned to the first cluster (52.7 - 81.8%) (Table 7). For $K=3$, most of the individuals from the primary host had the highest probability of ancestry in the first cluster (79.3 - 96.5%) (Figure 3, Table 7). In pepper a high percentage of individuals was assigned to the second cluster (40.9 - 64.2%), but the results varied with the years (Table

7). In the samples from herbaceous plants there was no clear pattern in the assignments of individuals to clusters (Table 7).

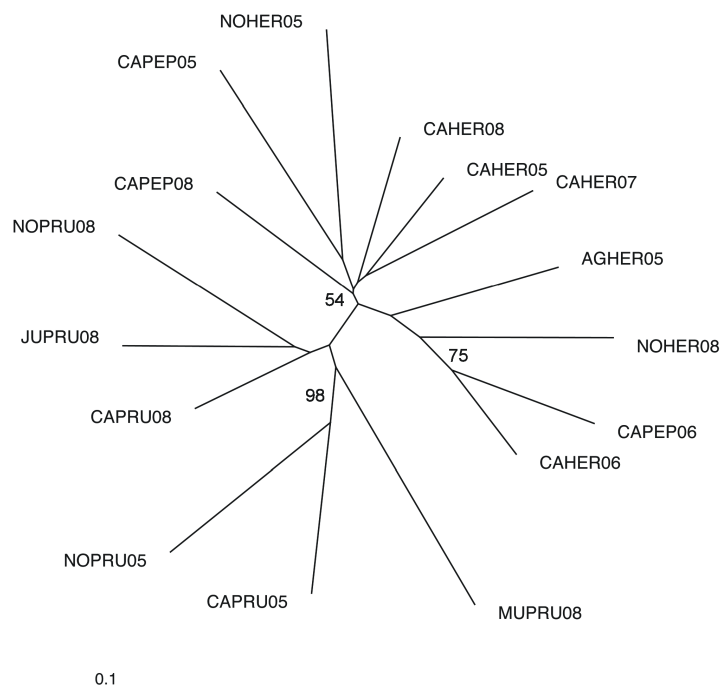


Figure 2. Population dendrogram for samples of *Myzus persicae* collected from 2005 to 2008 on different host plants (see Table 1 for sample codes). Numbers on nodes show bootstrap support (10,000 pseudo replications).

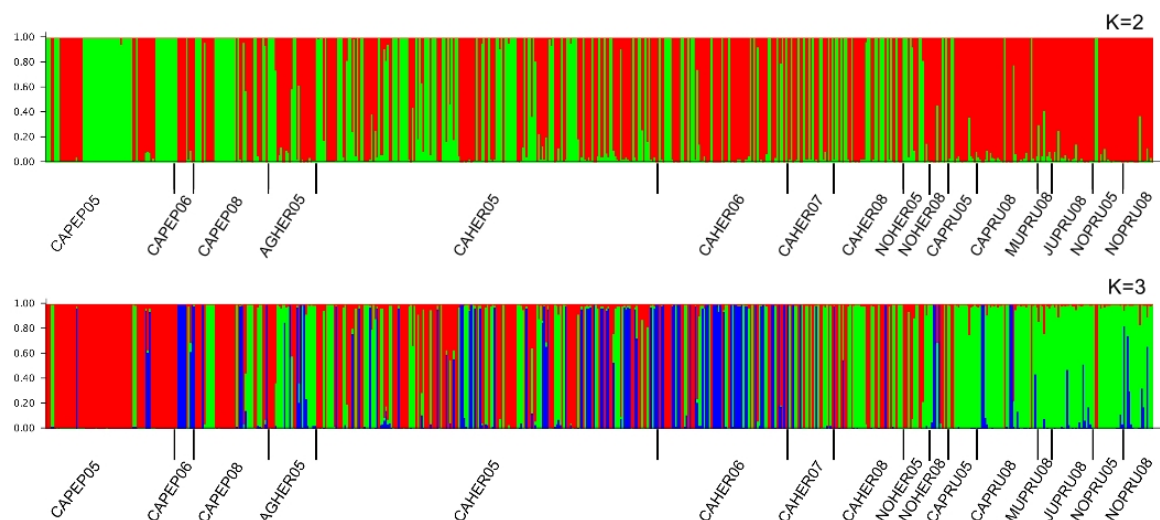


Figure 3. STRUCTURE analyses for $K=2$ and 3 clusters. *Myzus persicae* population structure based on microsatellite scores. Each line represents a single individual and is fragmented in different colours according to the coefficient of ancestry of each individual.

		SAMPLES															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	AGHER05		***	NS	NS	***	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	**
2	CAPEP05	0.071		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
3	CAPEP06	0.019	0.090		NS	**	NS	NS	NS	***	NS	**	*	NS	NS	***	**
4	CAPEP08	0.027	0.037	0.045		***	***	**	NS	***	**	***	*	*	NS	***	***
5	CAHER05	0.034	0.030	0.058	0.024		***	**	**	***	***	***	***	***	**	***	***
6	CAHER06	0.019	0.086	0.010	0.044	0.050		***	***	***	***	***	**	**	NS	***	***
7	CAHER07	0.052	0.089	0.078	0.064	0.041	0.068		*	***	**	***	**	*	NS	***	***
8	CAHER08	0.032	0.043	0.058	0.017	0.022	0.057	0.050		***	NS	**	*	NS	NS	***	***
9	CAPRU05	0.037	0.130	0.116	0.099	0.082	0.101	0.096	0.071		**	**	*	*	*	NS	***
10	CAPRU08	0.020	0.084	0.060	0.034	0.045	0.047	0.061	0.033	0.053		NS	NS	**	NS	**	NS
11	JUPRU08	0.036	0.111	0.081	0.060	0.055	0.065	0.050	0.050	0.044	0.010		NS	***	**	***	NS
12	MUPRU08	0.068	0.144	0.135	0.088	0.104	0.106	0.109	0.093	0.101	0.022	0.042		**	*	*	NS
13	NOHER05	0.013	0.061	0.074	0.041	0.034	0.069	0.060	0.039	0.051	0.046	0.066	0.115		NS	NS	***
14	NOHER08	0.009	0.096	0.001	0.058	0.060	0.006	0.075	0.051	0.062	0.040	0.051	0.114	0.056		**	NS
15	NOPRU05	0.038	0.156	0.129	0.113	0.109	0.112	0.132	0.093	0.017	0.063	0.082	0.127	0.060	0.081		***
16	NOPRU08	0.049	0.129	0.085	0.067	0.080	0.069	0.092	0.075	0.071	0.013	0.010	0.044	0.089	0.053	0.102	

Table 4. Pairwise comparison for genetic differentiation based on F_{ST} -values for *Myzus persicae* samples (see Table 1 for sample codes). P-values obtained after 136,000 permutations. NS= non-significant, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; P significance after Bonferroni correction.

Source of variation	d.f.	SSD	Variance Component	Percentage	P-value
Among groups	2	66.73	0.052	1.71	<0.001
Among samples within groups	13	154.58	0.125	4.15	<0.001
Within samples	1212	3435.95	2.835	94.14	<0.001

Table 5. Hierarchical analysis of molecular variance AMOVA for samples of *Myzus persicae* collected from 2005 to 2008 grouped by host category (crop, secondary and primary host). Degrees of freedom (d.f.), sums of square deviations (SSD), the percentage of the total variance due to each level and the probability test calculated after 1,023 permutations.

Source of variation	d.f.	SSD	Variance Component	Percentage	P-value
Among groups	1	24.50	0.019	0.66	<0.001
Among populations within groups	10	116.20	0.134	4.54	<0.001
Within populations	960	2680.90	2.793	94.80	<0.001

Table 6. Hierarchical analysis of molecular variance AMOVA for samples of *Myzus persicae* collected in 2005 and 2008 on different host categories grouped by year. Degrees of freedom (d.f.), sums of square deviations (SSD), the percentage of the total variance due to each level and the probability test calculated after 1,023 permutations.

Sample codes	K=2		K=3		
	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
CAPEP05	29.1	70.9	21.3	64.4	14.3
CAPEP06	52.6	47.4	13.3	40.0	46.7
CAPEP08	43.1	56.9	36.6	55.3	8.2
AGHER05	66.7	33.3	50.8	27.1	21.9
CAHER05	52.7	47.3	39.1	44.6	15.9
CAHER06	62.2	37.8	25.6	30.7	43.7
CAHER07	63.2	36.8	53.8	34.6	11.5
CAHER08	53.4	46.6	47.5	46.2	6.3
NOHER05	59.5	40.5	46.8	37.1	16.1
NOHER08	81.8	18.2	40.9	18.2	40.9
CAPRU05	88.2	11.8	88.2	11.8	0.0
CAPRU08	89.2	10.8	79.3	8.8	11.9
MUPRU08	98.1	1.9	93.0	6.4	0.0
JUPRU08	99.2	0.8	96.5	0.0	3.0
NOPRU05	88.2	11.8	88.2	11.8	0.0
NOPRU08	99.3	0.7	95.0	0.0	5.0

Table 7. Results of Bayesian analyses using STRUCTURE. Percentage of individuals in the *Myzus persicae* samples assigned to each cluster according to their respective probabilities of ancestry for K=2 and K=3 in samples.

4. Discussion.

4.1. Genetic diversity.

In this work we investigated the population structure of *M. Persicae* in diverse agroecosystems in areas with different climatic conditions and in relation to the primary and secondary hosts. We also looked at the change in the population structure in temporal hosts (pepper crops) versus permanent hosts (*Prunus* spp. and herbaceous plants). The high genetic diversity found in Murcia province agrees with the high haplotype diversity observed using other markers such as RAPD (Martinez-Torres et al. 1997) or rDNA fingerprinting (Fenton et al. 1998). The differences in the proportion of unique genotypes, linkage disequilibrium, number of alleles, and the number of loci under HWE indicated divergences in the population structure of *M. persicae* according to the host (primary or secondary) and the geographical area of distribution. The proportion of unique genotypes was higher in *Prunus* than in the secondary host plants but, while in *Prunus* the proportion was similar in the northern and southern part of the province, on the secondary host the proportion of unique genotypes was lower in the southern area. No significant differences were found in unique genotypes between pepper and herbaceous plant samples in the vicinity of greenhouses in the southern area, although, a lower number of alleles was observed on pepper than on herbaceous plants and *Prunus*, which might be due to a founder effect. The higher proportion of unique genotypes in herbaceous plants in the northern part of the province might be explained by the lower survivorship of obligate parthenogens in the severe winter conditions, and consequently, by a lower representation of anholocyclic forms in populations. Lower genotypic variability is to be expected in obligate parthenogenetic aphids as a result of the absence of recombination in asexual reproduction (Delmotte et al. 2001, 2002, Guillemaud et al. 2003). These findings agree with the distribution and abundance of holocyclic and anholocyclic *M. persicae* in relation to climatic conditions predicted by Blackman (1974).

The different climatic conditions of our two geographical areas of study may have a significant effect on *M. persicae* population structure. In the southern part of the province anholocyclics may easily survive the mild winter temperatures, while in the northern part their survivorship will depend greatly on the severity of winter temperatures. Vorburger, Lancaster, et al. (2003) found that both the abundance of peach trees and temperature influenced the distribution of genotypes with different reproduction strategies, and the genetic diversity in populations of *M. persicae* in Victoria, Australia. Cold winters may eliminate anholocyclic *M. persicae*, reducing genetic variability and imposing population “bottlenecks” (Fenton et al. 1998). The results of the present work are also in agreement with those of Guillemaud et al. (2003), who found a higher proportion of multilocus genotypes in mixed samples of obligate and cyclical parthenogens than on peach samples of cyclical parthenogens.

Linkage disequilibrium was frequent in samples from the southern part of the province, both in the primary and secondary host, but rare in the northern area. The similar degree of association found at both, loci belonging to the same and different linkage groups, might be explained by the generation of new genotypes resulting from the mutation of obligate parthenogens. The significant linkage found on peach samples in the southern part of the province might be explained by the contribution of androcyclic and facultative parthenogenetic clones to the population pool reproducing sexually in the primary host. Guillemaud et al. (2003), found no significant linkage among loci in samples of *M. persicae* populations collected on peach, with frequent linkage disequilibria in samples from aerial traps, supposedly integrated by a mix of obligate and cyclical parthenogens. Linkage disequilibrium at loci belonging to different linkage groups was also observed in *M. persicae* by Wilson et al. (2002).

The significant heterozygosity excess found on pepper and herbaceous plant in the southern part of the province may be attributed to the high representation of obligate

parthenogens in *M. persicae* populations in the secondary hosts. The same diversity pattern associated with the over representation of obligate parthenogens in populations has been reported for other aphids such as, *Sitobion* spp. (Hemiptera: Aphididae) (Sunnucks et al. 1996, Wilson et al. 1999), *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) (Fuller et al. 1999) and *Myzus antirrhinii* (Macchiati) (Hemiptera: Aphididae) (Hales et al. 2002). This higher heterozygosity in obligate parthenogenetical lineages may be explained by the accumulation of mutations at loci during extended cycles of asexual multiplication, among other factors (Birky 1996, Fenton et al. 1998, Guillemaud et al. 2003, Vorburger, Lancaster, et al. 2003). The hybridization between highly differentiated populations is another factor leading to heterozygosity excess in aphid populations (Delmotte et al. 2001). This argument favours our hypothesis of interbreeding between androcyclic and facultative obligate parthenogens with cyclical parthenogens in the primary host in Murcia province. Complementary studies will help determine the contribution of hybridization to the genetic variability of *M. persicae* populations.

4.2. Population genetic structure in relation to host plants.

Host specialization is common in aphids and the formation of host races has been reported in several polyphagous species (Blackman and Eastop 2000, Frantz et al. 2006). Divergences in the populations of *A. pisum* associated with host specialization in alfalfa [*Medicago sativa* L. (Fabaceae)] and red clover [*Trifolium pratense* L. (Fabaceae)] have been reported both in the ancestral geographic range of distribution and in the New World (Via 1999, Hawthorne and Via 2001, Simon et al. 2003, Frantz et al. 2006). The association of lineages to specific host plant species was also reported in *Sitobion avenae* (Fabricius) (Hemiptera: Aphididae) in France (Sunnucks et al. 1997). The specialisation of *M. persicae* seems to be mostly related with tobacco and little evidence of population differentiation has been reported in

other host plants. Molecular, morphological and behavioural studies pointed to significant differences between *M. persicae* clones on tobacco and other host plants in tobacco-growing regions in northern and central Greece (Margaritopoulos et al. 2000, 2003, Nikolakakis et al. 2003, Margaritopoulos, Malarky, et al. 2007). The overrepresentation of one *M. persicae* genotype on *Solanum physalifolium* Rusby (Solanaceae) is the only evidence provided as a possible case of specialisation of *M. persicae* in a host other than tobacco. Fenton et al. (1998) found no differences in the distribution of genotypes between *Brassica* and potato crops. Similarly, Zitoudi et al. (2001) found no specific band pattern in clones collected on different host plants using RAPD-PCR. In the present work, we found no evidence of *M. persicae* population divergence in any of the families of herbaceous plants commonly present in the vicinity of pepper greenhouses in Murcia province.

4.3. *Myzus persicae* population structure at geographical and temporal scale.

Analysis of the population structure using microsatellite markers revealed a marked microgeographic structure associated with primary and secondary hosts, and variable with time. F_{ST} -values ranging from 0.034 to 0.130 indicated moderate differentiation between *M. persicae* populations in the primary and secondary hosts plant; samples from the herbaceous plants and *Prunus* also grouped into two distinct clusters in the NJ dendrogram. As stated above, these differences in structure might be due to populations in herbaceous plants being made up of both obligate and cyclical parthenogenetic genotypes, while cyclical parthenogens would be the predominant forms in the primary host. Bayesian analyses showed that the population of *M. persicae* in Murcia province could be grouped into two or three clusters. In both cases ($K=2$ and 3), the samples from the primary host were composed mainly of individuals belonging to the first cluster, while the samples from the secondary host were made up of genotypes belonging to the

first, second and third (in the case of $K=3$) clusters. The existence of two clusters could be explained according to reproductive modes: *Prunus* would mainly host holocyclic genotypes while herbaceous plants would host both holocyclic and anholocyclic forms. The high level of organization ($K=3$) predicted by STRUCTURE is difficult to explain because no obvious pattern is observed in the secondary host. Genetic differentiation between populations with a high percentage of cyclical parthenogens and those consisting mostly of anholocyclic lineages were reported in tobacco-growing regions in Greece (Margaritopoulos, Malarky, et al. 2007). Martinez-Torres et al. (1996) predicted that a different distribution of anholocyclic and holocyclic aphids in populations would result in significant structuring of populations as long as gene flow between the two lineages and migration levels were limited. The little differentiation between samples of *M. persicae* on pepper and herbaceous plants in the same year seems to indicate that herbaceous plants in the vicinity of greenhouses are the most likely source of aphids for pepper crops. F_{ST} -values among pepper and herbaceous plant samples from Campo de Cartagena ranged from 0.001 to 0.017, with lower F_{ST} -values between samples on pepper and herbaceous plants from the same year than between those in different years. The differences between herbaceous plants and pepper found in some years could be due to a founder effect, as populations in greenhouses may be composed of the few lineages that spread from herbaceous plants and *Prunus*.

The significant change observed in the structure of *M. persicae* populations on the secondary hosts from one year to another might be due to a high turn-over of obligate parthenogenetic genotypes surviving the winter, combined with a variation in the contribution of genotypes generated by cyclical parthenogens reproducing sexually in the primary host. Moreover, the changes in the structure of the population found on *Prunus* between years might also be connected with the selection of genotypes in secondary hosts that migrate later to the

primary host. Impoverishment and increased differentiation between summer and autumn populations of *M. persicae* were reported in central and northern France (Guillemaud et al. 2003). Treatment with insecticides may also have a strong impact on the shaping of *M. persicae* population in agroecosystems, selecting genotypes resistant to insecticides (Devonshire et al. 1998).

Overall F_{ST} -values (0.022 ± 0.009) among *Prunus* samples from distant localities in the same year indicate a low degree of population differentiation, possibly due to the homogenisation of populations by the displacement of *M. persicae* over a greater distances than considered in this study (<100 km). In contrast, samples on herbaceous plants showed higher geographical differentiation on the same spatial scale (overall $F_{ST} = 0.040 \pm 0.006$). A higher degree of population homogenization and, therefore, lower population differentiation is expected in cyclical than in obligate parthenogenetic aphid populations due to the migrations of cyclical parthenogens between the primary and secondary host.

5. Conclusions.

Myzus persicae genetic diversity is strongly influenced by the population composition of obligate and cyclical parthenogen forms. The population on the primary host is mainly composed of cyclical parthenogenetic forms (holocycles), while the frequency of holocyclic and anholocyclic on the secondary host depends on the survival of those lineages in winter temperatures. In the southern areas, *M. persicae* populations on the secondary host seem to be composed of a great proportion of obligate parthenogenetic forms, while the extreme winter temperature conditions may act as a major selective factor in the most northern and continental areas. Androcyclic and facultative parthenogenetic forms may contribute to the variability of populations by interbreeding with cyclical parthenogens in the primary host. However,

complementary studies will help determine the contribution of hybridization to the genetic variability of *M. persicae* populations. We found no evidence supporting the specialization of *M. persicae* in any of the families of herbaceous plants in the near environment of pepper greenhouses.

The similarities among samples on pepper and those on other secondary host plants indicate that most of the herbaceous plants in the vicinity of greenhouses are a potential source of aphids for pepper, with possibly some founder effects. The similarities in *Prunus* samples from distant localities indicate significant dispersal movements of the species at regional scale. The greater differentiation among samples on the secondary host plants, compared with the primary host, may be associated to a higher proportion of obligate parthenogens with a lower dispersal capacity on these populations. The temporal variation in the structure of population suggests that some selective factor may be acting upon the *M. persicae* populations on agroecosystems of south-eastern Iberian peninsula. These selective factors shall be taken into account in the next two chapters.

6. Bibliographic references.

- Barker, J. S. F. 2005.** Population structure and host-plant specialization in two *Scaptodrosophila* flower-breeding species. *Heredity*. 94: 129–138.
- De Barro, P. J., T. N. Sherratt, C. P. Brookes, O. David, and N. Maclean. 1995.** Spatial and temporal genetic variation in British field populations of the grain aphid *Sitobion avenae* (F.)(Hemiptera: Aphididae) studied using RAPD-PCR. *Proceedings: Biological Sciences*. 262: 321–327.
- Berlocher, S. H., and J. L. Feder. 2002.** Sympatric speciation in phytophagous insects: Moving beyond controversy? *Annual Review of Entomology*. 47: 773–815.
- Birky, C. W. 1996.** Heterozygosity, heteromorphy, and phylogenetic trees in asexual eukaryotes. *Genetics*. 144: 427–437.
- Blackman, R. L. 1971.** Variation in the photoperiodic response within natural populations of *Myzus persicae* (Sulz.). *Bulletin of Entomological Research*. 60: 533–546.
- Blackman, R. L. 1972.** The inheritance of life-cycle differences in *Myzus persicae* (Sulz.)(Hem., Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*. 62: 281–294.
- Blackman, R. L. 1974.** Life-cycle variation of *Myzus persicae* (Sulz.)(Hom., Aphididae) in different parts of the world, in relation to genotype and environment. *Bulletin of Entomological Research*. 63: 595–607.
- Blackman, R. L. 1987.** Morphological discrimination of a tobacco-feeding form of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), and a key to New World *Myzus* (*Nectarosiphon*) species. *Bulletin of Entomological Research*. 77: 713–730.
- Blackman, R. L., and V. F. Eastop. 2000.** *Aphids on the world's Crops: An Identification and Information Guide*, ed. John Wiley & Sons, Chichester (UK).

- Blackman, R. L., G. Malarky, J. T. Margaritopoulos, and J. A. Tsitsipis. 2007.** Distribution of common genotypes of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in Greece, in relation to life cycle and host plant. *Bulletin of Entomological Research*. 97: 253–263.
- Blackman, R. L., and J. M. Spence. 1992.** Electrophoretic distinction between the peach-potato aphid, *Myzus persicae*, and the tobacco aphid, *M. nicotianae* (Homoptera, Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*. 82: 161–165.
- Del Campo, M. L., and S. Via. 2003.** Recognition of host-specific chemical stimulants in two sympatric host races of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Ecological Entomology*. 28: 405–412.
- Carrol, S. P., and C. Boyd. 1992.** Host race radiation in the soapberry bug natural history with the history. *Evolution*. 46: 1052–1069.
- Cavalli-Sforza, L. L., and A. W. F. Edwards. 1967.** Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics*. 19: 233–257.
- Delmotte, F., N. Leterme, J. Bonhomme, C. Rispe, and J. C. Simon. 2001.** Multiple routes to asexuality in an aphid species. *Proceedings of Royal Society of London*. 268: 2291–2299.
- Delmotte, F., N. Leterme, J. P. Gauthier, C. Rispe, and J. C. Simon. 2002.** Genetic architecture of sexual and asexual populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* based on allozyme and microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11: 711–23.
- Devonshire, A. L., L. M. Field, S. P. Foster, G. D. Moores, M. S. Williamson, and R. L. Blackman. 1998.** The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 353: 1677–1684.
- Edwards, O. R. 2001.** Interspecific and intraspecific variation in the performance of three pest

- aphid species on five grain legume hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 100: 21–30.
- Evanno, G., S. Regnaut, and J. Goudet. 2005.** Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*. 14: 2611–2620.
- Excoffier, L., G. Laval, and S. Schneider. 2005.** Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*. 1: 47–50.
- Feder, J. L., S. H. Berlocher, and S. B. Opp. 1998.** Sympatric host-race formation and speciation in *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae): a tale of two species for Charles D. *In* Mopper, S., Strauss, S.Y. (eds.), *Genetic Structure and Local Adaptation in Natural Insect Populations*. Chapman & Hall, New York (USA), pp. 408–441.
- Fenton, B., J. A. T. Woodford, and G. Malloch. 1998.** Analysis of clonal diversity of the peach–potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), in Scotland, UK and evidence for the existence of a predominant clone. *Molecular Ecology*. 7: 1475–1487.
- Frantz, A., M. Plantegenest, L. Mieuze, and J. C. SIMON. 2006.** Ecological specialization correlates with genotypic differentiation in sympatric host-populations of the pea aphid. *Journal of Evolutionary Biology*. 19: 392–401.
- Fuller, S. J., P. Chavigny, L. Lapchin, and F. Vanlerberghe-Masutti. 1999.** Variation in clonal diversity in glasshouse infestations of the aphid, *Aphis gossypii* Glover in southern France. *Molecular Ecology*. 8: 1867–1877.
- Goudet, J. 2002.** FSTAT, A program to estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices.
- Guillemaud, T., L. Mieuze, and J. C. Simon. 2003.** Spatial and temporal genetic variability in French populations of the peach–potato aphid, *Myzus persicae*. *Heredity*. 91: 143–152.

- Hales, D. F., M. A. Sloane, A. C. C. Wilson, and P. Sunnucks. 2002.** Segregation of autosomes during spermatogenesis in the peach-potato aphid (*Myzus persicae*)(Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Genetical Research*. 79: 119–127.
- Hawthorne, D. J., and S. Via. 2001.** Genetic linkage of ecological specialization and reproductive isolation in pea aphids. *Nature*. 412: 904–907.
- Langella, O. 1999.** Populations, 1.2.30. <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>.
- Malloch, G., F. Highet, L. Kasprowicz, J. Pickup, R. Neilson, and B. Fenton. 2006.** Microsatellite marker analysis of peach-potato aphids (*Myzus persicae*, Homoptera: Aphididae) from Scottish suction traps. *Bulletin of Entomological Research*. 96: 573–582.
- Margaritopoulos, J. T., R. L. Blackman, J. A. Tsitsipis, and L. Sannino. 2003.** Co-existence of different host-adapted forms of the *Myzus persicae* group (Hemiptera: Aphididae) in southern Italy. *Bulletin of Entomological Research*. 93: 131–135.
- Margaritopoulos, J. T., G. Malarky, J. A. Tsitsipis, and R. L. Blackman. 2007.** Microsatellite DNA and behavioural studies provide evidence of host-mediated speciation in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 91: 687–702.
- Margaritopoulos, J. T., Z. Mamuris, and J. A. Tsitsipis. 1998.** Attempted discrimination of *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae* (Homoptera: Aphididae) by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction technique. *Annals of the Entomological Society of America*. 91: 602–607.
- Margaritopoulos, J. T., T. Shigehara, H. Takada, and R. L. Blackman. 2007.** Host-related morphological variation within *Myzus persicae* group (Homoptera: Aphididae) from Japan. *Applied Entomology and Zoology*. 42: 329–335.

- Margaritopoulos, J. T., J. A. Tsitsipis, E. Zintzaras, and R. L. Blackman. 2000.** Host-correlated morphological variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) populations in Greece. *Bulletin of Entomological Research*. 90: 233–244.
- Martinez-Torres, D., R. Carrio, A. Latorre, J. C. Simon, A. Hermoso-de-Mendoza, and A. Moya. 1997.** Assessing the nucleotide diversity of three aphid species by RAPD. *Journal of Evolutionary Biology*. 10: 459–477.
- Martinez-Torres, D., J. C. Simon, A. Fereres, and A. Moya. 1996.** Genetic variation in natural populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* as revealed by maternally inherited markers. *Molecular Ecology*. 5: 659–670.
- Nikolakakis, N. N., J. T. Margaritopoulos, and J. A. Tsitsipis. 2003.** Performance of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) clones on different host-plants and their host preference. *Bulletin of Entomological Research*. 93: 235–242.
- Page, R. D. M. 1996.** Treeview: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*. 12: 357–358.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155: 945–959.
- R Core Team. 2012.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rice, W. R. 1989.** Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*. 43: 223–225.
- Rousset, F. 2008.** GENEPOP' 007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*. 8: 103–106.
- Sanchez, J. A., M. La-Spina, J. M. Michelena, A. Lacasa, and A. Hermoso-de-Mendoza.**

2010. Ecology of the aphid pests of protected pepper crops and their parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*. 21: 171–188.

Simon, J. C., S. Baumann, P. Sunnucks, P. D. N. Hebert, J. S. Pierre, J. F. Le Gallic, and C. A. Dedryver. 1999. Reproductive mode and population genetic structure of the cereal aphid *Sitobion avenae* studied using phenotypic and microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 8: 531–545.

Simon, J. C., S. Carre, M. Boutin, N. Prunier-Leterme, B. Sabater-Muñoz, A. Latorre, and R. Bournoville. 2003. Host-based divergence in populations of the pea aphid: insights from nuclear markers and the prevalence of facultative symbionts. *Proceedings of Royal Society B - Biological Sciences*. 270: 1703–1712.

Sloane, M. A., P. Sunnucks, A. C. C. Wilson, and D. F. Hales. 2001. Microsatellite isolation, linkage group identification and determination of recombination frequency in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer)(Hemiptera: Aphididae). *Genetical Research*. 77: 251–260.

Sunnucks, P., P. J. De Barro, G. Lushai, N. Maclean, and D. Hales. 1997. Genetic structure of an aphid studied using microsatellites: cyclic parthenogenesis, differentiated lineages and host specialization. *Molecular Ecology*. 6: 1059–1073.

Sunnucks, P., P. R. England, A. C. Taylor, and D. F. Hales. 1996. Microsatellite and chromosome evolution of parthenogenetic *Sitobion* aphids in Australia. *Genetics*. 144: 747–756.

Takezaki, N., and M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*. 144: 389–399.

Via, S. 1999. Reproductive isolation between sympatric races of pea aphids. I. Gene flow

- restriction and habitat choice. *Evolution*. 53: 1446–1457.
- Via, S., A. C. Bouck, and S. Skillman. 2000.** Reproductive isolation between divergent races of pea aphids on two hosts. II. Selection against migrants and hybrids in the parental environments. *Evolution*. 54: 1626–1637.
- Via, S., and D. J. Hawthorne. 2002.** The genetic architecture of ecological specialization: Correlated gene effects on host use and habitat choice in pea aphids. *American Entomologist*. 159: 576–588.
- Vorburger, C. 2004.** Cold tolerance in obligate and cyclical parthenogens of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Ecological Entomology*. 29: 498–505.
- Vorburger, C. 2006.** Temporal dynamics of genotypic diversity reveal strong clonal selection in the aphid *Myzus persicae*. *Journal of Evolutionary Biology*. 19: 97–107.
- Vorburger, C., M. Lancaster, and P. Sunnucks. 2003.** Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two “superclones” in Victoria, Australia. *Molecular Ecology*. 12: 3493–3504.
- Vorburger, C., P. Sunnucks, and S. A. Ward. 2003.** Explaining the coexistence of asexuals with their sexual progenitors: no evidence for general-purpose genotypes in obligate parthenogenens of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Ecology Letters*. 6: 1091–1098.
- Weber, G. 1985.** Genetic-variability in host plant adaptation of the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 38: 49–56.
- Weber, G. 1986.** Ecological genetics of host plant exploitation in the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 40: 161–168.
- Weir, B. S., and C. C. Cockerman. 1984.** Estimating F-statistic for the analysis of population

structure. *Evolution*. 38: 1358–1370.

- Wilson, A. C. C., B. Massonnet, J. C. Simon, N. Prunier-Leterme, L. Dolatti, K. S. Llewellyn, C. C. Figueroa, C. C. Ramirez, R. L. Blackman, A. Estoup, and P. Sunnucks. 2004.** Cross-species amplification of microsatellite loci in aphids: assessment and application. *Molecular Ecology Notes*. 4: 104–109.
- Wilson, A. C. C., P. Sunnucks, R. L. Blackman, and D. F. Hales. 2002.** Microsatellite variation in cyclically parthenogenetic populations of *Myzus persicae* in south-eastern Australia. *Heredity*. 88: 258–266.
- Wilson, A. C. C., P. Sunnucks, and D. F. Hales. 1999.** Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion* aphids in New Zealand. *Molecular Ecology*. 8: 1655–1666.
- Zitoudi, K., J. T. Margaritopoulos, Z. Mamuris, and J. A. Tsitsipis. 2001.** Genetic variation in *Myzus persicae* populations associated with host-plant and life cycle category. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 99: 303–311.

Capítulo IV

Variación en los principales parámetros

biológicos entre cuatro clones

de *Myzus persicae*

Capítulo IV

Variación en los principales parámetros biológicos entre cuatro clones de *Myzus persicae*

1. Introducción.

Myzus persicae (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) es el áfido más problemático y abundante del cultivo de pimiento [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] bajo invernadero en el área agrícola del campo de Cartagena. Su problemática se debe en gran medida a que todavía no se han establecido estrategias de control efectivas, mediante el empleo de enemigos naturales y/o de productos químicos, que permitan mantener esta plaga por debajo de los niveles que causan daño a la planta de pimiento. Sanchez et al. (2010) apuntan que el control de *M. persicae* y de otras especies de áfidos en el cultivo de pimiento, se ha basado principalmente en el empleo de productos compatibles con los enemigos naturales, estrategia que lleva asociada el riesgo de aparición de resistencias como ha sucedido en otras zonas del mundo (Moore et al. 1994, Field et al. 1997). Por otro lado la mayor abundancia de *M. persicae* respecto a los otros áfidos plaga de pimiento, se podría explicar por su gran polifagia (Sanchez et al. 2010), y por las condiciones favorables para su multiplicación que se dan en el Campo de Cartagena.

Como ya se ha apuntado en anteriores capítulos, *M. persicae* se caracteriza por tener una variabilidad de ciclos reproductivos que van desde la partenogénesis obligada a la partenogénesis cíclica (Blackman y Eastop 2000). Las condiciones climatológicas del Campo de Cartagena y la amplia distribución de hospedantes primarios y secundarios en la zona, hacen posible que coexistan formas de *M. persicae* con partenogénesis obligada y cíclica. En capítulos anteriores se ha observado, que en el área de estudio del Campo de Cartagena, existen determinados genotipos que están ampliamente distribuidos en el espacio, persistentes en el tiempo y con elevada polifagia. Este no es un hecho singular para este áfido y para esta zona, ya que en otros lugares se han descrito casos similares para *M. persicae* (Fenton et al. 1998, Vorburger et al. 2003,

Zamoum et al. 2005, Blackman et al. 2007, Margaritopoulos et al. 2009, Zepeda-Paulo et al. 2010), *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae) (Peccoud et al. 2008), *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) (Fuller et al. 1999), *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae) (Gilabert et al. 2009) y *Sitobion avenae* (Fabricius) (Hemiptera: Aphididae) (Sunnucks et al. 1996, Wilson et al. 1999, Haack et al. 2000, Llewellyn et al. 2003, Figueroa et al. 2005). Los clones de áfidos que se presentan de manera abundante, con una amplia distribución geográfica y persistencia en el tiempo han recibido el nombre de “superclones”.

Para explicar la amplia distribución geográfica y abundancia de los “superclones”, se han realizado diferentes estudios con el objeto de determinar las posibles causas del éxito de los mismos. En los “superclones” se han observado casos de sensibilidad y de resistencia a insecticidas, que podrían explicar la selección de determinados genotipos (Fenton et al. 1998, Zamoum et al. 2005). Vorburger (2004) encontró cierta variación entre genotipos en su sensibilidad a las bajas temperaturas, pero no halló una mayor supervivencia al frío en los clones mayoritarios. La vulnerabilidad frente al ataque de parasitoides podría ser también uno de los factores responsables de la predominancia de determinados clones en *M. persicae*. (Herzog et al. 2007, von Burg et al. 2008, Gillespie et al. 2009). También se ha observado que algunos genotipos mayoritarios presentan mejores tasas de reproducción, lo que podría explicar su mayor representación en las poblaciones (Foster et al. 2003, Gillespie et al. 2009). Cabe señalar también que se ha observado una relación inversa entre la resistencia a insecticidas y la respuesta a feromonas de alarma, tasas de desarrollo, fecundidad y movilidad de los clones mayoritarios (Foster et al. 1997, 1999, 2000, 2005), por lo que la abundancia de estos clones mayoritarios podría deberse a la combinación de diferentes causas.

Las formas de *M. persicae* que se encuentran en el sureste de la península Ibérica, se han

descrito en el capítulo 2 de esta tesis. Existen un gran número de clones con diferentes modos de reproducción, sin embargo sólo un pequeño número de ellos adquieren la categoría de “superclones”. El factor o factores que intervienen en el éxito de este tipo de superclones en las condiciones de nuestra área de estudio son hasta el momento una incógnita. Parámetros biológicos como el crecimiento y la tasa de reproducción pueden servir para predecir el crecimiento de las poblaciones en el tiempo (Leather y Dixon 1984, Acreman y Dixon 1989). El uso de estos parámetros se ha utilizado en un principio como indicador en los cambios nutricionales de una planta (van Endem 1969), y por este motivo se han empleado para investigar las respuestas de los áfidos a cambios en la calidad de la planta, temperatura, sequía, contaminación, infección de virus e insecticidas (Awmack y Leather 2007). En el control biológico e integrado de plagas el estudio de los parámetros biológicos en áfidos se ha usado para determinar las especies de enemigos naturales y las estrategias de control más adecuadas (Ro et al. 1998). El desarrollo de *M. persicae* y de los áfidos en general está regulado por varios factores bióticos y abióticos, siendo la temperatura uno de los factores físicos más importantes (Campbell et al. 1974, Tamaki et al. 1980).

En el sureste de la península Ibérica según la hipótesis de distribución de ciclos de vida de Blackman (1974) pueden convivir formas anholocíclicas con holocíclicas. Según los resultados de los anteriores capítulos en los cultivos y plantas adventicias del área de estudio abundan las formas anholocíclicas, mientras que en el hospedante primario abundan las formas holocíclicas. La composición de las poblaciones de *M. persicae* se podría deber a las diferentes adaptaciones a la temperatura de los distintos clones que las componen. En *M. persicae* se ha observado una variación clonal en la respuesta a la temperatura (Vorburger 2004). La abundancia y distribución de determinados clones en el sureste de la península Ibérica podría ser debida a la variación de los parámetros biológicos entre clones en relación a la temperatura. Se espera por

un lado que los clones anholocíclicos sean más sensibles a las bajas temperaturas y más tolerantes a las altas que los holocíclicos. El objetivo de este capítulo por lo tanto es analizar y comparar los principales parámetros biológicos, de varios clones con diferente abundancia y modos de reproducción, para determinar hasta que punto la temperatura puede estar influyendo en la abundancia de los mismos. Nuestra hipótesis de partida será que el superclón anholocíclico rojo (clon 1) podría presentar una mejor respuesta a las bajas o altas temperaturas que los clones anholocíclicos verdes.

2. Material y métodos.

2.1. Clones de *Myzus persicae*.

De los clones utilizados para determinar el ciclo reproductivo en el capítulo 2 “Variación clonal de la especie *M. persicae* en el sureste de la península Ibérica”, se escogieron cuatro clones de *M. persicae*, dos anholocíclicos (uno con coloración verde y otro roja), uno holocíclico verde y otro androcíclico verde (Tabla 1). Las colonias se establecieron a partir de una hembra partenogénica colocada en una planta de pimiento (tipo California, variedad Orlando) y mantenida bajo condiciones controladas de temperatura $24 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ de humedad relativa, y un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

Clon	Genotipo	Datos geográficos			Hospedante	Color	Ciclo de vida
		Comarca	Latitud	Longitud			
A	3	Campo de Cartagena	37°50'48,5"N	0°48'27,4"O	Secundario	Verde oscuro	Androcíclico
B	6	Campo de Cartagena	37°46'48,3"N	0°53'51,1"O	Secundario	Verde	Anholocíclico
C	1	Campo de Cartagena	37°51'57,1"N	0°48'1,9"O	Secundario	Rojo	Anholocíclico
D	257	Altiplano	38°23'47,1"N	1°23'4,7"O	Primario	Verde	Holocíclico

Tabla 1. Características de los clones de *Myzus persicae*.

2.2. Características del ensayo.

Se utilizaron un total de 16 ninfas recién emergidas de hembras partenogénicas para cada clon y temperatura. Tras alcanzar las ninfas el estado adulto se cogió su primera ninfa y se colocó en una hoja de pimiento, de la misma variedad de las plantas utilizadas en la cría, con su peciolo sumergido en agua contenida en un tubo de 1,5 ml: las hojas se cambiaban cada siete días. Para impedir la fuga de los áfidos se colocó una caja clip de plástico y muselina en cada hoja. Se realizaron observaciones diarias en cada áfido desde su nacimiento hasta su muerte para determinar los tiempos de duración de cada estadio y el desarrollo ninfal total. Tras cada cambio de estadio se eliminó la muda para evitar errores. Una vez alcanzado el estado adulto se contabilizó la fecundidad diaria y la longevidad de cada individuo. Diariamente se eliminaron las ninfas emergidas de cada hembra. Los ensayos se realizaron a las siguientes temperaturas: 10°C, 15°C, 20°C, 25°C y 30°C \pm 1°C. Las condiciones de humedad fueron de 70 \pm 5%, y las de fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Los ensayos se realizaron en cámaras de crecimiento de plantas Binder KBW720 (Tuttlingen, Alemania).

2.3. Cálculo y análisis de desarrollo, umbrales de desarrollo, reproducción, longevidad y parámetros de la tabla de vida.

Para cada clon y temperatura se obtuvieron los tiempos de desarrollo desde el nacimiento de cada ninfa hasta el nacimiento de su primera ninfa. Los tiempos de desarrollo se compararon con un modelo lineal general del análisis de la varianza (GLM-ANOVA), en el que se transformó la variable dependiente tiempo de desarrollo mediante logaritmo natural $[\ln(x+1)]$ y se introdujeron la temperatura y el clon como factores. La comparación de los tiempos de desarrollo de los diferentes clones se realizó mediante un test de Bonferroni.

Para calcular las constantes térmicas y los umbrales de desarrollo se usó el modelo lineal

[$DT = k + tD$] (Ikemoto y Takai 2000), donde el producto de la duración del desarrollo y la temperatura (DT) se expresa en función de la duración del desarrollo (D). En el modelo “ k ” representa la constante o integral térmica en grados día ($^{\circ}D$) y “ t ” el umbral térmico inferior de desarrollo. Las constantes “ k ” y “ t ” y sus respectivos errores estándar se estimaron mediante regresión lineal para cada clon. Los clones se compararon mediante un GLM-ANOVA en el que el producto $D \cdot T$ era la variable dependiente, el clon un factor y D una covariable. Las observaciones realizadas a $30^{\circ}C$ se excluyeron del análisis, tras una inspección preliminar de los datos, ya que no seguían una tendencia lineal con los demás valores.

La fecundidad total se comparó entre clones con un GLM-ANOVA, en el que la fecundidad total fue introducida como variable dependiente y la temperatura y el clon como variables independientes. Para determinar las diferencias entre las medias se usó un test de Bonferroni.

A partir de los datos de mortalidad se definieron las curvas de supervivencia mediante un análisis de Kaplan Meier. Para observar las diferencias entre clones para cada temperatura se hizo un test χ^2 en una comparación de modelos simplificados.

Se calcularon los parámetros de las tablas de vida para cada clon. La tasa intrínseca de crecimiento natural (r_m), se obtuvo usando la ecuación $\sum l_x m_x e^{-r_m x} = 1$ (Lotka 1907, 1913 en (Krebs 1985)). Además se calcularon la tasa neta de reproducción ($R_o = \sum l_x m_x$) que es el número de hembras nacidas por hembra; el tiempo medio de generación $\left(G = \frac{\sum x l_x m_x}{R_o} \right)$; la capacidad finita de crecimiento ($\lambda = e^{r_m}$); y el tiempo de duplicación de la población ($D = \ln 2 / r_m$). En todas estas ecuaciones x es la edad de los áfidos; l_x es la proporción de hembras vivas a una determinada edad x y m_x es el número de ninfas producidas por cada áfido

vivo en la edad x . El “sex ratio” es 1:0, ya que en este caso *M. persicae* se reproduce de forma partenogenética y sólo pare hembras. Para comparar la tasa intrínseca de crecimiento natural r_m de cada clon a cada temperatura se utilizó un método de la estimación de la varianza por “jackknife” y un análisis de la varianza no paramétrico Kruskal-Wallis debido a que la distribución de los datos no seguía una distribución normal. Se establecieron diferencias entre los valores de r_m mediante un método de comparaciones múltiples (Siegel y Castellan 1988).

Todos los análisis se realizaron usando el programa estadístico R v. 2.15.2 (R Core Team 2012).

3. Resultados.

En los tiempos de desarrollo, se puede observar como se produjo un descenso exponencial en el tiempo de desarrollo entre los 10 y los 20°C, pasando de tiempos de desarrollo de los aproximadamente 30 días a 10°C, a los 8 días a 20°C (Tabla 2). Entre los 20°C y los 30 °C hubo un ligero descenso en los tiempos de desarrollo, teniendo lugar un ligero incremento a 30°C. Se observaron diferencias significativas entre las cinco temperaturas ($F=897,121$; g.l.=4, 290; $P<0,001$), mientras que no se detectaron diferencias significativas ni entre los clones ($F=1,024$; g.l.=3, 290; $P=0,382$) ni en la interacción entre los factores clon y temperatura ($F=0,368$; g.l.=12, 290; $P=0,974$). La constante térmica (k) y el umbral térmico inferior fue muy similar en todos los clones analizados, estando la primera alrededor de los 115°D y el segundo alrededor de los 6°C (Tabla 3). No se observaron diferencias significativas entre los cuatro clones ($F=0,513$; g.l.=3, 241; $P=0,674$). Los modelos lineales que explican la relación entre el producto de la duración del desarrollo y la temperatura (DT) y la duración del desarrollo (D) se ajustaron bien a los datos experimentales en los cuatro clones (Tabla 3).

Temperatura (°C)	A	B	C	D
10 (a)	30,21 ± 1,87	29,21 ± 1,51	28,60 ± 1,28	28,72 ± 1,79
15 (b)	12,93 ± 0,34	13,25 ± 0,44	13,06 ± 0,33	12,75 ± 0,41
20 (c)	8,00 ± 0,12	8,12 ± 0,15	7,87 ± 0,20	8,18 ± 0,16
25 (c)	6,87 ± 0,15	7,12 ± 0,20	6,81 ± 0,18	6,75 ± 0,17
30 (c)	8,93 ± 0,37	9,93 ± 0,59	9,00 ± 0,39	9,37 ± 0,47

Tabla 2. Tiempos de desarrollo en días de los cuatro clones (notación Tabla 1) de *Myzus persicae*.

	A	B	C	D
<i>k</i> (°D)	113,17 ± 6,48	119,76 ± 4,22	116,36 ± 3,75	116,12 ± 3,85
<i>t</i> (°C)	6,48 ± 0,22	6,12 ± 0,25	6,12 ± 0,23	6,18 ± 0,25
r ²	0,934	0,906	0,921	0,913
F	849,9	580,3	723,7	606,3
g.l.	1, 60	1, 60	1, 61	1, 57
P-valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Tabla 3. Constante térmica (*k*) y umbral térmico inferior (*t*) de los cuatro clones (notación Tabla 1) de *Myzus persicae*.

Temperatura (°C)	A	B	C	D
10	36,44 ± 3,23 (a)	33,55 ± 2,34 (a)	39,08 ± 3,05 (a)	33,00 ± 3,50 (a)
15	80,93 ± 1,79 (a)	78,42 ± 2,24 (a)	79,62 ± 2,40 (a)	75,93 ± 2,34 (a)
20	84,26 ± 2,01 (a)	82,46 ± 2,37 (a)	67,37 ± 3,18 (b)	71,33 ± 2,92 (b)
25	75,53 ± 3,05 (a)	77,50 ± 2,43 (a)	86,81 ± 2,37 (b)	70,37 ± 2,30 (a)
30	2,56 ± 0,56 (a)	1,31 ± 0,36 (a)	6,50 ± 0,61 (b)	2,18 ± 0,60 (a)

Tabla 4. Fecundidad total por hembra de los cuatro clones (notación Tabla 1) de *Myzus persicae*.

En lo referente a la fecundidad diaria, los cuatro clones estudiados presentaron un patrón muy similar de reproducción, alcanzando el máximo de descendencia diaria durante los primeros

días de vida del adulto y descendiendo de una forma lineal hasta el fin del estado reproductivo (Figura 1). La descendencia diaria máxima fue aumentando con la temperatura, desde las 1,5 ninfas por hembra alcanzadas el día 13 a 10°C, hasta las 7,31 ninfas por hembra, alcanzadas el día 5 a 25°C. Los niveles de descendencia diaria son casi nulos a 30°C. La duración del periodo reproductivo desciende con el tiempo desde los 75 días a 10°C hasta los 10 días a 30°C. En cuanto a la fecundidad total se observó, en general, una duplicación de 10 a 15°C (de 35 a 80 ninfas por hembra), se mantuvo estable entre los 15 y los 25°C, y descendió hasta valores de 5 – 10 ninfas por hembra a 30°C (Tabla 4). Los factores clon y temperatura así como la interacción entre ambos fueron significativas (Clon: $F=3,459$; g.l.=3, 263; $P<0,05$; Temperatura: $F=949,940$; g.l.=4, 263; $P<0,001$; Interacción: $F=5,339$; g.l.=12, 263; $P<0,001$). El clon rojo anholocíclico (C) presentó una fecundidad total significativamente mayor que los demás clones para temperaturas superiores a 25°C. A 20°C el clon anholocíclico verde (B) y el androcíclico (A) tuvieron fecundidades mayores que el anholocíclico rojo (C). Los clones verdes A, B y D presentaron fecundidades similares a 10, 15, 20 y 30°C. No hubo diferencias significativas entre las fecundidades de los clones analizados a 10 y 15°C.

La supervivencia de las hembras (Figura 1) empezó a descender a los 60-90 días a 10°C, a los 60-80 días a 15°C, a los 50-60 días a 20°C, a los 30-40 días a 25°C y a los 20 días a 30°C. El descenso de la supervivencia fue más acusado para temperaturas superiores a 20°C y más suave para las temperaturas inferiores. El patrón de supervivencia de los cuatro clones estudiados fue muy parecido, aunque se encontraron diferencias significativas entre clones a 15°C ($\chi^2=42$; g.l.=3; $P<0,001$), 25°C ($\chi^2=15,3$; g.l.=3; $P<0,05$) y 30°C ($\chi^2=11,5$; g.l.=3; $P<0,05$), pero no a 10°C ($\chi^2=2,7$; g.l.=3; $P=0,448$) y 20°C ($\chi^2=6,1$; g.l.=3; $P=0,107$). El clon C fue más longevo que el resto de los clones a 15 y 30°C. Los clones verdes (A, B y D) presentaron longevidades similares salvo a 15 y 25°C en las que el holocíclico (D) fue más longevo que el androcíclico (A).

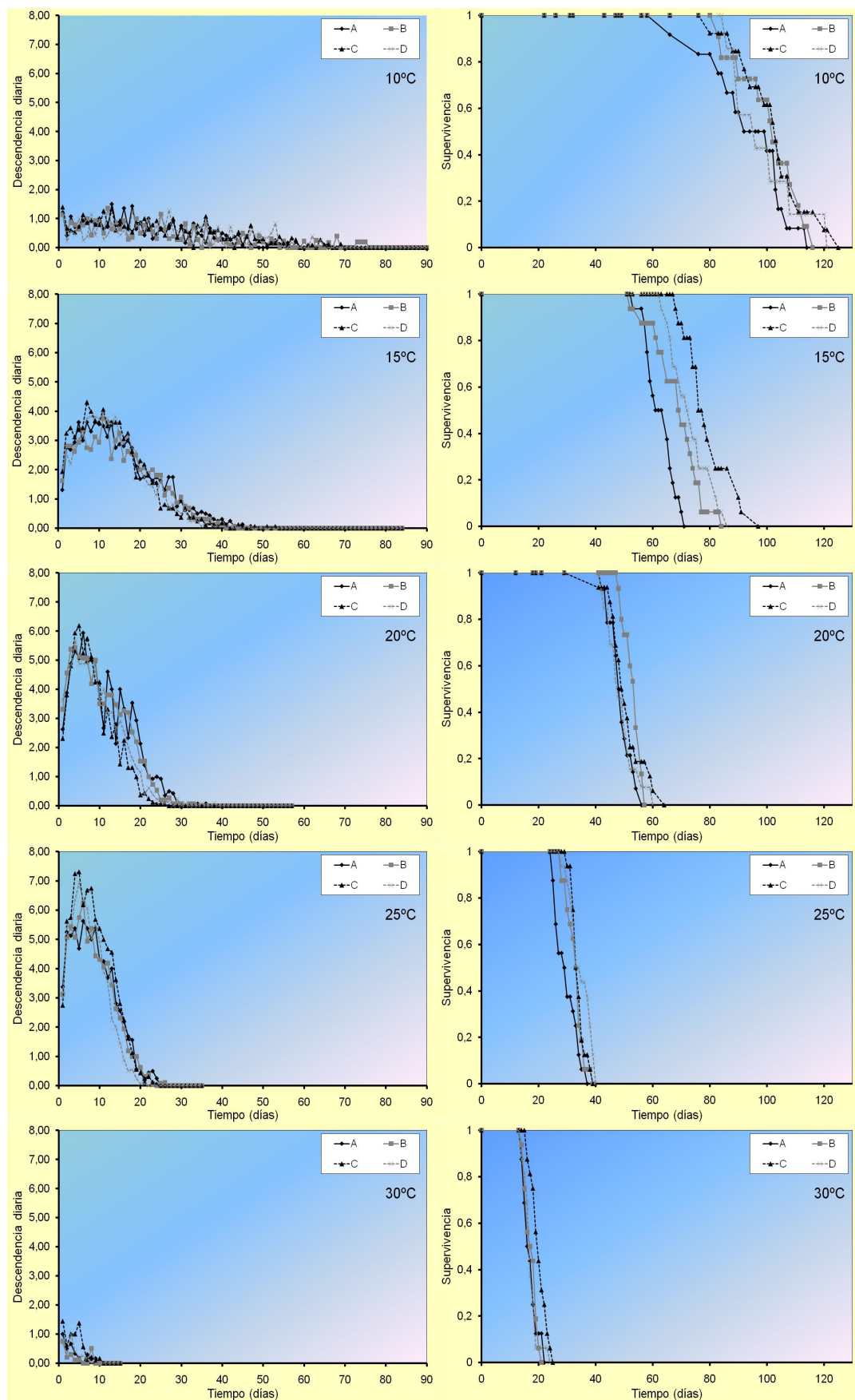


Figura 1. Curvas de reproducción y supervivencia en cuatro clones (Tabla 1) de *Myzus persicae*.

Las tasas intrínsecas de crecimiento natural (r_m) de los cuatro clones aumentaron con la temperatura desde los 0,075 a 10°C a 0,356 a 25°C (Tabla 5). Entre los 25 y los 30°C se produjo un descenso brusco del r_m de los cuatro clones estudiados. Para cada temperatura los clones tuvieron valores similares de r_m , sin embargo el efecto del factor clon fue significativo en todas las temperaturas analizadas: a 10°C (KW=8,48; g.l.=3; P<0,05); a 15°C (KW=8,37; g.l.=3; P<0,05); a 20°C (KW=17,47; g.l.=3; P<0,001); a 25°C (KW=33,82; g.l.=3; P<0,001) y a 30°C (KW=15,36; g.l.=3; P<0,05). Entre los dos clones anholocíclicos estudiados a temperaturas superiores a 20°C, el clon rojo presentó una r_m significativamente diferente y mayor a la del clon verde. Tras analizar las comparaciones múltiples, el clon androcíclico verde (A) presentó una r_m significativamente diferente y mayor que el clon anholocíclico verde (B) para temperaturas superiores a los 15°C. El clon anholocíclico rojo (C) presentó una r_m significativamente diferente y mayor que el clon anholocíclico verde (B) a partir de los 20°C. En todas las temperaturas no hubo diferencias entre el clon androcíclico (A) y el clon anholocíclico rojo (C); tampoco se observaron diferencias entre el androcíclico verde (A) y el holocíclico (D). La capacidad finita de crecimiento (λ) aumentó entre los 10°C y los 25°C, y descendió hasta valores similares a los de 10°C a 30°C (Tabla 5). El tiempo medio de generación (G) decreció exponencialmente de 50 a 10 días entre los 10°C y 30°C (Tabla 5). El tiempo que tarda en duplicarse la población (D) disminuyó de los 10 días a 10°C hasta los 2 – 5 días en el resto de las temperaturas. A 30°C se observaron valores de D similares a los de 10°C, con la excepción del clon verde anholocíclico B donde D ascendió a 30 días (Tabla 5). Por último, la tasa neta de reproducción (R_o) se duplicó entre 10°C (30 hembras / hembra) y 15°C (80 hembras / hembra), entre 15°C y 25°C permaneció estable y a 30°C decreció hasta valores inferiores a 5 hembras / hembra. Para la R_o observamos varias diferencias entre clones a 20°C y 25°C; a 20°C el R_o de los clones C y D fue de 10 hembras menor que los clones A y B; a 25°C el clon rojo (C) tuvo una R_o más alta que el resto de

los clones (aproximadamente mayor en 15 hembras / hembra) (Tabla 5).

Temperatura (°C)	Colonia	N	Ro	G	D	r_m	λ
10	A	14	30,14	49,25	9,25	0,0749 ± 0,0065 (ab)	1,078
	B	14	25,79	50,36	9,68	0,0749 ± 0,0044 (ab)	1,074
	C	15	33,27	50,61	8,83	0,0786 ± 0,0051 (a)	1,082
	D	9	23,78	54,88	10,85	0,0650 ± 0,0079 (b)	1,066
15	A	16	79,19	26,88	3,55	0,1956 ± 0,0060 (a)	1,216
	B	16	74,50	27,51	3,77	0,1855 ± 0,0044 (b)	1,202
	C	16	79,63	26,12	3,60	0,1928 ± 0,0058 (ab)	1,212
	D	16	75,94	25,37	3,52	0,1969 ± 0,0065 (a)	1,217
20	A	16	80,50	17,55	2,28	0,3044 ± 0,0073 (a)	1,356
	B	16	80,13	17,87	2,41	0,2879 ± 0,0072 (b)	1,334
	C	16	67,38	15,35	2,27	0,3055 ± 0,0070 (a)	1,357
	D	16	69,19	16,75	2,42	0,2867 ± 0,0094 (b)	1,332
25	A	16	74,06	14,47	2,01	0,3448 ± 0,0080 (a)	1,412
	B	16	73,00	15,33	2,20	0,3150 ± 0,0091 (b)	1,370
	C	16	86,81	14,33	1,95	0,3557 ± 0,0060 (a)	1,426
	D	16	70,38	13,30	1,98	0,3505 ± 0,0082 (a)	1,420
30	A	16	2,56	10,83	8,59	0,0828 ± 0,0405 (ab)	1,084
	B	16	1,31	11,38	31,44	0,0249 ± 0,0488 (b)	1,022
	C	16	6,50	12,71	4,97	0,1404 ± 0,0140 (a)	1,150
	D	16	2,19	11,69	11,16	0,0651 ± 0,0469 (b)	1,064

Tabla 5. Parámetros de tabla de vida de los clones (notación Tabla 1) de *Myzus persicae*. N: número de individuos; Ro: Tasa neta de reproducción; G: Tiempo medio de generación; D: Tiempo de duplicación; r_m : Tasa intrínseca de crecimiento natural; λ : Capacidad finita de crecimiento.

4. Discusión.

Para el desarrollo y los umbrales de desarrollo no se encontraron diferencias entre los cuatro clones de *M. persicae* estudiados. En cambio, para la fecundidad, la supervivencia y la tasa intrínseca de crecimiento natural, si que se detectaron diferencias entre los clones. A

temperaturas altas ($>25^{\circ}\text{C}$) el clon C (rojo anholocíclico), presentó una fecundidad más alta, que los demás clones, mientras que a temperaturas bajas ($<20^{\circ}\text{C}$) los clones verdes anholocíclico (B) y androcíclico (A) presentaron una fecundidad mayor o igual que el anholocíclico rojo (C). El clon rojo anholocíclico (C) presentó en general una longevidad mayor que los demás clones, y el androcíclico verde (A) la menor longevidad de entre los clones estudiados. Entre los clones anholocíclicos el verde (B) presentó unas tasas intrínsecas de crecimiento natural (r_m) inferiores al rojo (C) a temperaturas superiores a 20°C , mientras que el androcíclico (A) tuvo una r_m más alta que el anholocíclico verde (B) a temperaturas superiores a 15°C . En líneas generales se observó que el clon rojo (C) toleró mejor temperaturas superiores a 25°C , que los demás clones, teniendo mayor longevidad, fecundidad y r_m que los demás clones; a temperaturas inferiores a 25°C los clones A, B y D respondieron mejor que el clon C. Destacaron, por un lado la corta longevidad del clon androcíclico (A) y su mayor fecundidad respecto al clon verde anholocíclico (B), y por otro lado la práctica inexistencia de diferencias en la longevidad y fecundidad, entre el clon holocíclico verde (D) y los otros clones verdes (A y B).

No hubo diferencias entre los clones de *M. persicae* para los tiempos de desarrollo a ninguna de las temperaturas ensayadas. Estos resultados concuerdan con los trabajos realizados por Hazell et al. (2010), quienes no encontraron diferencias en el tiempo de desarrollo de clones provenientes de diferentes puntos de Europa. En otros estudios si se encontraron diferencias en las tasas de desarrollo de diferentes formas de *M. persicae*. Reed y Semtner (1991), encontraron dos fenotipos con diferente coloración que mostraban diferencias en las tasas de desarrollo a 20°C . Por otro lado, en patata Tamaki et al. (1982) estudiaron clones holocíclicos y anholocíclicos y observaron que los primeros se desarrollaron más rápidamente a bajas temperaturas. Los tiempos de desarrollo observados en este trabajo son similares a los encontrados por otros autores (DeLoach 1974, El Din 1976, Reed y Semtner 1991, Ohta y

Ohtaishi 2002), con la excepción de los tiempos de desarrollo hallados en pimiento por Vasicek et al. (2001) a 10°C que fueron de 16,5 días.

Los clones anholocíclicos y holocíclicos estudiados presentaron la misma temperatura umbral térmico inferior, alrededor de los 6°C, por lo que de este trabajo no podemos concluir que las formas anholocíclicas presenten una mejor tolerancia a las bajas temperaturas que las formas holocíclicas. El Campo de Cartagena presenta un régimen de temperaturas invernales entre 10 y 12°C de media, con temperaturas mínimas superiores a los 2°C (Conesa García 1990). Este régimen de temperaturas benévolo permite el desarrollo de los cuatro clones durante el invierno. El valor de 6°C como umbral térmico mínimo es ligeramente superior a los determinados en otros estudios para *M. persicae*, donde se citan valores dentro del rango de los 2 y 5°C (Whalon y Smilowitz 1977, Pozarowska 1987, Ohta y Ohtaishi 2002, Cividanes y Souza 2003, Davis et al. 2006); las diferencias entre los umbrales térmicos obtenidos en el presente trabajo y los de otros autores podrían ser debidas al diferente origen geográfico de los clones usados en los ensayos.

El clon anholocíclico rojo (C) presentó mayores fecundidades a temperaturas superiores a 25°C. Los valores de fecundidad encontrados en el presente estudio son mayores que los citados por otros autores que van de las 30 ninfas a las 50 ninfas, para temperaturas de 20 y 25°C (McLeod et al. 1991, Reed y Semtner 1991, Fragoyiannis et al. 1998, Ohta y Ohtaishi 2002, Nikolakakis et al. 2003), y similares a los de Fernandez-Quintanilla et al. (2002) y Kaydan et al. (2006). Estas diferencias pueden ser debidas al hospedante, ya que en nuestro caso se usó pimiento y en los demás casos otras especies vegetales. La mayor fecundidad del clon anholocíclico rojo (C) a temperaturas altas podría explicar, al menos en parte la abundancia de este clon en los invernaderos del Campo de Cartagena y en la vegetación del entorno de los mismos. Hay que recordar que el clon C corresponde al superclón rojo descrito en el capítulo II

de esta tesis doctoral. Dentro de los invernaderos las temperaturas medias primaverales se encuentran con frecuencia por encima de los 25°C (Sanchez et al. 2000), lo que hace que el clon C tenga unas tasas de multiplicación más altas que otros clones. Con el paso del tiempo el clon C podría haber llegado a convertirse en el clon mayoritario dentro de los invernaderos, desde donde se podría haber dispersado a la vegetación del entorno de los mismos. Fuera de los invernaderos las temperaturas son más bajas que en el interior, con lo cual se esperan diferencias menos pronunciadas en la multiplicación de los diferentes clones. Entre los dos clones anholocíclicos analizados la forma roja (C) es la que tiene una fecundidad más alta, hecho que también ha sido observado por otros autores en otros clones, Reed y Semtner (1991) encontraron que las formas rojas tenían una fecundidad más alta que las formas verdes. No obstante, la similitud en el color puede no estar asociada con el parentesco entre clones. Tamaki et al. (1982) hallaron también diferencias entre clones anholocíclicos y holocíclicos de *M. persicae*, presentando los primeros también fecundidades más altas.

Las curvas de supervivencia de los cuatro clones de *M. persicae* estudiados son muy similares, aunque destaca la mayor longevidad del clon anholocíclico rojo (C) a 30°C. Esto indica que este clon podría ser capaz de sobrevivir a temperaturas altas de una forma mejor que los otros clones analizados. Las curvas de supervivencia obtenidas en el presente trabajo son similares a las obtenidas por otros autores (Ohta y Ohtaishi 2002, Kaydan et al. 2006). En los invernaderos del Campo de Cartagena en verano se alcanzan temperaturas en el rango de los 22 – 35°C (Sanchez et al. 2000), por lo que los clones que presenten una mejor respuesta a temperaturas extremas tendrán más opciones de sobrevivir dentro de los invernaderos a los picos de temperaturas estivales. El incremento de las temperaturas puede afectar a la abundancia de determinadas plagas reduciendo los tiempos de generación, modificando la relación con los depredadores y cambiando la distribución de áfidos y depredadores (Davis et al. 2006). Las

temperaturas altas podrían seleccionar aquellos clones con mejor capacidad para sobrevivir a altas temperaturas.

Para la tasa intrínseca de crecimiento y los otros parámetros de la tabla de vida, observamos que a temperaturas superiores a 20°C el clon anholocíclico rojo (C) presenta una r_m más alta que el anholocíclico verde (B) del Campo de Cartagena. Los resultados de la r_m obtenidos en el presente trabajo son similares a los obtenidos a 15°C por Ohta y Ohtaishi (2002), a 20°C por Nikolakakis et al. (2003), Davis et al. (2006) y Davis y Radcliffe (2008), y a 25°C por Culliney y Pimentel (1985), Fragoyiannis et al. (1998) y Kaydan et al. (2006). En cambio los resultados obtenidos en los clones estudiados son inferiores a los hallados a la temperatura de 10°C por Vasicek et al. (2001) (0,095), a 20°C, 25°C y 30°C por Ohta y Ohtaishi (2002) (0,333; 0,420; 0,290 respectivamente). Por otro lado, las r_m obtenidas son superiores a las obtenidas a 15°C, 20°C y 25°C por Cividanes y Souza (2003) (0,156; 0,188; 0,224 respectivamente). Las diferencias entre las r_m pueden ser debidas a la variabilidad existente entre los clones de *M. persicae* y/o al hospedante sobre el cual se han realizado los ensayos. En el caso del pimiento a 20°C las r_m obtenidas son parecidas a las de Nikolakakis et al. (2003) e inferiores a las obtenidas por Vasicek et al. (2001) a 10°C. Las mayores tasas de crecimiento de las poblaciones del clon rojo a temperaturas por encima de 20°C podrían explicar, al menos en parte, la predominancia de este clon en los invernaderos. Las diferencias en las tasas de crecimiento entre formas anholocíclicas y holocíclicas también han sido observadas por otros autores (Ohta y Ohtaishi 2002, Kaydan et al. 2006).

5. Conclusiones.

La temperatura influye altamente en los tiempos de desarrollo, fertilidad, longevidad y r_m de diferentes clones de *M. persicae*. Entre los dos clones anholocíclicos estudiados el de coloración roja es el que mejor respuesta tiene a las altas temperaturas, presentando mayor fecundidad, longevidad y r_m que los demás clones ensayados. Las temperaturas invernales del Campo de Cartagena son suaves y permiten la supervivencia de las formas anholocíclicas. En los invernaderos de pimiento presentes en esta zona el régimen de temperaturas veraniegas (25 – 35°C) es más favorable al clon anholocíclico rojo que al resto de los clones ensayados, lo que podría explicar, al menos en parte su abundancia en este cultivo. No obstante, las diferencias observadas en los parámetros biológicos entre clones no explican totalmente la gran abundancia y la distribución geográfica de este superclón rojo en el Campo de Cartagena y en otras zonas del sureste de la península Ibérica. Las diferencias en la abundancia y distribución de los diferentes clones habría que buscarlas en la respuesta de los mismos en relación a otros factores, como por ejemplo la vulnerabilidad frente a enemigos naturales.

6. Referencias bibliográficas.

- Acreman, S. J., y A. F. G. Dixon. 1989.** The effects of temperature and host quality on the rate of increase of the grain aphid (*Sitobion avenae*) on wheat. *Annals of Applied Biology*. 115: 3–9.
- Awmack, C. S., y S. R. Leather. 2007.** Growth and Development. *In* van Emden, H.F., Harrington, R. (eds.), *Aphids as Crop Pests*. CAB International, Wallingford (UK), pp. 135–151.
- Blackman, R. L. 1974.** Life-cycle variation of *Myzus persicae* (Sulz.)(Hom., Aphididae) in different parts of the world, in relation to genotype and environment. *Bulletin of Entomological Research*. 63: 595–607.
- Blackman, R. L., y V. F. Eastop. 2000.** *Aphids on the world's Crops: An Identification and Information Guide*, ed. John Wiley & Sons, Chichester (UK).
- Blackman, R. L., G. Malarky, J. T. Margaritopoulos, y J. A. Tsitsipis. 2007.** Distribution of common genotypes of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in Greece, in relation to life cycle and host plant. *Bulletin of Entomological Research*. 97: 253–263.
- Von Burg, S., J. Ferrari, C. B. Müller, y C. Vorburger. 2008.** Genetic variation and covariation of susceptibility to parasitoids in the aphid *Myzus persicae*: no evidence for trade-offs. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 275: 1089–1094.
- Campbell, A., B. D. Frazer, N. Gilbert, A. P. Gutierrez, y M. Mackauer. 1974.** Temperature requirements of some aphids and their parasites. *Journal of Applied Ecology*. 11: 431–438.
- Cividanes, F. J., y V. P. Souza. 2003.** Exigências térmicas e tabelas de vida de fertilidade de *Myzus persicae* (Sulzer)(Hemiptera: Aphididae) em laboratório. *Neotropical Entomology*.

32: 413–419.

Conesa Garcia, C. 1990. El Campo de Cartagena: Clima e hidrología de un medio semiárido.

Edit.um, Murcia (España).

Culliney, T. W., y D. Pimentel. 1985. The intrinsic rate of natural increase of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer)(Homoptera: Aphididae), on collards (*Brassica oleracea* L.).

Canadian Entomologist. 117: 1147–1149.

Davis, J. A., y E. B. Radcliffe. 2008. Reproduction and feeding behavior of *Myzus persicae* on four cereals. Journal of Economic Entomology. 101: 9–16.

Davis, J. A., E. B. Radcliffe, y D. W. Ragsdale. 2006. Effects of high and fluctuating temperatures on *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). Environmental Entomology. 35: 1461–1468.

DeLoach, C. J. 1974. Rate of increase of Populations of Cabbage, Green peach, Turnip Aphids at Constant Temperatures. Annals of the Entomological Society of America. 67: 332–340.

El Din, N. S. 1976. Effects of temperature on the aphid, *Myzus persicae* (Sulz.), with special reference to critically low and high temperature. Zeitschrift für Angewandte Entomologie. 80: 7–14.

Van Endem, H. F. 1969. Plant resistance to *Myzus persicae* induced by a plant regulator and measured by aphid relative growth rate. Entomologia Experimentalis et Applicata. 12: 125–131.

Fenton, B., J. A. T. Woodford, y G. Malloch. 1998. Analysis of clonal diversity of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), in Scotland, UK and evidence for the existence of a predominant clone. Molecular Ecology. 7: 1475–1487.

- Field, L. M., A. P. Anderson, I. Denholm, S. P. Foster, Z. K. Harling, N. Javed, D. Martinez-Torres, G. D. Moores, M. S. Williamson, y A. L. Devonshire. 1997.** Use of biochemical and DNA diagnostics for characterising multiple mechanisms of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pesticide Science*. 51: 283–289.
- Figuerola, C. C., J. C. Simon, J. F. Le Gallic, N. Prunier-Leterme, L. M. Briones, C. A. Dedryver, y H. M. Niemeyer. 2005.** Genetic structure and clonal diversity of an introduced pest in Chile, the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Heredity*. 95: 24–33.
- Foster, S. P., I. Denholm, y A. L. Devonshire. 2000.** The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the UK. *Crop Protection*. 19: 873–879.
- Foster, S. P., I. Denholm, R. Thompson, G. M. Poppy, y W. Powell. 2005.** Reduced response of insecticide-resistant aphids and attraction of parasitoids to aphid alarm pheromone; a potential fitness trade-off. *Bulletin of Entomological Research*. 95: 37–46.
- Foster, S. P., R. Harrington, A. L. Devonshire, I. Denholm, S. J. Clark, y M. A. Mugglestone. 1997.** Evidence for a possible fitness trade-off between insecticide resistance and the low temperature movement that is essential for survival of UK populations of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*. 87: 573–580.
- Foster, S. P., N. B. Kift, J. Baverstock, S. Sime, K. Reynolds, J. E. Jones, R. Thompson, y G. M. Tatchell. 2003.** Association of MACE-based insecticide resistance in *Myzus persicae* with reproductive rate, response to alarm pheromone and vulnerability to attack by *Aphidius*. *Pest Management Science*. 59: 1169–1178.
- Foster, S. P., C. M. Woodcock, M. S. Williamson, A. L. Devonshire, I. Denholm, y R. Thompson. 1999.** Reduced alarm response by peach-potato aphids, *Myzus persicae*

(Hemiptera: Aphididae), with knock-down resistance to insecticides (kdr) may impose a fitness cost through increased vulnerability to natural enemies. *Bulletin of Entomological Research*. 89: 133–138.

Fragoyiannis, D. A., R. McKinlay, y J. P. F. D’Mello. 1998. Studies of the growth, development and reproductive performance of the aphid shape *Myzus persicae* on artificial diets containing potato glycoalkaloids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 88: 59–66.

Fuller, S. J., P. Chavigny, L. Lapchin, y F. Vanlerberghe-Masutti. 1999. Variation in clonal diversity in glasshouse infestations of the aphid, *Aphis gossypii* Glover in southern France. *Molecular Ecology*. 8: 1867–1877.

Gilbert, A., J. C. Simon, L. Mieuzet, F. Halkett, S. Stoeckel, M. Plantegenest, y C. A. Dedryver. 2009. Climate and agricultural context shape reproductive mode variation in an aphid crop pest. *Molecular Ecology*. 18: 3050–3061.

Gillespie, D. R., D. J. M. Quiring, R. G. Footitt, S. P. Foster, y S. Acheampong. 2009. Implications of phenotypic variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) for biological control on greenhouse pepper plants. *Journal of Applied Entomology*. 133: 505–511.

Haack, L., J. C. Simon, J. P. Gauthier, M. Plantegenest, y C. A. Dedryver. 2000. Evidence for predominant clones in a cyclically parthenogenetic organism provided by combined demographic and genetic analyses. *Molecular Ecology*. 9: 2055–2066.

Hazell, S. P., B. P. Neve, C. Groutides, A. E. Douglas, T. M. Blackburn, y J. S. Bale. 2010. Hyperthermic aphids: insights into behaviour and mortality. *Journal of Insect Physiology*. 56: 123–131.

- Herzog, J., C. B. Müller, y C. Vorburger. 2007.** Strong parasitoid-mediated selection in experimental populations of aphids. *Biology Letters*. 3: 667–669.
- Ikemoto, T., y K. Takai. 2000.** A new linearized formula for the law of total effective temperature and the evaluation of line-fitting methods with both variables subject to error. *Environmental Entomology*. 29: 671–682.
- Kaydan, M. B., R. Atlihan, y S. Toros. 2006.** Effects of Tobacco Varieties on Eidonomy and Life table parameters of the Aphid Species *Myzus persicae*. *Entomol Gener*. 29: 61–70.
- Krebs, J. C. 1985.** *Ecología*. Piramide, Madrid (España).
- Leather, S. R., y A. F. G. Dixon. 1984.** Aphid growth and reproductive rates. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 35: 137–140.
- Llewellyn, K. S., H. D. Loxdale, R. Harrington, C. P. Brookes, S. J. Clark, y P. Sunnucks. 2003.** Migration and genetic structure of the grain aphid (*Sitobion avenae*) in Britain related to climate and clonal fluctuation as revealed using microsatellites. *Molecular Ecology*. 12: 21–34.
- Margaritopoulos, J. T., L. Kasprovicz, G. Malloch, y B. Fenton. 2009.** Tracking the global dispersal of a cosmopolitan insect pest, the peach potato aphid. *BMC Ecology*. 9: 13.
- McLeod, P., T. E. Morelock, y M. J. Goode. 1991.** Preference, developmental time, adult longevity and fecundity of green peach aphid (Homoptera: Aphididae) on spinach. *Journal of Entomological Science*. 26: 95–98.
- Moores, G. D., G. J. Devine, y A. L. Devonshire. 1994.** Insecticide-insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase-based resistance in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 49: 114–120.

- Nikolakakis, N. N., J. T. Margaritopoulos, y J. A. Tsitsipis. 2003.** Performance of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) clones on different host-plants and their host preference. *Bulletin of Entomological Research*. 93: 235–242.
- Ohta, I., y M. Ohtaishi. 2002.** Life History Parameters of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) Reared on Qing-geng-cai at Four Constant Temperatures. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*. 46: 259–261.
- Peccoud, J., C. C. Figueroa, A. Silva, C. C. Ramirez, L. Mieuzet, J. Bonhomme, S. Stoeckel, M. Plantegenest, y J. C. Simon. 2008.** Host range expansion of an introduced insect pest through multiple colonizations of specialized clones. *Molecular Ecology*. 17: 4608–4618.
- Pozarowska, B. J. 1987.** Studies on low temperature survival, reproduction and development in Scottish clones of *Myzus persicae* (Sulzer) and *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae) susceptible and resistant to organophosphates. *Bulletin of Entomological Research*. 77: 123–134.
- R Core Team. 2012.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Reed, D. T., y P. J. Semtner. 1991.** Influence of Temperature on Population Development of Two Color Morphs of the Tobacco Aphid (Homoptera: Aphididae) on Flue-Cured Tobacco. *Journal of Entomological Science*. 26: 33–38.
- Ro, T. H., G. E. Long, y H. H. Toba. 1998.** Predicting phenology of green peach aphid (Homoptera: Aphididae) using degree-days. *Environmental Entomology*. 27: 337–343.
- Sanchez, J. A., A. Alcazar, A. Lacasa, A. Llamas, y P. Bielza. 2000.** Integrated pest management strategies in sweet pepper plastic houses in the Southeast of Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*. 23: 21–30.

- Sanchez, J. A., M. La-Spina, J. M. Michelena, A. Lacasa, y A. Hermoso-de-Mendoza. 2010.** Ecology of the aphid pests of protected pepper crops and their parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*. 21: 171–188.
- Siegel, S., y N. J. Castellan. 1988.** Multiple comparison test between treatments or treatments versus control after Kruskal-Wallis test. *In Non Parametric Statistics for the Behavioural Sciences*. New York (USA), pp. 213–214.
- Sunnucks, P., P. R. England, A. C. Taylor, y D. F. Hales. 1996.** Microsatellite and chromosome evolution of parthenogenetic *Sitobion* aphids in Australia. *Genetics*. 144: 747–756.
- Tamaki, G., B. Annis, L. Fox, R. K. Gupta, y A. Meszleny. 1982.** Comparison of Yellow Holocyclic and Green Anholocicly Strains of *Myzus persicae* (Sulzer): Low Temperature Adaptability. *Environmental Entomology*. 11: 231–233.
- Tamaki, G., M. A. Weiss, y G. E. Long. 1980.** Impact of high temperatures on the population dynamics of the green peach in field cages. *Environmental Entomology*. 9: 331–337.
- Vasicek, A., F. de la Rossa, y A. Paglioni. 2001.** Aspectos biológicos y poblacionales de *Aulacorthum solani*, *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphidoidea) en Pimiento (*Capsicum annum* L.). *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*. 27: 439–446.
- Vorburger, C. 2004.** Cold tolerance in obligate and cyclical parthenogens of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Ecological Entomology*. 29: 498–505.
- Vorburger, C., M. Lancaster, y P. Sunnucks. 2003.** Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two “superclones” in Victoria, Australia. *Molecular Ecology*. 12: 3493–3504.
- Whalon, M. E., y Z. Smilowitz. 1977.** Determination of Constant Temperature Developmental Thresholds for *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *New York Entomological*

Society. 85: 206.

Wilson, A. C. C., P. Sunnucks, y D. F. Hales. 1999. Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion* aphids in New Zealand. *Molecular Ecology*. 8: 1655–1666.

Zamoum, T., J. C. Simon, D. Crochard, Y. Ballanger, L. Lapchin, F. Vanlerberghe-Masutti, y T. Guillemaud. 2005. Does insecticide resistance alone account for the low genetic variability of asexually reproducing populations of the peach-potato aphid *Myzus persicae*? *Heredity*. 94: 630–639.

Zepeda-Paulo, F. A., J. C. Simon, C. C. Ramirez, E. Fuentes-Contreras, J. T. Margaritopoulos, D. V. Ohashi, C. Lacroix, L. Glais, y C. C. Figueroa. 2010. The invasion route for an insect pest species: the tobacco aphid in the New World. *Molecular Ecology*. 19: 4738–4752.

Capítulo V

Análisis de la respuesta de diferentes clones de

***Myzus persicae* en su interacción con el**

parasitoide *Aphidius colemani*

Capítulo V

Análisis de la respuesta de diferentes clones de *Myzus persicae* en su interacción con el parasitoide *Aphidius colemani*

1. Introducción.

Como ya se ha dicho en todos los anteriores capítulos *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) es uno de los áfidos más problemáticos y abundantes en el cultivo de pimiento [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] bajo invernadero. En el capítulo II, tras genotipar las distintas muestras de este áfido provenientes de varios puntos del sureste de la península Ibérica se detectó la presencia de determinados clones (“superclones”) que presentaban una gran abundancia, amplia distribución geográfica y persistencia en el tiempo. Los factores que influyen en la gran abundancia y amplia distribución geográfica de estos clones pueden ser varios. En el capítulo IV se determinaron las tasas de desarrollo, fecundidad, supervivencia y umbrales térmicos de desarrollo. Se observó que el principal superclón en el Campo de Cartagena presentó, por lo general, tasas de desarrollo, fecundidad y longevidad más elevadas que el resto de los clones estudiados a temperaturas superiores a 20°C. No obstante, las diferencias en estos parámetros biológicos entre clones no explican totalmente la gran abundancia y amplio rango de distribución geográfica de este superclón en el Campo de Cartagena y en otras zonas del sureste de la península Ibérica.

Durante la década de los años 90 los agricultores de pimiento en invernadero adoptaron progresivamente estrategias de control de los áfidos y de otras plagas, basadas fundamentalmente en la introducción o conservación de enemigos naturales (Buxton et al. 1990, Ramakers 2004, Sanchez et al. 2010). En el caso de *M. persicae* los principales grupos de enemigos naturales usados para el control de áfidos han sido braconidos, afelinidos y coccinélidos (Blümel 2004). Los parasitoides (braconidos y afelinidos) tienen la ventaja de ser específicos de áfidos, fáciles

de criar de forma masiva y de fácil manejo en las aplicaciones clásicas (Powell y Pell 2007). Los braconidos son especies solitarias, koinobiontes y endoparasitas, pudiendo ser especies generalistas y especialistas. Uno de los parasitoides más usados para el control de los áfidos ha sido el braconido generalista *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) (Blümel 2004, Ramakers 2004). En la actualidad diferentes empresas especializadas en la producción y comercialización de auxiliares lo multiplican para el control de *M. persicae* en invernaderos. En las estrategias de control de plagas basadas en la suelta de auxiliares, se asume que el equilibrio entre el parasitoide *A. colemani* y la plaga *M. persicae* en nuestro caso, cambia a favor de uno u otro en relación a la capacidad de ataque del primero y a la vulnerabilidad del segundo. Este tipo de variaciones pueden conllevar una adaptación local entre los organismos, pudiendo ser esta interacción un punto de partida en la carrera coevolutiva áfido – parasitoide (Gillespie et al. 2009). Un ejemplo de esta coevolución se ha citado para el binomio *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae) y *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) (Henter 1995, Henter y Via 1995). Según este mecanismo coevolutivo, la interacción enemigo natural presa / huésped da lugar a la selección en la especie presa / huésped de aquellos individuos con mejor capacidad de defenderse del ataque de los enemigos naturales. La respuesta al factor de selección en cada organismo dependerá de la relación entre el total de variación genética en los rasgos defensivos y el coste de la defensa (Ferrari et al. 2001).

En el caso de las estrategias defensivas, cada organismo adoptará unas técnicas u otras dependiendo del riesgo del ataque de enemigos naturales y su necesidad de satisfacer la alimentación (Abrahams y Dill 1989). Los comportamientos defensivos se pueden dividir en dos grupos según la rapidez en la respuesta. Dentro de las respuestas rápidas de defensa encontramos algunos ejemplos como: (1) Secreción de feromonas de alarmas que alertan del ataque de un depredador (Bowers et al. 1972, Edwards et al. 1973); (2) Sacudidas de cuerpo y agitación de las

patas traseras (Dixon 1958); (3) Huida del lugar de alimentación (Dill et al. 1990); (4) Saltar fuera de la hoja y de la planta (Dill et al. 1990, Chau y Mackauer 1997); (5) Agregación (Turchin y Kareiva 1989). Entre las respuestas defensivas lentas están: (1) La producción de formas aladas (Weisser et al. 1999); (2) La ingestión de aleloquímicos tóxicos con efecto disuasorio en los parasitoides (Szentesi y Wink 1991); (3) Generación de soldados dentro de la colonia (Aoki et al. 1998). Desde el punto de vista del parasitoide, también se han producido adaptaciones en el comportamiento de ataque. La mayoría de adaptaciones del enemigo natural son relativas al tamaño del huésped, estado y duración del ataque y al proceso de búsqueda del alimento de su descendencia (Barrette et al. 2010).

En los áfidos, la depredación y el parasitismo se consideran factores selectivos con una gran influencia en el proceso evolutivo de las especies (Lima y Dill 1990). Dependiendo del equilibrio entre mecanismo defensivo y alimentación la selección en los áfidos puede actuar de dos formas: si la defensa no ocasiona perjuicio alimenticio el individuo tendrá éxito y si en cambio lo produce ocasionará su desaparición (Nelson et al. 2004). Por tanto, la aparición de adaptaciones defensivas en determinados individuos no implica necesariamente una ventaja frente a los individuos que no las poseen. Las diferencias entre clones de *M. persicae* en la vulnerabilidad frente al ataque de *A. colemani* ha provocado la predominancia de los clones con una mayor capacidad defensiva en los invernaderos de pimiento de la British Columbia (Canadá) (Gillespie et al. 2009). En el sureste de la península Ibérica se ha visto que hay una serie de genotipos que tienen una gran abundancia y dispersión y que pueden ser considerados “superclones”. Las adaptaciones defensivas frente a parasitoides podrían explicar en parte el éxito de los “superclones” encontrados en el Campo de Cartagena. Por este motivo se hipotetiza que existe una variación clonal en los comportamientos defensivos y que esta variación es

responsable del éxito de ciertos genotipos y por lo tanto de su abundancia y mayor dispersión en el área de estudio.

El objetivo principal de este capítulo va a ser estudiar, describir y comparar los comportamientos defensivos de cuatro clones de *M. persicae* frente al ataque de uno de sus parasitoides principales, *A. colemani*. En los ensayos se utilizaron dos clones anholocíclicos (uno de ellos “superclón”), otro androcíclico ampliamente distribuido geográficamente y otro holocíclico.

2. Material y métodos.

2.1. Insectos.

Para caracterizar el comportamiento defensivo de *M. persicae* se han elegido los cuatro clones descritos en el capítulo anterior de la tesis: clon androcíclico verde oscuro (A); clon anholocíclico verde (B); clon anholocíclico rojo (C); clon holocíclico verde (D). Para cada clon se eligió una hembra áptera como comienzo de una nueva línea y se crió en plantas de pimiento (Tipo: California, Variedad: Orlando) en una cámara de cultivo con ambiente controlado ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ y $60 \pm 5\%$ HR, fotoperiodo de 16 horas de luz, 8 de oscuridad). De esta nueva línea se transfirieron diez nuevas hembras, recién mudadas a estado adulto a una nueva planta, dicha hembra fue eliminada después de producir 10 – 15 ninfas. Los individuos usados en el ensayo fueron estas ninfas una vez alcanzado el estado adulto.

Aphidius colemani fue obtenido de Koppert B.V. (The Netherlands), suministrado en forma de momias del huésped *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). Después de la emergencia de los adultos, se realizó el sexado y se mantuvieron juntos durante 24 horas para favorecer el apareamiento. Los adultos se alimentaron con gotas de miel diluidas en agua. De

este modo se aseguraba que todas las hembras estuvieran bien alimentadas, fecundadas y tuvieran una vida de al menos 24 horas cuando fueron usadas en los ensayos.

2.2. Ensayos de comportamiento.

El experimento se llevó a cabo en placas petri de 10 cm con agar al 0,5% en cuyo centro se encontraba un disco de hoja de pimiento. Se usaron dos discos de hoja de diferente tamaño: 4 y 2 cm de diámetro. Seis horas antes del ensayo se colocaban 30 y 10 adultos ápteros de *M. persicae* en el disco grande y en el pequeño, respectivamente. Este tiempo permitió la habituación de los áfidos al disco, posibilitando que los individuos se asentaran e introdujeran el estilete en la hoja. Una hembra de *A. colemani* se introdujo con un pincel entomológico en el borde de la placa. Todos los eventos fueron grabados con vídeo durante 10 minutos con una cámara de vídeo Canon 3 XL2 CCD Digital Video Camcorder con un adaptador Canon EF Adapter XL y una lente de amplificación Canon zoom lens EF 24-105mm 1:4 L IS USM. Se realizaron un total de ocho réplicas por clon y tamaño de disco. Las vídeo grabaciones se realizaron en una cámara climática controlada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y $60 \pm 5\%$ HR. Después de cada réplica el disco con los áfidos se mantuvo un par de semanas en una cámara climática controlada a $(25 \pm 2^\circ\text{C})$ y se efectuó periódicamente un seguimiento para observar el número de momias y parasitoides emergidos.

2.3. Descripción de los comportamientos y análisis.

En los estudios previos a los ensayos de comportamiento se describieron hasta ocho pautas de comportamiento en la interacción entre *M. persicae* y *A. colemani*. Estas pautas de comportamiento se pueden agrupar en dos grupos diferentes, el primero de ellos relacionado con el comportamiento defensivo de los clones de *M. persicae* frente al parasitoide y el segundo de ellos con el comportamiento de ataque de *A. colemani*.

Desde el punto de vista de los clones de *M. persicae*, se describieron cuatro pautas de comportamiento defensivo: (1) Espasmo I es una combinación de dos movimientos donde el áfido levanta el par de patas traseras, y mueve su cuerpo de forma vigorosa; este comportamiento se produce generalmente cuando el parasitoide toca el áfido con las antenas. (2) Espasmo II es el mismo movimiento que el “Espasmo I”, pero producido por el intento de oviposición o oviposición del parasitoide. (3) Espasmo III es el mismo movimiento que los dos espasmos anteriores, pero producido sin haber existido contacto entre el áfido y el parasitoide. (4) Dispersión es cuando el áfido extrae el estilete de la hoja y se marcha hacia otro lugar tras el ataque de un parasitoide.

Por otro lado los comportamientos del parasitoide fueron descritos como de ataque: (1) Oviposición es cuando el parasitoide introduce el ovipositor dentro del cuerpo del áfido. (2) Intento de Oviposición es cuando el parasitoide intenta ovipositar, incluso toca el cuerpo del áfido, pero no acaba con éxito el proceso. (3) Falsa Oviposición, es cuando el parasitoide realiza un intento de oviposición a cierta distancia de donde se encuentra el áfido al que pretende atacar. (4) Susto es cuando el parasitoide desiste y huye después de un espasmo del áfido. Hay que añadir que la oviposición del género *Aphidius* es rápida, aproximadamente 0,5 segundos (Völkl y Mackauer 2000), por lo cual se considerará oviposición a toda aquella elongación del abdomen que sea mayor de 0,5 segundos.

Los sucesos de cada uno de los comportamientos defensivos de los áfidos y de ataque de los parasitoides se contabilizaron con un registrador de eventos (Etholog 2.2 University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil). Desde el primer toque antenal realizado por el parasitoide al áfido, se contaron todos los eventos producidos en tres minutos. Un análisis previo puso de manifiesto, que durante el primer minuto la actividad del parasitoide es muy baja, a partir del segundo minuto esta se incrementa progresivamente para alcanzar el máximo antes del tercer minuto. La

actividad del parasitoide continua estable del tercer minuto hasta el final. No se encontraron diferencias en la actividad entre áfido y parasitoide del tercer al décimo minuto.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico R v. 2.15.2 (R Core Team 2012). Para la comparación del comportamiento de los diferentes clones de áfidos frente al ataque de *A. colemani*, y de los parasitoides en respuesta defensiva de los diferentes clones, se utilizó un análisis multivariante (MANOVA), introduciendo el tipo de clon y el tamaño del disco como variables independientes y las diferentes pautas de comportamiento del áfido o del parasitoide como variables dependientes. Para comparar el parasitismo entre los clones de áfidos, se usó un análisis univariante (ANOVA), introduciendo el tipo de Clón y el tamaño del disco como variables independientes y el porcentaje de parasitismo como variable dependiente; para comparar las medias de las distintas pautas de comportamiento, para cada clon, tamaño de disco y su interacción se usó un test TukeyHSD.

3. Resultados.

3.1. Comportamiento defensivo de los clones de *Myzus persicae*.

Durante los tres primeros minutos después del primer contacto entre áfido y parasitoide, el comportamiento defensivo más repetido por parte de todos los clones de *M. persicae* fue el espasmo III, seguido en número del espasmo I, espasmo II y de la dispersión (Figura 1). El espasmo III representó más del 66,5% de los eventos, seguido del espasmo I con el 24,5% y del espasmo II con el 5%. No hubo diferencias significativas en el número de eventos entre el disco grande y el pequeño (Tabla 1). La dispersión fue un evento inusual y sus niveles fueron muy bajos, alrededor de 1 áfido por clon decidió huir del escenario. El clon C presentó los valores mayores para el espasmo II y III entre todos los clones, con medias de 3 eventos para el espasmo II (aproximadamente el triple que en los otros clones) (Figura 1). El MANOVA mostró un efecto

significativo en el factor clon sobre el comportamiento defensivo de *M. persicae* (Pillai–Bartlett estadístico de 0,527; F= 2,716; g.l.=12, 153; P<0,001); no fue significativo para el factor disco (Pillai–Bartlett estadístico de 0,078; F= 1,042; g.l.=4, 49; P=0,395) ni para la interacción entre el clon y el disco (Pillai–Bartlett estadístico de 0,253; F= 0,303; g.l.=12, 153; P=0,176). Para el espasmo II y el espasmo III, el clon C fue significativamente diferente de los otros clones (Tabla 1 y Figura 1). No hubo diferencias significativas entre los clones para la dispersión y el espasmo I.

Análisis	VARIABLES	Factor	F	g.l.	P-valor	
Comportamiento defensivo del áfido	Espasmo I	Clon	2,099	3, 52	0,112	
		Disco	0,812	1, 52	0,372	
		Interacción	1,710	3, 52	0,176	
	Espasmo II	Clon	5,792	3, 52	<0,001	
		Disco	0,724	1, 52	0,399	
		Interacción	3,220	3, 52	<0,05	
	Espasmo III	Clon	5,434	3, 52	<0,001	
		Disco	0,950	1, 52	0,334	
		Interacción	1,949	3, 52	0,133	
	Dispersión	Clon	1,296	3, 52	0,286	
		Disco	2,415	1, 52	0,126	
		Interacción	0,894	3, 52	0,450	
	Comportamiento de ataque del parasitoide	Oviposición	Clon	0,967	3, 52	0,415
			Disco	3,605	1, 52	0,063
			Interacción	0,707	3, 52	0,552
Intento de Oviposición		Clon	1,610	3, 52	0,198	
		Disco	3,180	1, 52	0,080	
		Interacción	1,477	3, 52	0,231	
Susto		Clon	4,555	3, 52	<0,001	
		Disco	0,567	1, 52	0,455	
		Interacción	1,610	3, 52	0,198	
Falsa Oviposición		Clon	1,458	3, 52	0,237	
		Disco	2,282	1, 52	0,137	
		Interacción	0,938	3, 52	0,429	
Parasitismo		Clon	3,698	3, 56	<0,05	
		Disco	3,045	1, 56	0,086	
		Interacción	0,961	3, 56	0,418	

Tabla 1. Estadísticos de los ANOVAs para los análisis de las pautas de comportamiento defensivo del áfido *Myzus persicae*, de ataque del parasitoide *Aphidius colemani* y de las tasas de parasitismo.

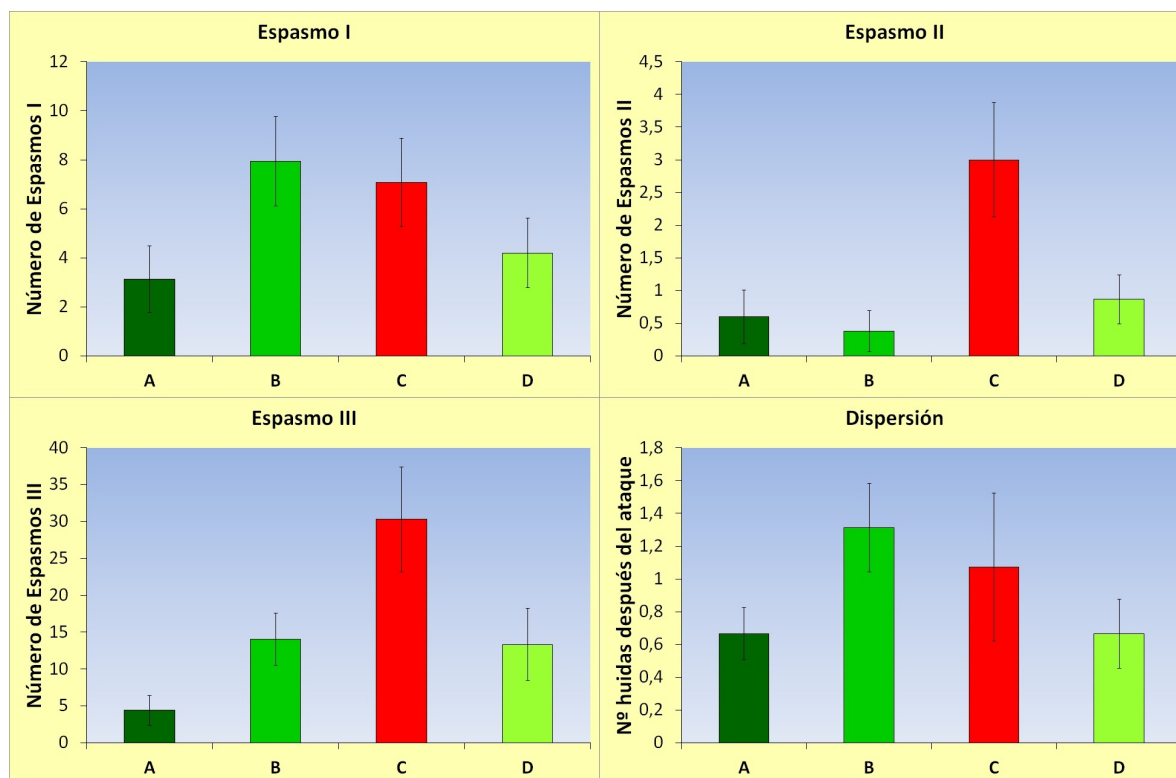


Figura 1. Comportamientos defensivos frente a *Aphidius colemani* de los cuatro clones (notación Tabla 1 – Capítulo IV) de *Myzus persicae* durante tres minutos desde el primer toque antenal del parasitoide.

3.2. Comportamiento del parasitoide *Aphidius colemani*.

El comportamiento de ataque más repetido por parte del parasitoide hacia los cuatro clones de *M. persicae* fue el intento de oviposición. Dicha pauta de comportamiento representó el 64% de los eventos de ataque del parasitoide, mientras que el susto representó un 23%, la falsa oviposición un 10,5% y la oviposición tan solo un 2% (Figura 2). El clon C recibió la mayor parte de los eventos relacionados con la oviposición. El MANOVA mostró un efecto del factor tamaño del disco sobre el comportamiento de ataque del parasitoide (Pillai–Bartlett estadístico de 0,309; $F= 5,467$; g.l.= 4, 49; $P<0,001$); no fue significativo para el factor clon (Pillai–Bartlett estadístico de 0,078; $F= 0,349$; g.l.=12, 153; $P=0,077$) y para la interacción entre el clon y el tamaño de disco (Pillai–Bartlett estadístico de 0,253; $F= 0,243$; g.l.=12, 153; $P=0,345$). Para el

comportamiento susto el clon C fue significativamente diferente del A y del D (Tabla 1 y Figura 2). No hubo diferencias significativas entre clones para las demás variables estudiadas (Tabla 1).

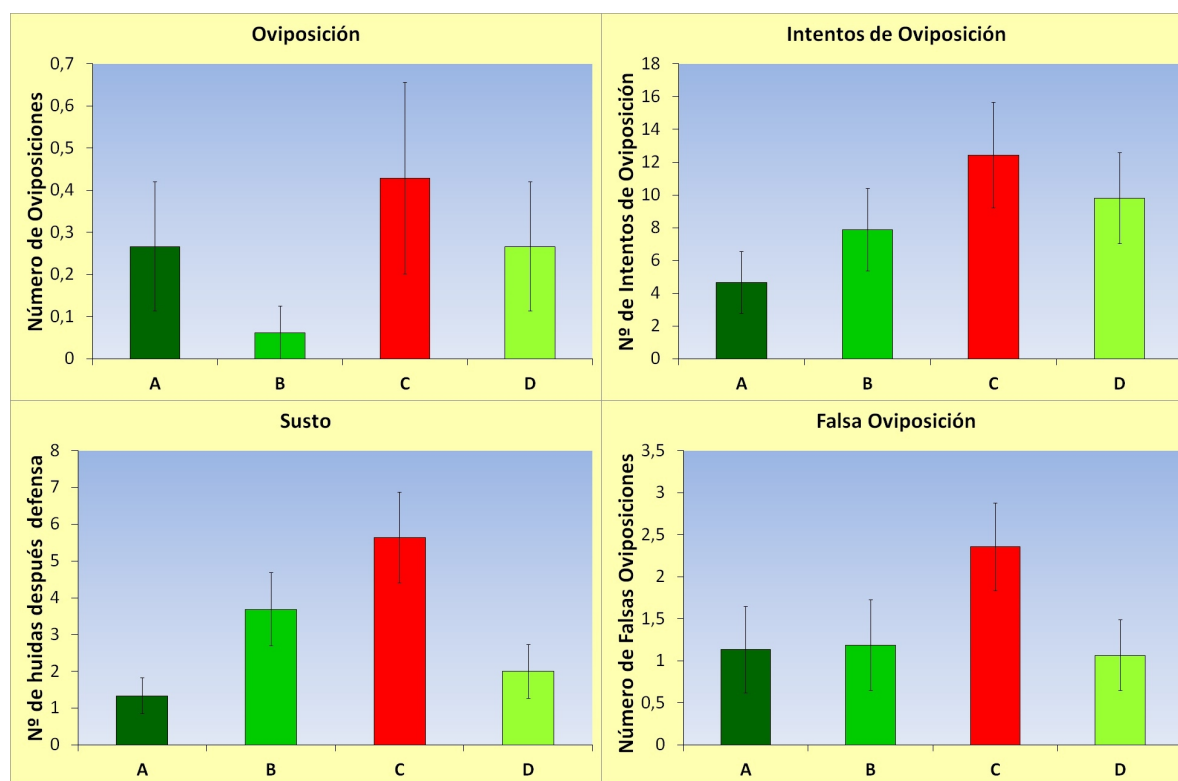


Figura 2. Comportamientos de ataque del parasitoide *Aphidius colemani* a los cuatro clones (notación Tabla 1 – Capítulo IV) de *Myzus persicae* durante tres minutos desde el primer toque antenal del parasitoide.

3.3. Parasitismo.

El clon C fue el que presentó tasas de parasitismo, casi cuatro veces mayores que el resto de los clones. La tasa de parasitismo del clon C fue del 11,73%, seguido de los clones A (3,35%), D (2,78%) y B (2,75%) (Figura 3). Hubo diferencias significativas en las tasas de parasitismo entre clones, siendo el clon C significativamente diferente a los demás. En el tamaño de disco y en la interacción entre clon y el tamaño del disco no hubo diferencias significativas en las tasas de parasitismo (Tabla 1).

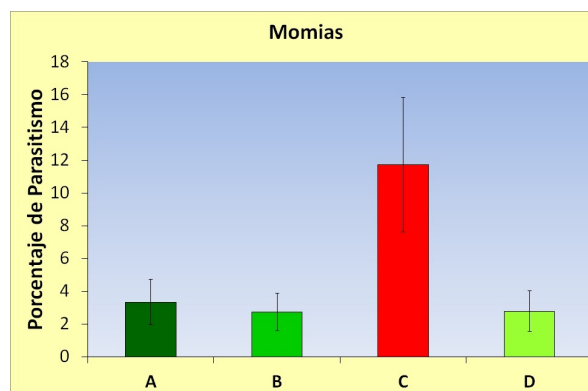


Figura 3. Porcentaje de momias en los cuatro clones (notación Tabla 1 – Capítulo IV) de *Myzus persicae* expuestos a hembras de *Aphidius colemani*.

4. Discusión.

En el presente trabajo se han observado cuatro pautas de comportamiento relacionadas con la defensa en los cuatro clones de *M. persicae*, y cuatro relacionados con el ataque del parasitoide. En *M. persicae* casi todas las pautas de comportamiento fueron del tipo “espasmo” y en los parasitoides la mayoría de pautas estaban relacionados con la oviposición (incluyendo los intentos). La dispersión como mecanismo de defensa parece que no fue utilizada por parte de los cuatro clones de *M. persicae* aquí estudiados, siendo una pauta muy esporádica. Dos tipos de espasmos han sido los más repetidos uno con la intervención del parasitoide y otro sin la intervención del mismo; en ambos casos el clon anholocíclico rojo (C) fue el que más adoptó este tipo de comportamiento.

Las pautas de comportamientos defensivos observadas para los cuatro clones de *M. persicae* en este trabajo son muy similares a las ya descritas en la literatura en relación al comportamiento defensivo. De los ocho tipos de comportamientos defensivos descritos en la introducción de este capítulo y observados por otros autores, en este trabajo se han observado dos, el espasmo y la dispersión. En relación al espasmo se han descrito tres variantes en función de la acción realizada por parte del parasitoide (toque, oviposición, no acción). El

comportamiento espasmo, no es sólo exclusivo de *M. persicae* (Foster et al. 2007), ya que ha sido descrito en otras especies de áfidos como en *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) (Ibboston y Kennedy 1951), en *Aphis glycines* Matsumura (Hemiptera: Aphididae) (Wyckhuys et al. 2008) en *Microlophium carnosum* (Buckton) (Hemiptera: Aphididae) (Dixon 1958) o en *A. pisum* (Villagra et al. 2002, Daza-Bustamante et al. 2003, Kunert et al. 2010). En ninguno de los trabajos anteriores el espasmo se ha descrito en función del comportamiento del parasitoide. Por otro lado, la dispersión fue un comportamiento poco frecuente y por lo tanto no se espera que sea un comportamiento habitual en la defensa del ataque de los parasitoides en los clones observados de *M. persicae*. Foster et al. (2007), en cambio si que describieron la dispersión como una pauta de comportamiento implicada en la defensa de *M. persicae* frente al parasitoide *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Braconidae), siendo además el comportamiento más frecuente. En otros áfidos la dispersión como pauta de comportamiento defensivo es usada con frecuencia para huir de los parasitoides (Roitberg y Myers 1979, Braendle y Weisser 2001, Villagra et al. 2002, Wyckhuys et al. 2008, Kunert et al. 2010). Otro mecanismo muy común de defensa empleado por otros áfidos es el de saltar de la hoja (Roitberg y Myers 1979, Chau y Mackauer 1997, Losey y Denno 1998, Braendle y Weisser 2001, Villagra et al. 2002, Kunert et al. 2010). Este tipo de comportamiento no se pudo cuantificar en el presente trabajo ya que el diseño experimental usado impide su expresión.

Las pautas de comportamiento más frecuentes en *A. colemani* fueron las relacionadas con la oviposición. El comportamiento menos frecuente fue el de oviposición, con valores inferiores a la unidad. El proceso de oviposición en el género *Aphidius* es del orden de los 0,5 segundos (Völkl y Mackauer 2000), por lo que podría ser que en las observaciones realizadas se confundan los intentos de oviposición y las oviposiciones; hecho probable al comparar el porcentaje de individuos parasitados con las oviposiciones. Dentro de los comportamientos relacionados con el

ataque del parasitoide, los más observados son los relacionados con la oviposición, hecho que concuerda con las descripciones para *A. colemani* realizadas por Völkl y Mackauer (2000). Los intentos de oviposición se han observado en *Aphelinus abdominalis* Dalman (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitando *M. persicae* (Jazzar et al. 2008). No se han encontrado referencias en la literatura consultada sobre la pauta de comportamiento de falsa oviposición en *A. colemani*. Tampoco se han encontrado referencias sobre la pauta de comportamiento de huida de los parasitoides en respuesta a la defensa de los áfidos (susto).

En cuanto a la variación existente en la vulnerabilidad de los cuatro clones de *M. persicae* frente al ataque de *A. colemani* se observó que el clon anholocíclico rojo (C) y el androcíclico verde oscuro (A) se diferencian de los demás clones en las pautas de comportamiento defensivas relacionadas con el espasmo, así como en la oviposición recibida y las tasas de parasitismo resultantes. El clon C presentó los mayores niveles de defensa y parasitismo mientras que el clon A tuvo los menores niveles de defensa y parasitismo. Gillespie et al. (2009) encontraron una variación similar en la interacción de varios clones de *M. persicae* con *A. colemani* en cuanto al número de oviposiciones y parasitismo; en sus ensayos el clon rojo recibió un mayor número de oviposiciones y desarrolló un mayor número de momias que el clon verde oscuro. Aunque los clones estudiados por Gillespie et al. (2009) presenten la misma coloración de los ensayados en este trabajo, tienen genotipos diferentes. En este trabajo y en el de Gillespie et al. (2009) el parasitoide presentó unas pautas de comportamiento de ataque en función del clon al que ataca. Por otro lado, en el trabajo aquí realizado se ha descrito el espasmo III como un movimiento brusco del áfido sin contacto físico con el parasitoide, éste es característico y frecuente en el clon anholocíclico rojo (C). Esta pauta de comportamiento parece ser fruto de una comunicación química entre los individuos de una misma colonia, ya que se produce sin que haya un contacto físico con el parasitoide. El compuesto E- β -farneseno es una

feromona de alarma que utilizan los áfidos para alertar de la presencia de un enemigo natural y se secreta habitualmente por los sifones del áfido atacado (Bowers et al. 1972, Nault et al. 1973, Pickett y Griffiths 1980). Sin embargo en este caso, en las grabaciones realizadas por vídeo no se ha observado la característica secreción de gotas con esta feromona a través de los sifones. La ausencia de estas secreciones nos hace pensar que este clon podría secretar la feromona de alarma a través del cuerpo, como ya se ha descrito anteriormente para este áfido (Almohamad et al. 2008). El espasmo III podría ser considerado un comportamiento de cooperación entre los individuos de la colonia, en los que la actuación coordinada de todos los individuos de la colonia puede alertar de la presencia de parasitoides, aumentando la supervivencia del grupo (Garay 2009).

El clon anholocíclico rojo (C) presentó los niveles de parasitismo más elevados entre los cuatro clones estudiados. Este dato contrasta con el elevado empleo de mecanismos defensivos contra el parasitoide que emplea el clon C. Por otro lado, el clon androcíclico verde oscuro (A), presenta uno de los niveles de parasitismo más bajos, aunque muy similares a los de los clones B y D. Comparando el parasitismo con el conjunto oviposición e intentos de oviposición, se observa que en los clones A y C, entre un 10 y un 12% de las oviposiciones tuvieron éxito, sin embargo en los clones B y D sólo entre un 3 y un 6% tuvo éxito. Esta diferencia podría deberse a algún mecanismo similar al de la encapsulación de los huevos de parasitoides, empleado por algunos insectos y que en áfidos ha sido descrito para diferentes especies (Griffiths 1961, Carver y Sullivan 1988). Por otro lado los niveles bajos de parasitismo del clon A contrastan con el escaso empleo de mecanismos defensivos contra los parasitoides por su parte. El clon A podría tener más capacidad para encapsular los huevos del parasitoide y por este motivo necesitaría invertir menos en pautas de comportamiento defensivo. De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, la gran abundancia del clon anholocíclico rojo (C), observada en el sureste

de la península Ibérica no parece ser debida a las diferencias en el comportamiento defensivo entre clones. Una explicación que podría resolver esta aparente contradicción, podría ser el diseño de la “arena” que se ha usado para describir y analizar los distintos comportamientos. La pauta de comportamiento de huida del parasitoide, fue observada con frecuencia para el clon C. El diseño de la arena, al estar cerrada, impedía la huida de los parasitoides, por lo que estos debían permanecer junto a los áfidos durante todo el periodo de observación. En condiciones naturales, el parasitoide al constatar que una colonia de áfidos muestra un comportamiento defensivo muy llamativo (como en el caso del clon rojo C), podría desistir en el ataque y buscar una colonia más fácil a la que acceder para ovipositar sus huevos. El parasitoide al enfrentarse a una colonia de áfidos con mayor agresividad, estaría desperdiciando un tiempo de oviposición que reduciría el éxito en su reproducción. Esta situación podría compararse con la descrita por Giraldeau y Boivin (2008) entre el parasitoide *Aphidius uzbekistanicus* Luzhetski (Hymenoptera: Braconidae) y el hiperparasitoide *Alloxysta victrix* (Westwood) (Hymenoptera: Charipidae), en el que este último reduce la fertilidad del primero por el elevado índice de hiperparasitismo; para evitar esta situación el parasitoide disminuye el número de ataques a los áfidos y el tiempo de permanencia en cada colonia, incrementando por otro lado el tamaño del área explorada para asegurar así el éxito en su reproducción, al acudir a un amplio número de huéspedes. La búsqueda de hospedantes por los parasitoides es llevada a cabo mayoritariamente por sustancias volátiles químicas (Pasteels et al. 1983). La aceptación del huésped por parte del parasitoide conlleva su evaluación previa basada en la información obtenida por los volátiles detectados por sus receptores, que le informarán de su calidad (Battaglia et al. 1995, Mackauer et al. 1996). Otra explicación por lo tanto, podría ser que el clon androcíclico verde oscuro (A) podría haber desarrollado un tipo de defensa indirecto, mediante la secreción de alguna sustancia química para ahuyentar el parasitoide, o haber adoptado una coloración más parecida a las hojas de pimiento,

que le permitirían camuflarse mejor. La identificación visual en base al color de *A. pisum* por parte de *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) supone una mayor depredación de los clones rojos, respecto a los clones verdes (Weisser et al. 1999, Braendle y Weisser 2001). Sin embargo, otros autores han encontrado que el comportamiento de los parasitoides no se ve influenciado por la coloración de los áfidos, sino que más bien tienen una elección opuesta a la de los depredadores que se guían más por señales visuales (Losey et al. 1997).

Los comportamientos defensivos implican un coste en los animales que los practican; el equilibrio entre el coste y el beneficio de éstos, permite el éxito de los individuos que presentan este tipo de comportamientos dentro de una población (Lima y Dill 1990). En los cuatro clones de *M. persicae* estudiados, el coste de la adopción de las diferentes pautas de comportamiento defensivas podría ser diferente en cada uno. Para *M. persicae*, Vorburger et al. (2008) analizaron el coste de la efectividad en la defensa frente al parasitoide en relación a la fecundidad de los áfidos; determinaron que la fecundidad disminuye cuanto más efectiva es la defensa. La defensa más efectiva en cuanto a menor éxito del parasitismo la muestra el clon androcíclico verde oscuro (A), sin embargo su fecundidad es menor a temperaturas altas. Por otro lado, el clon anholocíclico rojo (C) presenta una mejor respuesta a altas temperaturas para la fecundidad (capítulo IV) y presenta un mayor parasitismo. Esta combinación de factores, en relación a la mejor respuesta a altas temperaturas y la efectividad de la defensa podría explicar el éxito del clon rojo (C) frente al verde oscuro (A) en cuestión de abundancia.

5. Conclusiones.

Los cuatro clones de *M. persicae* estudiados en este capítulo, presentan una clara variación en su respuesta frente al ataque del parasitoide *A. colemani*. El clon anholocíclico rojo

(C) ha adoptado una estrategia defensiva activa, mediante movimientos rápidos del cuerpo y patas traseras, que hemos denominado “espasmos”. Por el otro lado, el clon androcíclico verde oscuro (A) adopta una estrategia defensiva poco activa que resulta en un menor nivel de parasitismo respecto al clon rojo anholocíclico (C). Las diferencias entre las oviposiciones y el parasitismo entre los clones verdes anholocíclico y holocíclico y los otros clones estudiados, podrían ser debidas a la presencia de algún tipo de mecanismo de encapsulación de los huevos del parasitoide. No se puede concluir con los resultados obtenidos que el éxito del superclón rojo (C) sea debido a una menor vulnerabilidad de este frente al ataque de los parasitoides.

6. Referencias bibliográficas.

- Abrahams, M. V., y L. M. Dill. 1989.** A determination of the energetic equivalence of the risk of predation. *Ecology*. 70: 999–1007.
- Almohamad, R., F. J. Verheggen, F. Francis, G. Lognay, y E. Haubruge. 2008.** Emission of alarm pheromone by non-preyed aphid colonies. *Journal of Applied Entomology*. 132: 601–604.
- Aoki, S., U. Kurosu, H. Shibao, S. Yamane, y T. Fukatsu. 1998.** Defense by a few first-instar nymphs in the closed gall of *Dinipponaphis autumnna* (Homoptera, Aphididae, Hormaphidinae). *Journal of Ethology*. 16: 91–96.
- Barrette, M., G. Boivin, J. Brodeur, y L. A. Giraldeau. 2010.** Travel time affects optimal diets in depleting patches. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 64: 593–598.
- Battaglia, D., F. Pennacchio, A. Romano, y A. Tranfaglia. 1995.** The role of physical cues in the regulation of host recognition and acceptance behavior of *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*. 8: 739–750.
- Blümel, S. 2004.** Biological Control of Aphids on Vegetable Crops. *In* Heinz, K.M., Driesche, V., Parella, M.P. (eds.), *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, IL (USA), pp. 297–312.
- Bowers, W. S., L. R. Nault, R. E. Webb, y S. R. Dutky. 1972.** Aphid alarm pheromone: isolation, identification, synthesis. *Science*. 177: 1121.
- Braendle, C., y W. W. Weisser. 2001.** Variation in escape behavior of red and green clones of the pea aphid. *Journal of Insect Behavior*. 14: 497–509.

- Buxton, J. H., R. Jacobsen, M. Saynor, R. Stoner, y L. Wardlow. 1990.** An integrated pest management programme for peppers: three years trial experience. IOBC/WPRS Bulletin. 13: 45–50.
- Carver, M., y D. Sullivan. 1988.** Encapsulative defense reactions of aphids (Hemiptera: Aphididae) to insect parasitoids (Hymenoptera: Aphidinae and Aphelinidae). *In* Niemczyk, E., Dixon, A.F.G. (eds.), Ecology and Effectiveness of Aphidophaga. Academic Publishing, The Hague (The Netherlands), pp. 299–303.
- Chau, A., y M. Mackauer. 1997.** Dropping of pea aphids from feeding site: a consequence of parasitism by the wasp, *Monoctonus paulensis*. Entomologia Experimentalis et Applicata. 83: 247–252.
- Daza-Bustamante, P., E. Fuentes-Contreras, y H. M. Niemeyer. 2003.** Acceptance and suitability of *Acyrtosiphon pisum* and *Sitobion avenae* as hosts of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). European Journal of Entomology. 101: 49–53.
- Dill, L. M., A. Fraser, y B. D. Roitberg. 1990.** The economics of escape behaviour in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. Oecologia. 83: 473–478.
- Dixon, A. F. G. 1958.** Escape responses shown by certain aphids to the presence of the coccinellid *Adalia decempunctata* (L.). Transactions of the Royal Entomological Society of London. 10: 319–334.
- Edwards, L. J., J. B. Siddal, L. L. Dunham, P. Uden, y C. J. Kislow. 1973.** Trans-B-farnesene, Alarm Pheromone of the Green Peach Aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). Nature. 241: 126–127.
- Ferrari, J., C. B. Muller, Al. R. Kraaijeveld, y C. J. Godfray. 2001.** Clonal variation and covariation in aphid resistance to parasitoid and a pathogen. Evolution. 55: 1805–1814.

- Foster, S. P., M. Tomiczek, R. Thompson, I. Denholm, G. Poppy, A. R. Kraaijeveld, y W. Powell. 2007.** Behavioural side-effects of insecticide resistance in aphids increase their vulnerability to parasitoid attack. *Animal Behaviour*. 74: 621–632.
- Garay, J. 2009.** Cooperation in defence against a predator. *Journal of Theoretical Biology*. 257: 45–51.
- Gillespie, D. R., D. J. M. Quiring, R. G. Footitt, S. P. Foster, y S. Acheampong. 2009.** Implications of phenotypic variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) for biological control on greenhouse pepper plants. *Journal of Applied Entomology*. 133: 505–511.
- Giraldeau, L. A., y G. Boivin. 2008.** Risk assesment and host exploitation strategies in insect parasitoids. In Wajnberg, E., Bernstein, C., van Alphen, J. (eds.), *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids*. Blackwell Publishing, Oxford (UK), pp. 212–227.
- Griffiths, D. C. 1961.** The development of *Monoctonus palidum* Marshall (Hym., Braconidae) in *Nasonia ribis-nigri* on lettuce and immunity reactions in other lettuce aphids. *Bulletin of Entomological Research*. 52: 147–163.
- Henter, H. J. 1995.** The potential for coevolution in a host-parasitoid system. II. Genetic variation within an aphid population in susceptibility to a parasitic wasp. *Evolution*. 49: 439–445.
- Henter, H. J., y S. Via. 1995.** The potential for coevolution in a host-parasitoid system. I. Genetic variation within an aphid population in susceptibility to a parasitic wasp. *Evolution*. 49: 427–438.
- Ibboston, A., y J. S. Kennedy. 1951.** Aggregation in *Aphis fabae* Scop. I. Aggregation on plants. *Annals of Applied Biology*. 38: 65–78.

- Jazzar, C., R. Meyhöfer, L. Ebssa, y H. M. Poehling. 2008.** Two protagonists on aphidophagous patches: effects of learning and intraguild predation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 127: 88–99.
- Kunert, G., E. Belz, J. C. Simon, W. W. Weisser, y Y. Outreman. 2010.** Differences in defensive behaviour between host-adapted races of the pea aphid. *Ecological Entomology*. 35: 147–154.
- Lima, S. L., y L. M. Dill. 1990.** Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology*. 68: 619–640.
- Losey, J. E., y R. F. Denno. 1998.** The escape response of pea aphids to foliar-foraging predators: factors affecting dropping behaviour. *Ecological Entomology*. 23: 53–61.
- Losey, J. E., A. R. Ives, J. Harmon, F. Ballantyne, y C. Brown. 1997.** A polymorphism maintained by opposite patterns of parasitism and predation. *Nature*. 388: 269–272.
- Mackauer, M., J. P. Michaud, y W. Völkl. 1996.** Host choice by aphidiid parasitoids (Hymenoptera: Aphididae): host recognition, host quality and host value. *Canadian Entomologist*. 128: 959–980.
- Nault, L. R., L. J. Edwards, y W. E. Styer. 1973.** Aphid alarm pheromones: Secretion and reception. *Environmental Entomology*. 2: 101–105.
- Nelson, E. H., C. E. Matthews, y J. A. Rosenheim. 2004.** Predators Reduce Prey Population Growth by Introducing changes in Prey Behavior. *Ecology*. 85: 1853–1858.
- Pasteels, J. M., J. C. Gregoire, y M. Rowell-Rahier. 1983.** The chemical ecology of defense in arthropods. *Annual Review of Entomology*. 28: 263–289.

- Pickett, J. A., y D. C. Griffiths. 1980.** Composition of aphid alarm pheromones. *Journal of Chemical Ecology*. 6: 349–360.
- Powell, W., y J. K. Pell. 2007.** Biological Control. *In* van Endem, H.F., Harrington, R. (eds.), *Aphids as Crop Pests*. CAB International, Wallingford (UK), pp. 469–513.
- R Core Team. 2012.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ramakers, P. M. J. 2004.** IPM Program for Sweet Pepper. *In* Heinz, K.M., Driesche, V., Parella, M.P. (eds.), *Biocontrol in Protected Culture*. Ball Publishing, Batavia, IL (USA), pp. 439–455.
- Roitberg, B. D., y J. H. Myers. 1979.** Behavioural and physiological adaptations of pea aphids (Homoptera: Aphididae) to high ground temperatures and predator disturbance. *Canadian Entomologist*. 111: 515–519.
- Sanchez, J. A., M. La-Spina, J. M. Michelena, A. Lacasa, y A. Hermoso-de-Mendoza. 2010.** Ecology of the aphid pests of protected pepper crops and their parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*. 21: 171–188.
- Szentesi, A., y M. Wink. 1991.** Fate of quinolizidine alkaloids through three trophic levels: *Laburnum anagyroides* (Leguminosae) and associated organism. *Journal of Chemical Ecology*. 17: 1557–1574.
- Turchin, P., y P. Kareiva. 1989.** Aggregation in *Aphis varians*: an effective strategy for reducing predation risk. *Ecology*. 70: 1008–1016.
- Villagra, C. A., C. C. Ramirez, y H. M. Niemeyer. 2002.** Antipredator responses of aphids to parasitoids change as a function of aphid physiological state. *Animal Behaviour*. 64: 677–683.

Vorburger, C., A. Gouskov, y S. von Burg. 2008. Genetic covariation between effectiveness and cost of defence in aphids. *Biology Letters*. 4: 674–676.

Völkl, W., y M. Mackauer. 2000. Oviposition Behaviour of Aphidiine wasps (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae): Morphological adaptations and evolutionary trends. *Canadian Entomologist*. 132: 197–212.

Weisser, W. W., C. Braendle, y N. Minoretti. 1999. Predator-induced morphological shift in the pea aphid. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 266: 1175–1181.

Wyckhuys, K. A. G., L. Stone, N. Desneux, K. A. Hoelmer, K. R. Hopper, y G. E. Heimpel. 2008. Parasitism of the soybean aphid, *Aphis glycines* by *Binodoxys communis*: the role of aphid defensive behaviour and parasitoid reproductive performance. *Bulletin of Entomological Research*. 98: 361–370.

Conclusiones Generales

General Conclusions

Conclusiones Generales

- El áfido más abundante y problemático en los invernaderos de pimiento [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] del Campo de Cartagena fue *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). En el entorno de los invernaderos existe un gran número de plantas hospedantes que albergan diferentes especies de áfidos y de parasitoides con un gran potencial para controlar las poblaciones de *M. persicae* del cultivo de pimiento. La gran abundancia de parasitoides en la vegetación del entorno de los invernaderos ofrece buenas posibilidades para el desarrollo de estrategias de control de *M. persicae* en pimiento basadas en la conservación de las poblaciones de dichos enemigos naturales.
- En el hospedante primario de *M. persicae* abundan los clones que se reproducen por partenogénesis cíclica, mientras que en el hospedante secundario los que lo hacen por partenogénesis obligada. Las poblaciones de *M. persicae* del norte de la región de Murcia tienen más proporción de formas partenogenéticas cíclicas que las del sur de la región, lo que podría estar relacionado con la mayor tasa de supervivencia de los clones holocíclicos a las bajas temperaturas invernales del norte de la región.
- Las proporciones de los diferentes tipos de clones de *M. persicae* es similar en el pimiento y en las plantas adventicias, lo que es indicio de que los áfidos que infestan el cultivo de pimiento provienen en gran parte de las plantas herbáceas del entorno de los invernaderos. Entre los clones plurianuales existe un clon de coloración roja que por su abundancia y amplia distribución geográfica puede ser considerado como un superclón.
- El superclón mayoritario rojo, presenta una mayor fecundidad, longevidad y r_m que otros clones a altas temperaturas, lo cual explicaría en parte su abundancia en los invernaderos de pimiento al encontrar aquí temperaturas más idóneas para su reproducción y

dispersión.

- Se ha observado una variación en el comportamiento defensivo y en la vulnerabilidad de *M. persicae* en la interacción con el parasitoide *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) en los clones estudiados. El superclón rojo es el que más se defiende y más parasitismo tiene, mientras que en los otros clones se han detectado indicios de encapsulación, que explicarían el bajo índice de parasitismo resultante del ataque del parasitoide. Estos resultados no explican el éxito del superclón rojo.

General Conclusions

- *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) was the most abundant and problematic aphid on sweet pepper [*Capsicum annuum* L. (Solanaceae)] greenhouses from Campo de Cartagena. In the greenhouses surrounding there is a large number of host plants which harbour different species of aphids and parasitoids with a great potential to control *M. persicae* populations on sweet pepper crop. The large abundance of parasitoids on greenhouses surrounding vegetation offers good chances to develop control strategies for *M. persicae* on sweet pepper based on conservation of these natural enemies.
- Clones that reproduce by cyclic parthenogenesis abound on *M. persicae* primary host, while on secondary host those that do it by obligate parthenogenesis are most abundant. *Myzus persicae* populations from the north of Murcian region have a higher proportion of parthenogenetic cyclic forms than those from the south of the region. That could be related with a higher survival rate of holocyclic clones at low winter temperatures from the north of the region
- The proportions of different kinds of *M. persicae* clones are similar between sweet pepper and herbaceous plants. This is a sign that in sweet pepper crop most of the aphid infestation comes from herbaceous plants of greenhouses surrounding. Between pluriannual clones exists a clone with red coloration that presents a large abundance and wide geographic distribution. This clone could be considered a superclone.
- The principal red superclone, presents a higher fertility, longevity and r_m than other clones at high temperatures. This would explain its abundance on sweet pepper greenhouses, as temperatures there are more suitable for its reproduction and dispersion.

- A variation on defensive behaviour and vulnerability of the studied clones of *M. persicae* in the interaction with *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) parasitoid was observed. Red superclone presented the highest levels of defence and parasitism, while other clones showed signs of encapsulation, which would explain the lower parasitism level after parasitoid attack. These results do not explain the success of the red superclone.

