

Sanidad vegetal y protección de cultivos**Artículos de investigación científica y tecnológica**

Variabilidad genética neutral y presencia de mecanismos de resistencia en *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), provenientes de diferentes hospedantes en Chile central

Neutral genetic variability and resistance mechanisms present in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) from different hosts in central Chile

José Antonio Rubiano-Rodríguez,^{1*} Eduardo Fuentes-Contreras,² Claudio Ramírez³

¹ Investigador PhD, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Motilonia. Codazzi, Colombia. Correo: jrubiano@agrosavia.co. Orcid <https://orcid.org/0000-0002-2145-4162>

² Académico investigador, Universidad de Talca, Departamento de Producción Agrícola. Talca, Chile. Correo: efuentes@utalca.cl. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3567-3830>

³ Académico investigador, Universidad de Talca, Instituto de Ciencias Biológicas. Talca, Chile. Correo: cramirez@utalca.cl. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6110-3973>

Editor temático: Felipe Borrero Echeverry (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria [AGROSAVIA])

Fecha de recepción: 24/07/2018

Fecha de aprobación: 14/05/2019

Para citar este artículo: Rubiano-Rodríguez, J. A., Fuentes-Contreras, E., & Ramírez, C. (2019). Variabilidad genética neutral y presencia de mecanismos de resistencia en *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), provenientes de diferentes hospedantes en Chile central. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 20(3), 611-633

DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num3_art:1589



Esta licencia permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de la obra de modo no comercial, siempre y cuando se dé el crédito y se licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

* Autor de correspondencia. Centro de Investigación Motilonia, kilómetro 5 vía a Becerril, Agustín Codazzi, Cesar, Colombia.

Resumen

Myzus persicae es considerado la tercera plaga de importancia económica de varios cultivos en Chile. Su variabilidad genética es influenciada por la disponibilidad del hospedante primario. Este insecto ha adquirido resistencia a la mayoría de los insecticidas utilizados para su control. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la diversidad genética y la presencia de mecanismos de resistencia de *M. persicae* en cultivos como duraznero y pimentón. El estudio se realizó en doce localidades: seis en la región de O'Higgins y seis en la región del Maule en Chile central. Para evaluar la diversidad genética neutral, se utilizaron siete marcadores microsatélites, y la identificación de mecanismos se realizó mediante ensayos de discriminación alélica. La mayor diversidad

genética se presentó en poblaciones del duraznero > 0,80 en promedio. En pimentón y arvenses, esta diversidad fue 0,36 en promedio. La frecuencia de individuos con mecanismos de resistencia fue baja y en forma predominantemente heterocigota en los hospedantes evaluados, lo que sugiere que la forma de reproducción sexual del áfido influye en los niveles de resistencia a insecticida. La presencia de mecanismos de resistencia en *M. persicae* depende del hospedante, región geográfica y momento de muestreo en el que son evaluados. Existe suficiente evidencia de que las poblaciones de *M. persicae* están compuestas por muy pocos grupos genéticos, presentando diferentes dinámicas de resistencia a insecticidas en la misma temporada agrícola.

Palabras clave: Brassicaceae, insecticidas, plagas de plantas, *Prunus persica*, resistencia

Abstract

Myzus persicae is considered the third pest of economic importance in Chile affecting several crops. Its genetic variability is influenced by the availability of the primary host. *M. persicae* has acquired resistance to most of the insecticides used for its control. The current work aimed to evaluate the genetic diversity and the presence of resistance mechanisms of *M. persicae* in crops, such as peach and sweet pepper. The study was carried out in twelve localities, six in the O'Higgins region and six in the Maule region of central Chile. Monthly collections were performed on the crops and their associated weeds. To evaluate the neutral genetic diversity, seven microsatellite markers were used, and the identification of mechanisms was performed by allelic discrimination tests. According to the results,

the highest genetic diversity (> 0.80 on average) was found in peach populations. In sweet pepper and associated weeds, this diversity was 0.36 on average. The frequency of individuals with resistance mechanisms was low and predominantly heterozygous in the hosts assessed, suggesting that the sexual reproduction form of the aphid influences the levels of resistance to the insecticide. The presence of resistance mechanisms in *M. persicae* depends on the host, the geographical region, and the time in which they are evaluated. There is sufficient evidence that the populations of *M. persicae* are comprised of extremely few genetic groups, presenting different resistance dynamics to insecticides in the same agricultural season.

Keywords: Brassicaceae, insecticides, plant pests, *Prunus persica*, resistance

Introducción

Los áfidos son plagas agrícolas a nivel mundial, que causan daños económicos a muchos cultivos —directamente— por la actividad de alimentación e —indirectamente— por la transmisión de virus a plantas (Blackman & Eastop, 2000). *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) es uno de los áfidos más polívoros, pudiéndose desarrollar en más de 400 especies de plantas (Blackman & Eastop, 2000). Este insecto se reproduce por partenogénesis cíclica, que alterna varias generaciones provenientes de la reproducción asexual que ocurre sobre una gran diversidad de plantas hospederas secundarias durante la primavera y el verano (Blackman & Eastop, 2007). El pulgón verde del duraznero —como se le conoce vulgarmente— tiene un ciclo de vida anual, que presenta una generación sexual en *Prunus persica* (L.) Batsch (Rosaceae), hospedante primario, en el que se producen huevos de hibernación sexual en otoño y se alterna con muchas generaciones asexuales (hembras únicamente) durante primavera-verano en varias plantas herbáceas (hospedantes secundarios) (Charaabi et al., 2008).

Rouger, Reichel, Malrieu, Masson y Stoeckel (2016) señalan que la diversidad genética de la población en especies con ciclos de vida complejos es difícil de anticipar; el modelo desarrollado por dichos autores demostró que la partenogénesis cíclica tiene efectos específicos en la diversidad genética neutral y son diferentes de otros modos reproductivos (es decir, sexualidad completa, clonalidad completa). En este sentido, y como lo sustentan diferentes estudios, las poblaciones de *M. persicae* que se reproducen mediante partenogénesis cíclica presentan una mayor variabilidad genética que las poblaciones con partenogénesis obligada y alternancia entre el hospedante primario y secundarios (Blackman, Malarky, Margaritopoulos, & Tsitsipis, 2007).

La distancia geográfica entre dos sitios de muestreo no influye en la variabilidad genética, pero sí puede ser determinante en las diferencias genéticas entre las poblaciones analizadas. Se ha observado que poblaciones de *M. persicae* presentan mayor diferenciación genética en sitios separados por 120 km

o más (Fenton, Malloch, Navajas, Hillier, & Birch, 2003; Guillemaud, Mieuzet, & Simon, 2003; Vorburger, Lancaster, & Sunnucks, 2003; Wilson, Sunnucks, Blackman, & Hales, 2002; Zamoum et al., 2005). Sin embargo, la variabilidad genética de una población de *M. persicae* puede ser influenciada por otros factores, tales como el flujo génico entre poblaciones de una localidad a otra, que a su vez puede depender de las condiciones ambientales de dichas localidades (Vorbuguer et al., 2003); la presencia de individuos especializados sobre algún hospedante, y la alternancia entre el hospedante primario y los secundarios (Blackman et al., 2007; Kasprovicz, Malloch, Pickup, & Fenton, 2008; Margaritopoulos, Malarky, Tsitsipis, & Blackman, 2007). No obstante, varios estudios indican que la disponibilidad de *P. persica* como hospedante primario influye más sobre la variabilidad genética de *M. persicae* (Fenton, Kasprovicz, Malloch, & Pickup, 2010; Guillemaud et al., 2003; Margaritopoulos, Malarky, et al., 2007; Wilson et al., 2002; Zamoum et al., 2005) que la distancia geográfica que pueda existir entre dos o más localidades de estudio (Sánchez, Spina, Guirao, & Cánovas, 2013).

El principal método para el control de las poblaciones de áfidos a nivel mundial es el uso de insecticidas químicos (Dewar, 2007). Pero ya se ha registrado resistencia a diferentes productos químicos en diversos países (Devonshire et al., 1998; Fenton, Margaritopoulos, Malloch, & Foster, 2010; Voudouris et al., 2016). Para el control de *M. persicae* en la agricultura chilena, se utilizan productos de los grupos carbamatos, organofosforados, piretroides y neonicotinoides (Servicio Agrícola y Ganadero, 2012). Los estudios en Chile sobre resistencia a insecticidas en *M. persicae* se han realizado con genotipos colectados esporádicamente en amplios rangos geográficos (Castañeda et al., 2011; Fuentes-Contreras et al., 2013), pero sin tener en cuenta variables como la planta hospedera, las diferentes localidades y regiones geográficas analizadas, o las interacciones entre estas. Aunque se ha evaluado la variabilidad genética y la presencia de mecanismos de resistencia de *M. persicae* a una escala espacial de huerto, considerando los hospedantes primario y secundario durante una temporada agrícola

(Rubiano-Rodríguez et al., 2014), hasta la fecha no hay estudios que permitan relacionar la variabilidad genética neutral y la frecuencia de mecanismos de resistencia a una escala regional, teniendo en cuenta los disímiles hospedantes (primarios y secundarios) y las diferentes localidades.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad genética neutral y la presencia de mutaciones en el canal de sodio (*kdr* y *super kdr*) y la acetilcolinesterasa (MACE) que confieren resistencia a insecticidas en *M. persicae*, provenientes de huertos de duraznero (hospedante primario), campos de pimentón *Capsicum annuum* var. *grossum* (L.) Sendtn. y algunas de las arvenses asociadas (hospedantes secundarios) en 12 localidades en Chile central: seis en la región de O'Higgins y seis en la región del Maule.

Materiales y métodos

Lugar del estudio y toma de muestras

El trabajo se realizó en las regiones de O'Higgins (VI) y del Maule (VII), en Chile central; en cada una de estas regiones se seleccionaron seis huertos: tres de duraznero y tres con cultivos de pimentón, bajo un sistema de manejo de plagas convencional (aplicación regular de insecticidas). La distancia más cercana de los huertos entre regiones fue entre Comalle, de la región del Maule, y Nancagua, de la región de O'Higgins, separadas aproximadamente por 21 km. Los huertos de Majadilla, en la región del Maule, y Qta- Tilcoco II, en la región O'Higgins, fueron los más distanciados entre sí, con 90 km entre ellos aproximadamente (figura 1). En cada sitio se tomaron muestras al azar en 20 puntos; en cada punto, se colectaron cinco individuos ápteros o alados del pulgón verde del duraznero en tres momentos de muestreo: primavera (I), verano-otoño (II) e invierno (III), durante la temporada agrícola 2010-2011 (tabla 1). Además, se colectó el mismo número de individuos en *Brassica rapa* L. (Brassicaceae),

asociada en cada uno de los huertos. Las muestras se conservaron en alcohol al 90 %, y los individuos fueron identificados mediante la clave para *M. persicae* descrita por Blackman y Eastop (2007).

Genotipificación

El análisis de genotipificación fue realizado en el laboratorio del Instituto de Ecología y Evolución, de la Universidad Austral de Chile. En total se genotipificaron 1.010 individuos con la técnica de marcadores microsatélites. Se utilizaron siete loci microsatelite (*Myz2*, *Myz3*, *Myz9*, *Myz25*, *M35*, *M37* y *M40*), que se han descrito y utilizado ampliamente para estudios de genética de poblaciones de *M. persicae* (Fuentes-Contreras, Figueroa, Reyes, Briones, & Niemeyer, 2004; Kasprovicz et al., 2008; Malloch et al., 2006; Margaritopoulos, Malarky et al., 2007; Vorburger, 2006; Wilson et al., 2002). El ADN genómico (ADNg) se obtuvo a partir de cada individuo mediante el método *salting-out* (Sunnucks & Hales, 1996). El ADNg extraído fue cuantificado mediante espectrofotometría (Nanodrop ND-1000) y se evaluó su calidad mediante electroforesis en geles de agarosa 0,8 %, teñidos con bromuro de etidio, con lo que se pudo observar la intensidad de las bandas bajo luz ultravioleta (UV). Cuando la calidad del ADNg fue deficiente, se tomaron individuos de la misma muestra que se habían almacenado y se extrajo nuevo ADNg para tal fin.

La genotipificación de los individuos se realizó mediante la técnica de marcaje con fluoróforo (Schuelke, 2000), y la determinación de los tamaños alélicos se desarrolló mediante análisis de fragmentos en un secuenciador automático en Macrogen Inc. (Corea). Para determinar el ancho de las bandas, los datos fueron analizados por medio de electroferogramas, con el programa Genemarker V.1.3 (Borodovsky & McIninch, 1993). Posteriormente, se evaluó la presencia de alelos nulos o errores de genotipificación con el *software* Micro-Cheker V.2.2.3 (Van Oosterhout, Hutchinson, Oills, & Shipley et al., 2004).

Tabla 1. Ubicación de las localidades, número de individuos de *M. persicae* por hospedante y momento de muestreo de colecta, en las regiones de O'Higgins (VI) y Maule (VII), durante la temporada agrícola 2010-2011

Región	Localidad	Coordenadas	Hospedante	Número de individuos			
				I	II	III	Total
VI	Qta-Tilcoco I	34°21'14" S and 70°53'58" O	<i>P. persica</i>	25	24	0	49
			<i>B. rapa</i>	24	0	27	51
	Qta-Tilcoco II	34°20'43" S and 70°54'34" O	<i>P. persica</i>	20	24	0	44
			<i>B. rapa</i>	20	8	17	45
	Nancagua	34°39'05" S and 71°15'32" O	<i>P. persica</i>	29	9	0	38
			<i>B. rapa</i>	30	0	31	61
	Rengo	34°24'34" S and 70°52'35" O	<i>C. annuum</i>	8	15	0	23
			<i>B. rapa</i>	16	21	27	64
	Malloa I	34°28'11" S and 70°57'08" O	<i>C. annuum</i>	23	13	0	36
			<i>B. rapa</i>	17	21	26	64
	Malloa II	34°28'09" S and 70°56'56" O	<i>C. annuum</i>	0	16	0	16
			<i>B. rapa</i>	0	15	27	42
VII	Los Alisos	34°54'59" S and 71°15'24" O	<i>P. persica</i>	19	38	0	57
			<i>B. rapa</i>	23	10	22	55
	Majadilla	35°01'00" S and 71°28'38" O	<i>P. persica</i>	33	29	0	62
			<i>B. rapa</i>	35	26	25	86
	Vista Hermosa	34°55'24" S and 71°10'39" O	<i>P. persica</i>	27	23	0	50
			<i>B. rapa</i>	24	18	26	68
	Comalle	34°50'19" S and 71°17'56" O	<i>C. annuum</i>	12	21	0	33
			<i>B. rapa</i>	19	10	22	51
	Isla Marchant	34°56'40" S and 71°16'04" O	<i>C. annuum</i>	21	18	0	39
			<i>B. rapa</i>	20	11	15	46
	Vista Hermosa	34°55'23" S and 71°10'32" O	<i>C. annuum</i>	19	21	0	40
			<i>B. rapa</i>	20	12	21	53
Total							1.173

¹ Momentos de muestreo: primavera (I), verano-otoño (II), e invierno (III).

Fuente: Elaboración propia

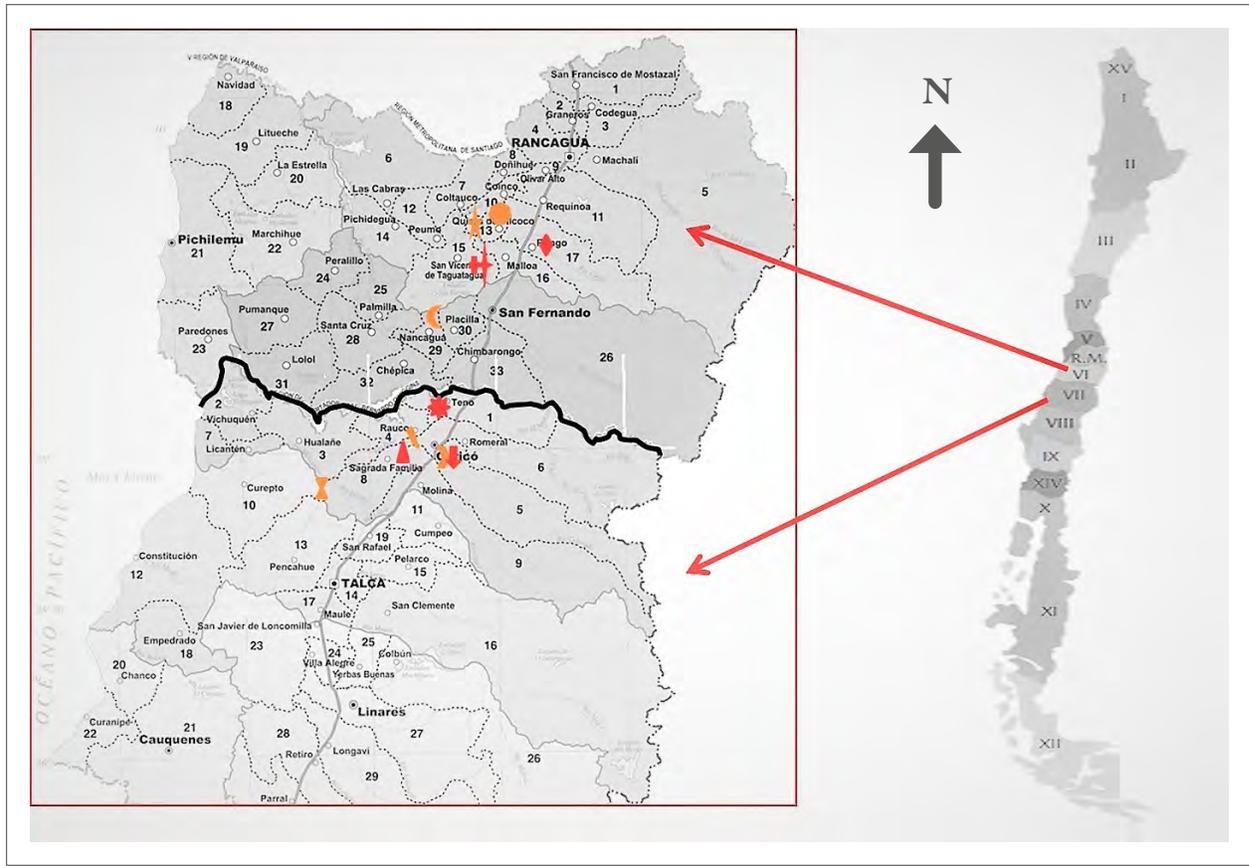


Figura 1. Mapa de ubicación de los huertos donde se realizaron las colectas. Huertos de Duraznero en la VI región: (★) Quinta de Tilcoco I, (●) Quinta de Tilcoco II, y VII región: (▲), Nancagua, (▲), Los Alisos, (▲) Vista Hermosa (▲) Majadillas. Huertos de Pimentón en la VI región (◆) Rengo, (◆) Malloa I, (◆) Malloa II, (◆) y VII región Comalle, (▲) Isla Machant, (▲) Vista Hermosa.

Fuente: Adaptado y modificado de Google Maps

Detección de mutaciones de resistencia

La identificación de mutaciones se realizó usando la tecnología de PCR en momento de muestreo real (qRT-PCR), mediante ensayos de discriminación alélica ABI Taqman. Las mutaciones *kdr* y súper *kdr* se identificaron mediante el método descrito por Anstead, Williamson, Eleftherianos y Denholm (2004), mientras que la identificación de la mutación MACE se realizó según el protocolo descrito por Anstead, Williamson y Denholm (2008). Ambos métodos hacen uso de la actividad 5'-exonucleasa de la *Taq* polimerasa para cuantificar secuencias específicas en una muestra. Para cada mutación se utilizaron dos sondas diferentes (con y sin mutación), marcadas con un fluoróforo en el extremo 5' (FAM o HEX) y un apagador (*quencher*)

en el extremo 3'. La hidrólisis de la sonda separa al fluoróforo de esta, que al estar separado del apagador emite una fluorescencia característica, representando la secuencia presente en el ADN al cual se alineó (cADN).

La reacción de PCR se desarrolló en un volumen total de 11,9 μL por individuo constituido por 6,25 μL de TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems), 1,5 μL de cebador F, 1,5 μL de cebador R, 0,5 μL de sonda S (condición de susceptibilidad), 0,5 μL de sonda R (mutación de resistencia), 0,5 μL de DNA (25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) y 1,75 μL de H_2O ultrapura. Tanto para las mutaciones *kdr* como para las súper *kdr*, las sondas de susceptibilidad fueron marcadas con el fluoróforo FAM, que posee una longitud de onda de excitación de 492 nm

y una longitud de onda de emisión de 517 nm, por lo que se lo considera un emisor verde, mientras que las de resistencia se marcaron con el fluoróforo HEX, que posee una longitud de onda de excitación de 535 nm y una longitud de onda de emisión de 556 nm, por lo que se lo considera un emisor amarillo. En cambio, para la mutación MACE la sonda de susceptibilidad fue marcada con HEX y la de resistencia con FAM. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador Stratagene Mx 3000 P, usando un perfil térmico que consistió en una etapa inicial de 2 min a 50 °C, 16 min-40 seg a 95 °C, seguidos de 40 ciclos consistentes en 15 seg a 92 °C y 1 min a 60 °C; finalmente, 15 seg a 72 °C, midiéndose en esta última etapa la fluorescencia de cada reacción.

Análisis de datos

Todos los individuos colectados se analizaron como genotipos multilocus (MLG), es decir, fueron genotipos que amplificaron los siete *loci* utilizados en la genotipificación. La diversidad genética se calculó usando la diversidad genética gruesa (DGG), basada en la proporción n/N , donde n representa el número total de MLG y N , el número total de individuos analizados en las muestras. Los análisis se realizaron utilizando una sola copia de cada MLG para todas las variables evaluadas (localidad, periodo y hospedante), debido a que la “amplificación” clonal no es igual en todos los genotipos y puede llevar a desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) dentro de las muestras, distorsionando así las estimaciones de las frecuencias alélicas (Sunnucks, De Barro, Lushai, Maclean, & Hales, 1997). Por ejemplo, cuando el análisis se hizo para la variable *localidad* se dejó una copia por localidad del mismo MLG y, así, sucesivamente con todas las variables. Las frecuencias alélicas, la proporción de alelos nulos, la heterocigocidad observada (H_o) y esperada (H_e), las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg

(HWE) y el desequilibrio de ligamiento (Fis) entre el conjunto de datos, se analizaron con la prueba exacta de Fisher, implementada en Genepop V.3.2A (Raymond & Rousset, 1995). La riqueza alélica (R_s = número de alelos independientemente del tamaño de la muestra), se calculó usando el programa FStat V.2.9.3.2 (Goudet, 1995). Además, se realizó un análisis molecular de varianza (Amove), utilizando el programa Arlequin V.2.0 (Schneider, Roessli, & Excoffier, 2000).

La estructura genética del set de datos se realizó mediante un análisis de clúster bayesiano mediante el programa Structure V.2.3.2 (Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000). El número de poblaciones (k) utilizadas estuvo en un rango de 1 a 10, con 10 corridas para cada k , 100.000 *burn in* y 10^6 iteraciones en la cadena de Markov Monte Carlo. El número de grupos genéticos se determinó basado en el criterio de ΔK de Evanno, Regnaut y Goudet (2005), usando Structure Harvester.¹

Con el fin de identificar si había grupos genéticos que se compartían entre las diferentes variables, se realizaron cuatro análisis por separado en cada una de las mimas así: i) región, ii) momentos de muestreo, iii) hospedante/región, y iv) hospedante/momento de muestreo. Los individuos fueron asignados a cada grupo cuando su probabilidad de pertenencia fue $> 0,8$. La diferencia en la frecuencia de mutaciones de resistencia a insecticidas (*kdr*, súper *kdr* y MACE) entre MLG (usando tanto copias únicas como múltiples) provenientes de diferentes regiones, hospedantes y momento de muestreo, se evaluó a través del empleo de tablas de contingencia y la prueba de chi cuadrado (χ^2). Las comparaciones múltiples entre las frecuencias de MLG se realizaron mediante la prueba de Marascuilo con el empleo del programa estadístico XLStat-Pro 7.5 (Addinsoft, Nueva York, EE. UU.).

¹Disponible en <http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>

Resultados y discusión

Distribución de genotipos y diversidad genética

Del total de individuos analizados, se encontraron 368 genotipos multilocus (MLG). A nivel espacial, la diversidad genética gruesa (DGG) fue estadísticamente superior en la región de O'Higgins (0,43) que en la región del Maule (0,32) (tabla 2). Estos resultados son consistentes a los informados por Rubiano-Rodríguez et al. (2014), quienes evaluaron la diversidad genética a nivel de huerto en las mismas regiones de colecta. A nivel temporal, la DGG de los periodos I y II (0,43 y 0,50, respectivamente) fue mayor que la del periodo III (tablas 2-3). La DGG de *P. persicae* fue estadísticamente superior en su hospedante primario, tanto espacial como temporalmente a la de los otros dos hospedantes (tablas 2-3), lo que se puede explicar de dos maneras. En primer lugar, este fenómeno pudiera estar relacionado con el ciclo reproductivo holocíclico-heteroico del pulgón verde del duraznero, en el que a inicios de la primavera se congregan individuos que provie-

nen de diferentes orígenes, tales como la eclosión de fundatrices, migración de algunos MLG que pasaron el invierno en hospedantes secundarios y el regreso de las hembras virgínoparas que darán origen a las hembras ovíparas ápteras para la reproducción sexual (Blackman & Eastop, 2007). Es por eso que, al presentarse la reproducción sexual, existe mayor flujo genético, dando como resultado mayor presencia de genotipos diferentes sobre el duraznero.

Un segundo análisis pudiera estar orientado a una menor abundancia de *M. persicae* sobre duraznero en comparación con *C. annuum* y *B. rapa*. Los datos de abundancia poblacional no son directamente comparables entre un árbol (*P. persica*) y plantas herbáceas de menor tamaño (*C. annuum* y *B. rapa*), debido a que sobre el duraznero solo es posible encontrar individuos del pulgón a mediados de primavera y finales de otoño, mientras que en los hospedantes secundarios se pueden encontrar durante todo su ciclo vegetativo, y en el caso de las arvenses, como *B. rapa*, durante todo el año.

Tabla 2. Número de áfidos analizados (*N*), número de MLG (*n*) y el índice de diversidad genética gruesa (DGG) de *Myzus persicae* (*n/N*) en las regiones de O'Higgins y Maule, sobre los diferentes hospedantes durante la temporada agrícola 2010-2011

Región	Hospedante	N	n	n/N
De O'Higgins	Duraznero	105	95	0,91 ^a
	Pimentón	72	52	0,72 ^a
Total/Región	Yuyo	251	69	0,28 ^b
		428	184	0,43 ^A
Del Maule	Duraznero	151	128	0,85 ^a
	Pimentón	95	32	0,34 ^b
Total/Región	Arvenses	336	62	0,19 ^b
		582	185	0,32 ^B
Muestreo total		1.010	369	0,37

Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas según la prueba de χ^2 en comparación múltiple de Marascuilo entre todas las proporciones. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas según la prueba de χ^2 en comparación múltiple de Marascuilo entre las proporciones totales regionales.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3. Número de áfidos analizados (N), número de MLG (n) y el índice de diversidad genética gruesa (DGG) de *Myzus persicae* (n/N) en los tres momentos de muestreo sobre los diferentes hospedantes durante la temporada agrícola 2010-2011

Momentos de muestreo	Hospedante	N	n	n/N
I	Duraznero	132	110	0,83 ^a
	Pimentón	81	41	0,51 ^b
Total/momento de muestreo	Arvenses	231	57	0,25 ^c
		444	192	0,43 ^A
II	Duraznero	124	114	0,92 ^a
	Pimentón	86	42	0,49 ^b
Total/momento de muestreo	Arvenses	162	49	0,30 ^{bc}
		372	187	0,50 ^A
III	Duraznero	-	-	-
	Pimentón	-	-	-
Total/momento de muestreo	Arvenses	194	42	0,22 ^c
		194	42	0,22 ^B
Total		1.010	369	0,37

Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas según la prueba de χ^2 en comparación múltiple de Marascuilo entre todas las proporciones. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas según la prueba de χ^2 con comparación múltiple de Marascuilo entre las proporciones totales de los momentos de muestreo.

Fuente: Elaboración propia

A nivel espacial, la región de O'Higgins presentó la mayor DGG, lo que puede estar relacionado con que esta región posee mayor área cultivada con duraznero que la región del Maule. Hay varios reportes que indican que la mayor diversidad genética de *M. persicae* se encuentra en aquellas zonas o áreas donde predomina el cultivo de su hospedante primario, siendo esta la única especie vegetal donde este áfido presenta la reproducción sexual (Fenton, Kasprovicz et al., 2010; Guillemaud et al., 2003; Margaritopoulos, Malarky et al., 2007; Wilson et al., 2002; Zamoum et al., 2005). Del total de MLG encontrados, 71 genotipos eran múltiples, es decir,

genotipos que se encuentran más de una vez en diferentes localidades y diferentes momentos de muestreos, de los cuales el 42% estaba presente en las dos regiones. De todos los MLG, se encontraron 10 que se denominan *comunes*, ya que son los más frecuentes y se hallan en las dos regiones, en los tres momentos de muestreo evaluados y en los tres hospedantes (tabla 4). Estos MLG más frecuentes en su mayoría no presentaron los mecanismos de resistencia evaluados, a excepción de los MLG G039 y G239 que fueron heterocigotos resistentes (RS) para *kdr*, el G272 que fue RS para MACE, y el G119 RS para los tres mecanismos (tabla 4).

El número de MLG encontrados en este estudio a nivel regional es algo superior a los resultados del estudio a nivel de huerto (Rubiano-Rodríguez et al., 2014), lo que se puede adjudicar a que en este estudio se incluyó un mayor número de huertos (tres de cada cultivo por región). Si hacemos una comparación con estudios en otros países, el número de MLG encontrados en nuestro estudio es mayor, por ejemplo: en España, estudios sobre pimentón, arvenses, almendro y una pocas muestras de durazneros encontraron 289 (Sánchez et al., 2013); en Australia, se encontraron 72 en brócoli (Vorburger, 2006); en Nueva Zelanda, en papa, se encontraron 23 (Van Toor et al., 2008), y en Escocia, sobre cultivos de papa y brócoli, se encontraron 21 (Kasprowicz et al., 2008). Esto también se debe a que en la mayoría de estos estudios los individuos analizados provenían principalmente de hospedantes secundarios, en los que la diversidad genética es generalmente baja.

En estudios realizados por Guillemaud et al. (2003) en Francia, con áfidos procedentes de árboles de duraznero, se encontraron 100 MLG, siendo estos resultados menores al informado en este estudio. Este resultado se puede deber a que, al utilizar trampas de succión en las colectas, se puede capturar individuos provenientes de diferentes hospedantes; también pudiera estar asociado al tamaño de la muestra, pues fue relativamente bajo en comparación con el tamaño de la muestra del presente estudio. Cuando los muestreos o colectas se hacen en el hospedante primario, podemos encontrar resultados similares, tal como sucedió en un estudio realizado en Grecia e Italia en zonas con y sin producción de duraznero, en el que el número de MLG fue similar al de nuestro estudio con 482 MLG (Blackman et al., 2007).

Tabla 4. Detalle de los diez MLG más comunes encontrados en el presente estudio y su respectivo perfil de resistencia. Número de áfidos caracterizados para determinado MLG (N) en las Regiones de O'Higgins y Maule en los tres momentos de muestreo sobre los diferentes hospedantes durante la temporada agrícola 2010-2011

Genotipos	N	Hospedante ¹			Región	Momento de muestreo ²	Perfil de resistencia		
		D	P	M			<i>kdr</i>	<i>super kdr</i>	MACE
G039	11	X	X	X	VI / VII	I / II	RS	SS	SS
G355	11		X	X	VI / VII	I / II/III	SS	SS	SS
G277	18		X	X	VI / VII	I / II/III	SS	SS	SS
G119	20		X	X	VI / VII	I / II/III	RS	RS	RS
G343	20	X		X	VI / VII	I / II/III	SS	SS	SS
G321	32	X	X	X	VI / VII	I / II/III	SS	SS	SS
G272	43	X	X	X	VI / VII	I / II	SS	SS	RS
G239	94	X	X	X	VI / VII	I / II / III	RS	SS	SS
G011	98		X	X	VI / VII	I / II / III	SS	SS	SS
G205	172	X	X	X	VI / VII	I / II / III	SS	SS	SS

¹ Hospedantes: Durazno (D), Pimentón (P), y Arvenses (M).

² Momentos de muestreo: primavera (I), verano-otoño (II) e invierno (III).

Fuente: Elaboración propia

Los siete loci microsatélite en este estudio fueron polimórficos, con un número promedio de alelos que van de 5,7 a 7,7, en la región de O'Higgins, y de 6,4 a 6,9, en la región del Maule. La H_e y H_o fueron muy similares en todas las poblaciones de las dos regiones (tabla 5), lo que indica que estas poblaciones se encontraban en HWE. Los valores de Fis fueron significativos, pero relativamente bajos, lo que indicó un bajo nivel de endogamia entre las poblaciones (tabla 5). Aunque estos resultados suelen ser frecuentes en poblaciones con reproducción sexual o con partenogénesis cíclica, también es posible observar valores de Fis fuertemente positivos para especies altamente clonales (lo que ocurre en *M.*

persicae durante la mayor parte de su ciclo de vida), si la mutación domina sobre la deriva genética (Rouger et al., 2016). En el caso de desequilibrio de ligamiento, pocos pares de loci fueron significativos en las muestras de *P. persica* y *C. annuum* en las dos regiones. Algo similar ocurrió cuando se analizó la variable "momento de muestreo". En las muestras provenientes de *Brassica rapa* hubo mayor número de pares de loci con desequilibrio de ligamiento significativo (tabla 5). La presencia de HWE y los bajos niveles de endogamia (Fis), así como los bajos niveles de desequilibrio de ligamiento, apoyan la teoría e importancia de la reproducción sexual en Chile.

Tabla 5. Índice de diversidad genética por región. Promedio del número de alelos (N), riqueza alélica (R_s = número de alelos independiente del tamaño de la muestra), heterocigocidad observada (H_o) y esperada (H_e), valor Fis y la proporción de pares que fueron significativos en la prueba de desequilibrio de ligamiento (DL)

Región	Hospedante	N	R_s	H_o	H_e	Fis	DL
O'Higgins	Durazno	5,7	4,8	0,5293	0,5310	0,0031*	3/21
	Pimentón	6,6	6,0	0,5165	0,5794	0,1086*	3/21
	Arvenses	7,7	6,4	0,5631	0,6083	0,0742*	13/21
Maule	Durazno	6,4	5,0	0,5078	0,5344	0,0497*	2/21
	Pimentón	6,4	6,4	0,5357	0,6051	0,1147*	8/21
	Arvenses	6,9	6,0	0,5645	0,5929	0,0479*	15/21

* Valores significativos para $p < 0,01$.

Fuente: Elaboración propia

Otros estudios realizados en Chile demuestran que las poblaciones de *M. persicae* están en HWE, sospechando la presencia de reproducción sexual (Fenton, Margaritopoulos et al., 2010; Rubiano-Rodríguez et al., 2014). Además, durante este estudio se logró observar la presencia de morfos sexuales y huevos, que fueron recolectados y observados en laboratorio, donde se pudo observar la cópula y, posteriormente,

la emergencia de fundatrices. Lo anterior ratifica la relación positiva que existe entre la diversidad genética del pulgón verde del duraznero y su hospedante primario *P. persica*. Según Fenton, Margaritopoulos et al. (2010), la diversidad genética de *M. persicae* se puede mantener durante la dispersión hacia hospedantes secundarios en invierno y el regreso a su hospedante primario en primavera.

Nuestros resultados difieren con algunos otros estudios realizados a nivel mundial con *M. persicae*, en los que informan que las poblaciones estudiadas no están en HWE, por ejemplo, en Francia (Fenton et al., 2003; Guillemaud et al., 2003), Australia (Wilson et al., 2002) y en Grecia (Margaritopoulos, Malarky et al., 2007). Esto podría deberse a que las poblaciones analizadas en estos estudios fueron colectadas sobre hospedantes secundarios principalmente, donde no ocurre la reproducción sexual, siendo este tipo de reproducción uno de los supuestos para que una población se encuentre en HWE.

Diferenciación genética entre las poblaciones

Los resultados del Amova entre regiones mostraron que hay diferenciación genética significativa (0,28%) entre las dos regiones evaluadas (tabla 6), pero no hay diferencias genéticas significativas de las poblaciones, entre las localidades de la misma región. Sin embargo, sí se encontró diferenciación genética significativa de los individuos dentro de las localidades (6,97%), mientras que la mayor variación genética se encontró dentro de los individuos (92,67%). Los resultados del Amova, cuando los hospedantes fueron considerados como el componente principal del análisis (tabla 6), indicaron un bajo pero significativo porcentaje de variación genética entre hospedantes (1,37%). Cuando se analiza la contribución de las localidades teniendo en cuenta el mismo hospedante, el porcentaje de variación en este nivel no fue estadísticamente significativo. Se observó un porcentaje de diferenciación genética (6,31%) altamente significativa entre individuos dentro de las localidades, y la mayor variación genética se sigue presentando dentro de los individuos (92,34%). Según los resultados obtenidos durante el estudio, la variación genética entre las poblaciones de *M. persicae* que se presenta en Chile está más determinada por la especie de la planta (hospedante) y no por el lugar o la distancia geográfica que pueda existir entre los sitios de colectas.

El bajo pero significativo porcentaje de variación genética encontrado en este estudio a nivel de región

puede indicar algún grado de especialización logrado por algunos genotipos de *M. persicae* sobre ciertas plantas. Estudios precedentes en Chile habían informado algún grado de especialización de *M. persicae* sobre tabaco (Fuentes-Contreras et al., 2004; Margaritopoulos, Skouras et al., 2007). También en España Sánchez et al. (2013) registraron la abundancia de un genotipo de *M. persicae* sobre *Solanum physalifolium*.

Los valores de FST en este estudio indican que las poblaciones que se recolectaron sobre las arvenses en las dos regiones fueron genéticamente diferentes a las poblaciones recolectadas en los cultivos (duraznero y pimentón), lo que concuerda con lo registrado por Vialatte, Dedryver, Simon, Galman y Plantegenest (2005), quienes indican que las poblaciones del áfido de la espiga *Sitobion avenae* Fabricius (Hemiptera: Aphididae), recolectadas sobre plantas no cultivables, generalmente son genéticamente diferentes a las recolectadas sobre plantas cultivables.

En el análisis de diferenciación genética por pares de poblaciones, considerando regiones y hospedantes, se encontraron algunas diferencias significativas (tabla 7). Es así como las poblaciones colectadas sobre duraznero en las dos regiones (D-VI y D-VII) y sobre pimentón de la región de O'Higgins (P-VI) mostraron una diferenciación genética por pares (FST) significativa con respecto a poblaciones colectadas sobre las arvenses (M-VI y M-VII) de las dos regiones (tabla 7). Además, el FST entre las poblaciones colectadas sobre durazno en la región del Maule (D-VII) también fue significativo, comparado con las poblaciones colectadas sobre pimentón (P-VI) de la región de O'Higgins (tabla 7). El análisis bayesiano de la estructuración genética de las poblaciones reveló que, cuando se consideraron las variables *momentos de muestreo, hospedante/región* y *hospedante/momentos de muestreo*, la mejor partición del conjunto de datos fue de dos grupos genéticos (K = 2) (figuras 2a, b, c); sin embargo, cuando los datos se analizaron según las regiones se encontraron tres grupos genéticos (K = 3) (figura 2d).

Tabla 6. Análisis de la varianza molecular de *M. persicae* comparando muestras entre regiones y hospedantes

Fuente de variación	g.l	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación (%)	Índice de fijación	<i>p</i>
Entre regiones	1	5.309	0,00559	0,28	FCT: 0,00278	0,04399 + 0,00523
Entre localidades dentro de regiones	10	23.020	0,00180	0,09	FSC: 0,00090	0,27370 + 0,01555
Entre individuos dentro de las localidades	523	1.121.763	0,14019	6,97	FIS: 0,06993	0,00000 + 0,00000
Dentro de individuos	535	997.500	186.449	92,67	FIT: 0,07335	0,00000 + 0,00000
Total	1.069	2.147.592	201.206			
Entre hospedantes	2	22.931	0,02763	1,37	FCT: 0,01368	0,00000 + 0,00000
Entre localidades dentro de hospederos	21	44.129	-0,00041	-0,02	FSC: -0,00021	0,60997 + 0,01631
Entre individuos dentro de localidades	511	1.083.031	0,12747	6,31	FIS: 0,06399	0,00000 + 0,00000
Dentro de individuos	535	997.500	186.449	92,34	FIT: 0,07661	0,00000 + 0,00000
Total	1.069	2.147.592	201.917			

FCT: coeficiente de diferenciación genética entre regiones; FSC: coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones en las regiones; FST: coeficiente de diferenciación genética entre todas poblaciones; FIS: grado de endogamia; FIT: diferenciación genética entre subpoblaciones.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 7. Diferenciación genética por pares (F_{ST}) entre las muestras de *M. persicae* según región y hospedante

	M-VIII	M-VI	P-VII	P-VI	D-VII	D-VI
M-VII	--	0,390	0,390	0,020	0,020	0,010
M-VI	0,000	--	0,220	0,010	0,010	0,010
P-VII	0,000	0,003	--	0,260	0,090	0,110
P-VI	0,015	0,018	0,004	--	0,020	0,460
D-VII	0,007	0,014	0,007	0,010	--	0,050
D-VI	0,016	0,024	0,006	0,000	0,006	--

¹ Durazno (D) y Pimentón (P), Arvenses (M), Región de O'Higgins (VI) y Región del Maule (VII). Los valores F_{ST} se muestran bajo la diagonal. Los valores de probabilidad basados en 999 permutaciones se muestran sobre la diagonal.

Fuente: Elaboración propia

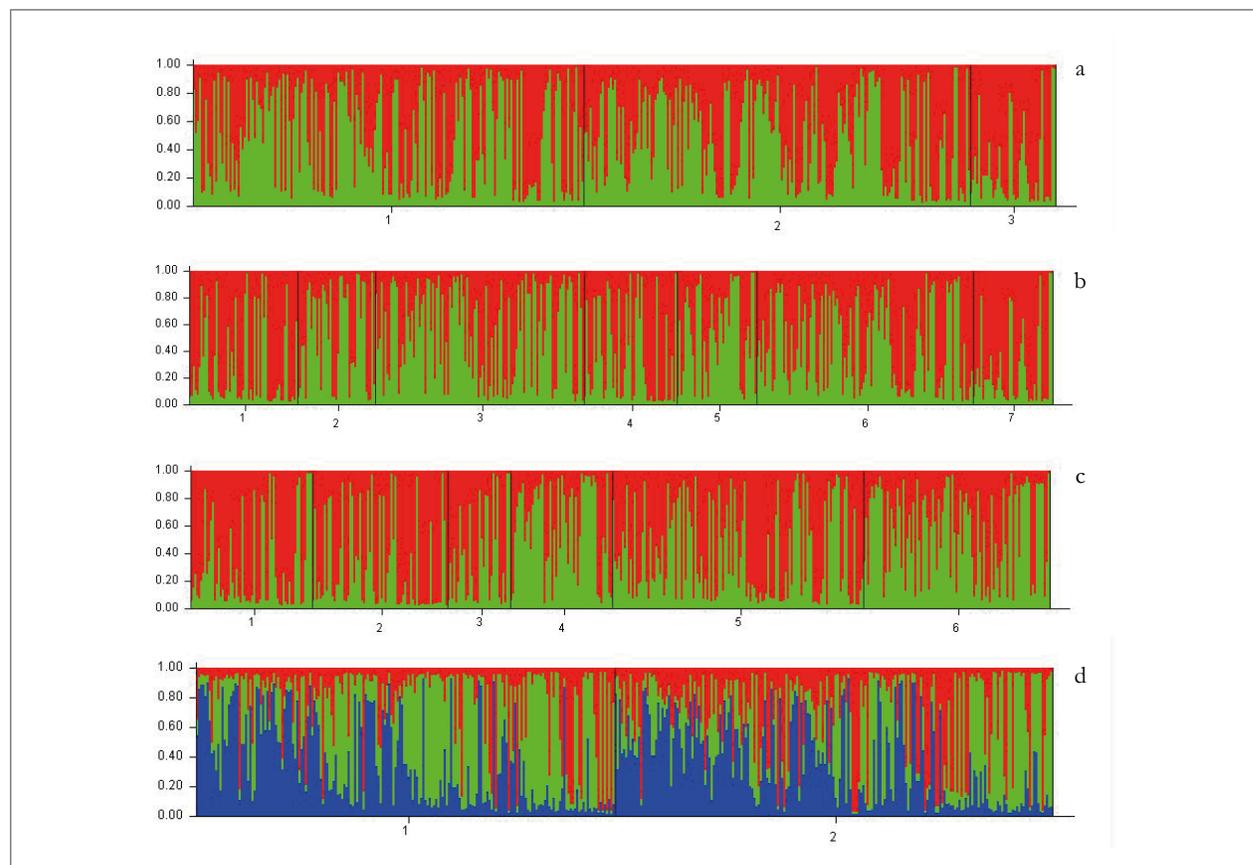


Figura 2. Grupos genéticos de *M. persicae* en Chile central, detectados por Structure, según las variables *momentos de muestreo* (a) y *hospedante/momentos de muestreo* (b), *hospedante/región* (c) y *región* (d).

Fuente: Elaboración propia

No se pudieron asociar todos los grupos genéticos identificados para los análisis realizados a ninguna de las variables evaluadas y sus combinaciones posibles (momentos de muestreo, hospedante/momentos de muestreo y hospedante/región), lo que podría deberse, en primer lugar, a que *M. persicae* es la especie de áfido con mayor número de hospedantes secundarios informados, que juegan un papel importante como fuente de migración hacia los cultivos, permitiendo así que el insecto se pueda trasladar de un hospedante a otro en busca de alimento y mejores condiciones (Margaritopoulos, Tsourapas, Tzortzi, Kanavaki, & Tsitsipis, 2005).

En segundo lugar, la existencia de la reproducción sexual en las poblaciones del áfido en Chile contribuye

a un alto flujo genético entre las poblaciones de *M. persicae*, tanto en hospedantes secundarios como en regiones a través del momento de muestreo (Fenton, Margaritopoulos et al., 2010). Al parecer puede existir mayor número de grupos genéticos en poblaciones con bajo flujo genético y menos en poblaciones con alto flujo genético (Guillemaud et al., 2003; Vialatte et al., 2005; Vorbüger, 2006). Esto se debe a que el flujo genético se da cuando hay reproducción sexual, resultando progenie con diferenciación genética, mientras que la progenie proveniente de reproducción asexual es de bajo flujo, generando clones idénticos con igual información genética. Por lo tanto, podríamos inferir que estos grupos de poblaciones encontrados no tienen MLG con propiedades biológicas diferentes y no proporcionan ningún significado biológico evidente.

Tabla 8. Proporción de MLG y su perfil de resistencia en los tres mecanismos evaluados en las regiones de O'Higgins (VI) y Maule (VII) durante primavera (I), verano-otoño (II), e invierno (III) de la temporada agrícola 2010-2011.

Muestra	<i>kdr</i>			súper <i>kdr</i>			MACE		
	RR	RS	SS	RR	RS	SS	RR	RS	SS
VI Región	0,107 (46) ^A	0,374 (160) ^A	0,519 (222) ^A	0	0,079 (24) ^A	0,921 (394) ^A	0,026 (119) ^A	0,262 (112) ^A	0,713 (305) ^A
VII Región	0,029 (17) ^B	0,347 (202) ^A	0,624 (363) ^B	0	0,029 (17) ^B	0,971 (565) ^B	0,005 (3) ^B	0,153 (89) ^B	0,842 (490) ^B
Momento de muestreo I	0,074 (33) ^a	0,351 (156) ^a	0,574 (255) ^a	0	0,077 (34) ^a	0,923 (410) ^a	0,014 (6) ^a	0,189 (84) ^a	0,797 (354) ^a
Momento de muestreo II	0,078 (29) ^a	0,454 (169) ^b	0,468 (174) ^b	0	0,062 (23) ^a	0,938 (349) ^a	0,022 (8) ^a	0,290 (108) ^b	0,688 (256) ^b
Momento de muestreo III	0,000 (0) ^b	0,211 (41) ^c	0,789 (153) ^c	0	0,041 (8) ^a	0,959 (186) ^a	0,000 (0) ^b	0,046 (9) ^c	0,954 (185) ^c

Nota: En paréntesis el número de MLG. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas según la prueba de χ^2 en comparación múltiple de Marascuilo entre las regiones. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas según la prueba de χ^2 en comparación múltiple de Marascuilo entre los momentos de muestreo.

Fuente: Elaboración propia

Resistencia a insecticidas

En las dos regiones estuvieron presentes los tres mecanismos de resistencia evaluados (*kdr*, súper *kdr* y MACE). En la región de O'Higgins, los tres mecanismos tuvieron frecuencias levemente superiores a las de la región del Maule (tabla 8), destacándose *kdr* con 10,9% de homocigotos (RR) y 29,4% de heterocigotos (RS). La mutación súper *kdr* solamente se presentó en forma RS en un 6% del total de los MLG identificados y, en el caso de MACE, fue un

2,2% RR y 18,5% RS (figura 3A). A nivel espacial, los MLG de la región de O'Higgins tienden a presentar mayor frecuencia de genotipos con resistencia heterocigota en los tres mecanismos evaluados y resistencia homocigota en *kdr* y MACE que en la región del Maule (figura 3a, tabla 8); mientras que en primavera (I) y verano-otoño (II), las frecuencias de los MLG y los diferentes mecanismos de resistencia fueron similares en forma homocigota (RR), siendo estadísticamente diferentes a las frecuencias en invierno (III).

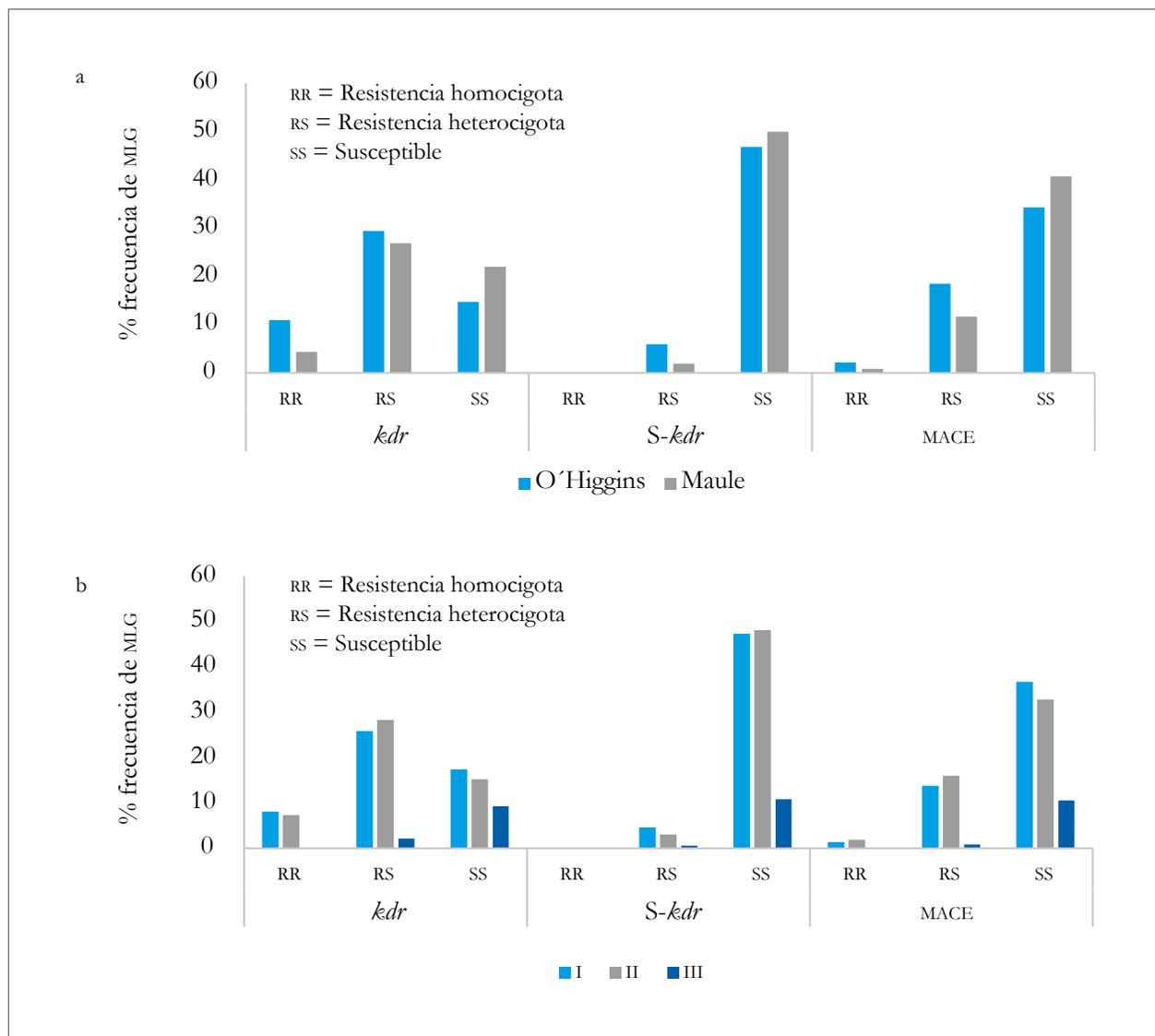


Figura 3. Frecuencias de MLG con los tres mecanismos de resistencia evaluados según región (a) y momentos de muestreo (b) durante la temporada agrícola 2010-2011. I = Primavera-verano, II = Verano-Otoño, y III = Invierno. Fuente: Elaboración propia

En el caso de la forma heterocigota (RS), las frecuencias en los tres momentos de muestreo presentaron diferencias significativas en los tres mecanismos evaluados (figura 3b y tabla 8). A nivel de hospedante, las poblaciones colectadas sobre los cultivos principales (durazno y pimentón) fueron las que presentaron mayor frecuencia de genotipos con algún mecanismo de resistencia, ya sea en forma heterocigota u homocigota, tanto temporal como espacialmente. De estos dos hospedantes, el duraznero es el que tiende a presentar con más frecuencia de forma general genotipos con algún mecanismo

de resistencia, sin llegar a ser significativo (figura 4a y b). La presencia de los tres mecanismos de resistencia evaluados, ya sea de forma homocigota o heterocigota en varios de los MLG, podría deberse a las aplicaciones de insecticidas en la parte aérea de las plantas, a las que están sometidas las plantaciones para el control de plagas agrícolas. De ahí que, en los huertos de duraznero, exista mayor presión de selección por el número de aplicaciones de insecticidas (entre 9 y 12) para el control de *M. persicae* y otras plagas, mientras que en el cultivo de pimentón oscilan entre cuatro y seis.

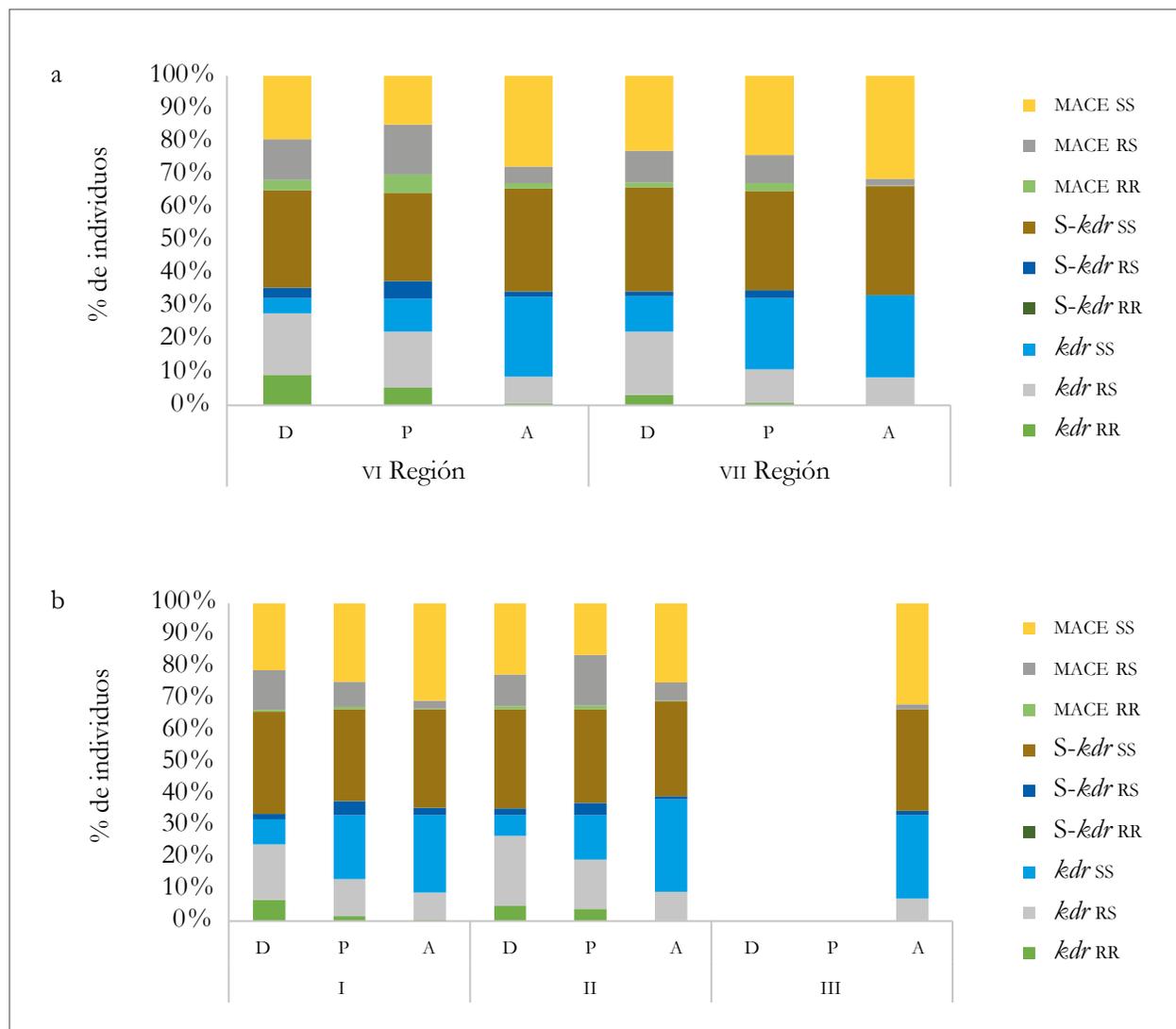


Figura 4. Composición porcentual de los individuos en los diferentes mecanismos de resistencia entre regiones (a) y momento de muestreo (b) para los diferentes hospedantes: durazno (D), pimentón (P), y arvenses (A) en la temporada agrícola 2010-2011.

Fuente: Elaboración propia

Los grupos de insecticidas mayormente utilizados en dichos campos y que están relacionados con estos mecanismos de resistencia son piretroides, relacionado con *kdr* y súper *kdr* (Eleftherianos, Foster, Williamson & Denholm, 2008; Martínez-Torres, Foster, Field, Devonshire & Williamson, 1999), y carbamatos, relacionados con MACE (Moore, Devine & Devonshire, 1994; Nabeshima, Kozaki, Tomita, & Kono, 2003). También se realizan aplicaciones de neonicotinoides; de acuerdo con Bass et al. (2011), la resistencia a este tipo de insecticida está asociada a una mutación en la subunidad beta del receptor nicotínico de la acetilcolina. Aunque este mecanismo de resistencia no fue evaluado en este estudio, es importante tenerlo en cuenta en futuras investigaciones.

Los tres mecanismos estudiados han sido identificados con anterioridad en poblaciones de *M. persicae* en Chile (Castañeda et al., 2011) y en otros países tales como Grecia (Margaritopoulos, Skouras et al., 2007), EE. UU. (Srigiriraju, Semtner, Anderson & Bloomquist, 2010), Francia (Fontaine et al., 2011) y Nueva Zelanda (van Toor, Malloch, Anderson, Daoson, & Fenton, 2008). La mínima presencia de MLG con el mecanismo de resistencia súper *kdr* se puede deber a que este mecanismo únicamente se manifiesta en algunos genotipos que presentan el mecanismo de resistencia tipo *kdr* (Anstead et al., 2008), que fue baja en este estudio. La mayor presencia de genotipos RS, principalmente en MACE y *kdr*, se puede deber a la influencia de la forma holocíclica de reproducción del pulgón verde del duraznero, en la que la reproducción sexual disminuye la proporción de homocigotos y heterocigotos resistentes (Fenton, Kasproicz et al., 2010).

La disminución de genotipos con presencia de algún mecanismo de resistencia al final de la temporada agrícola puede estar relacionada a los costos de la resistencia. Tal como lo indican Fenton, Margaritopoulos et al. (2010), genotipos de *M. persicae* con presencia de algún mecanismo de resistencia bajan su potencial reproductivo. Además, existen evidencias de que varias especies de insectos con resistencia a insecticidas reducen su supervivencia y su habilidad reproductiva, además de ser

más vulnerables a enemigos naturales (Abbas, Khan & Shad 2015; Castellanos et al., 2019; Guedes, Smagghe, Stark, & Desneux 2016; van Toor et al., 2013). De acuerdo con la prueba de χ^2 , la frecuencia de los tres mecanismos de resistencia fue dependiente de la región de estudio, estando más asociados a la región de O'Higgins para *kdr* (copias únicas $\chi^2 = 15,9$ y $df = 2$, $p < 0,001$ y copias múltiples $\chi^2 = 29,4$ y $df = 2$, $p < 0,001$), súper *kdr* (copias únicas $\chi^2 = 7,5$ y $df = 1$, $p < 0,01$ y copias múltiples $\chi^2 = 12,9$ y $df = 1$, $p < 0,001$) y MACE (copias únicas $\chi^2 = 9,9$ y $df = 2$, $p < 0,01$ y copias múltiples $\chi^2 = 27,4$ y $df = 2$, $p < 0,001$). Con respecto al momento de muestreo, súper *kdr* no fue dependiente del momento de muestreo en el análisis con copias únicas ($\chi^2 = 1,7$ y $df = 2$, $p = 0,4221$), pero sí fue del momento de muestreo con copias múltiples, estando asociados principalmente a verano-otoño (II) ($\chi^2 = 13,5$ y $df = 2$, $p < 0,005$), al igual que en los otros dos mecanismos, *kdr* copias únicas ($\chi^2 = 40,8$, $df = 4$, $p < 0,001$ y copias múltiples $\chi^2 = 55,9$, $df = 4$, $p < 0,001$) y MACE (copias únicas $\chi^2 = 13,2$ y $df = 4$ y $p < 0,05$, copias múltiples $\chi^2 = 56,1$ y $df = 4$, $p < 0,001$).

Un conjunto de 13 MLG fueron considerados importantes debido a la combinación de mecanismos de resistencia que presentaron (tabla 9). Entre ellos se destacó el G119, ya que fue encontrado en las dos regiones, en los tres momentos de muestreo y sobre hospedantes secundarios (pimentón y *B. rapa*) en forma heterocigota (RS) para los tres mecanismos de resistencia evaluados. Este mismo genotipo fue destacado entre los 10 MLG más comunes (tabla 4). Otro genotipo que es importante destacar por su nivel de resistencia es G276, que fue homocigoto resistente (RR) en *kdr* y MACE, aunque fue colectado únicamente sobre pimentón en primavera. Los genotipos G26, G65, G128 y G353 fueron RR, RS y RS en *kdr*, súper *kdr* y MACE, respectivamente (tabla 9).

Estos resultados indican la importancia de implementar en Chile estrategias de manejo que eviten el incremento de la frecuencia de individuos con algún mecanismo de resistencia, dentro de las cuales la rotación de insecticidas con diferentes modalidades de acción tiene un rol importante.

Tabla 9. Detalle de los genotipos con mayor presencia de mecanismos de resistencia encontrados en este estudio en las regiones de O'Higgins (VI) y Maule (VII).

Genotipo	Hospedante ¹			Región	Momento de muestreo ²	Perfil de resistencia		
	D	P	M			<i>kdr</i>	súper <i>kdr</i>	MACE
G022	X			VI	II	RS	RS	RS
G026		X		VI	I	RR	RS	RS
G037	X			VI	I	RS	RS	RS
G065	X			VI	I	RR	RS	RS
G087		X		VI	I	RS	RS	RS
G101	X			VI	II	RS	RS	RS
G111	X			VII	I	RS	RS	RS
G119		X	X	VI / VII	I / II / III	RS	RS	RS
G128	X			VII	I	RR	RS	RS
G148	X			VI	II	RS	RS	RR
G228		X		VI	I	RS	RS	RS
G276		X		VI	I	RR	SS	RR
G353			X	VI	I	RR	RS	RS

¹ Hospedantes: Durazno (D), Pimentón (P), y Arvenses (M).

² Momentos de muestreo: primavera (I), verano-otoño (II), e invierno (III).

Fuente: Elaboración propia

De igual forma, en la implementación de manejo integrado de plagas (MIP) racional, se deben regular las aplicaciones de insecticidas de acuerdo con el monitoreo, disminuyendo así el número de aplicaciones. El uso de insecticidas verdes y el mantenimiento de plantas hospederas que alberguen individuos susceptibles libres de la acción de los insecticidas puede disminuir el nivel de resistencia

cuando migran al hospedante primario y participan de la reproducción sexual. Por último, pero no menos importante, es conveniente aumentar la fauna benéfica, mediante la conservación de enemigos naturales en corredores biológicos, ya que los áfidos con mutaciones que confieren resistencia se convierten en presas fáciles para sus enemigos naturales.

Conclusiones

La diversidad genética neutral de *M. persicae*, tal como lo ha registrado la literatura, sigue siendo más alta en poblaciones colectadas sobre su hospedante primario *P. persica* que en las colectadas sobre otros hospedantes secundarios (pimentón y arvenses). Este resultado está ligado estrechamente a la ocurrencia de la reproducción sexual del insecto sobre el hospedante primario. Por la gran disponibilidad de su hospedante primario por área sembrada en la región de O'Higgins, fue en esta región donde se presentó mayor diversidad genética. Esto permite inferir que varios de los genotipos encontrados están estrechamente relacionados con su hospedante primario. En Chile central existen genotipos con los tres mecanismos de resistencia evaluados, pero en forma predominantemente heterocigota. El hospedante principal (duraznero) de *M. persicae* alberga la mayor cantidad de genotipos con al menos un mecanismo de resistencia. Esto se debe principalmente al uso generalizado de insecticidas químicos para el control del pulgón verde del duraznero,

que imponen una presión de selección superior a la natural; de ahí que estén altamente asociados a los mecanismos de resistencia evaluados.

Agradecimientos

Los autores desean expresar agradecimientos al Dr. Christian Figueroa, líder del laboratorio del Instituto de Ecología y Evolución, de la Universidad Austral de Chile. Especialmente a la Organización de Estados Americanos (OEA) y La Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (Conicyt) de Chile, por la financiación de sus estudios a nivel de doctorado.

Descargos de responsabilidad

La investigación fue financiada por los proyectos Fondecyt 1090378 y 1100746. Todos los autores realizaron aportes significativos al documento, están de acuerdo con su publicación y manifiestan que no existen conflictos de interés en este estudio.

Referencias

- Abbas, N., Khan, H., & Shad, S. A. (2015). Cross-resistance, stability, and fitness cost of resistance to imidacloprid in *Musca domestica* L., (Diptera: Muscidae). *Parasitology Research*, 114(1), 247-255. doi:10.1007/s00436-014-4186-0.
- Anstead, J. A., Williamson, M. S., & Denholm, I. (2008). New methods for the detection of insecticide resistant *Myzus persicae* in the UK suction trap network. *Agricultural and Forest Entomology*, 10(3), 291-295. doi:10.1111/j.1461-9563.2008.00388.x.
- Anstead, J. A., Williamson, M. S., Eleftherianos, L., & Denholm, I. (2004). High-throughput detection of knock-down resistance in *Myzus persicae* using allelic discriminating quantitative PCR. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34(8), 871-877. doi:10.1016/j.ibmb.2004.06.002.
- Bass, C., Puinean, A., Andrews, M., Cutler, P., Daniels, M., Elias, J., ... Slater, R. (2011). Mutation of a nicotinic acetylcholine receptor beta subunit is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *BMC Neuroscience*, 12(51), 11. doi:10.1186/1471-2202-12-51.
- Blackman, R. L., Malarky, G., Margaritopoulos, J. T., & Tsitsipis, J. A. (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(3), 253-263. doi:10.1017/S0007485307004907.
- Blackman, R. L., & Eastop, V. F. (2007). Taxonomic Issues. En H. F. Van Emden, & R. Harrington (Eds.), *Aphids as Crop Pests* (pp. 1-29). Chichester, Inglaterra: CAB International. doi:10.1079/9780851998190.0001.
- Blackman, R. L., & Eastop, V. F. (2000). *Aphids on the world's crops. An identification guide*, 2.^a ed. Chichester, Inglaterra: John Wiley.
- Borodovsky, M., & McIninch, J. (1993). GeneMark: parallel gene recognition for both DNA strands. *Computers and Chemistry*, 17(2) 123-133. doi:10.1016/0097-8485(93)85004-V.
- Castañeda, L. E., Barrientos, K., Cortes, P. A., Figueroa, C. C., Fuentes-Contreras, E., ... Bacigalupe, L. D. (2011). Evaluating reproductive fitness and metabolic costs for insecticide resistance in *Myzus persicae* from Chile. *Physiological Entomology*, 36(3), 253-260. doi:10.1111/j.1365-3032.2011.00793.x.
- Castellanos, N. L., Haddi, K., Gislaine, A., Carvalho, G. A., De Paulo, P. D., ... Oliveira, E. E. (2019). Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs. *Journal of Pest Science*, 92(2), 847-860. doi:10.1007/s10340-018-1048-z.
- Charabi, K., Carletto, J., Chavigny, P., Marrakchi, M., Makni, M., & Vanlerberghe-Masutti, F. (2008). Genotypic diversity of the cotton-melon aphid *Aphis gossypii* (Glover) in Tunisia is structured by host plants. *Bulletin of Entomological Research*, 98(4), 333-341. doi:10.1017/S0007485307005585.
- Dewar, A. M. (2007). Chemical control. Aphids as crop pests. En H. F. Van Emden, & R. Harrington (Eds.), *Aphids as Crop Pests* (pp. 391-411). Chichester, Inglaterra: CAB International.
- Devonshire, A. L., Field, L. M., Foster, S. P., Moores, G. D., Williamson, M. S., & Blackman, R. L. (1998). The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 353(1376), 1677-1684. doi:10.1016/j.ibmb.2014.05.003.
- Eleftherianos, I., Foster, S. P., Williamson, M. S., & Denholm, I. (2008). Characterization of the M918T sodium channel gene mutation associated with strong resistance to pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Bulletin of Entomological Research*, 98(2), 183-191. doi:10.1017/S0007485307005524.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620. doi:10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x.
- Fenton, B., Kasprówicz, L., Malloch, G., & Pickup, J. (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(4), 451-460. doi:10.1017/S000748530999044.
- Fenton, B., Margaritopoulos, J. T., Malloch, G. L., & Foster, S. P. (2010). Micro-evolutionary change in relation to insecticide resistance in the potato aphid, *Myzus persicae*. *Ecological Entomology*, 35(1), 131-146. doi:10.1111/j.1365-2311.2009.01150.x.
- Fenton, B., Malloch, G., Navajas, M., Hillier, J., & Birch, A.N. (2003). Clonal composition of the peach-potato aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) in France y Scotland: Comparative analysis with IGS fingerprinting y microsatellite markers. *Annals of Applied Biology*, 142(3), 255-267. doi:10.1111/j.1744-7348.2003.tb00249.x.
- Fontaine, S., Caddoux, L., Brazier, C., Bertho, C., Bertolla, P., ... & Roy, L. (2011). Uncommon associations in target resistance among French populations of *Myzus persicae* from oilseed rape crops. *Pest Management Science*, 67(8), 881-885. doi:10.1002/ps.2224.
- Fuentes-Contreras, E., Figueroa, C. C., Silva, A. X., Bacigalupe, L. D., Briones, L. M., Foster, S. P., & Unruh, T. R. (2013). Survey of resistance to four insecticides and their associated mechanisms in different genotypes of the green peach aphid (Hemiptera: Aphididae) from Chile. *Journal of Economic Entomology*, 106(1), 400-407. doi:10.1603/ec12176.
- Fuentes-Contreras, E., Figueroa, C. C., Reyes, M., Briones, L. M., & Niemeyer, H. M. (2004). Genetic diversity and insecticide resistance of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) populations from tobacco in Chile: evidence for the existence of a single predominant clone. *Bulletin of Entomological Research*, 94(1), 11-18. doi:10.1079/BER2003275.

- Guedes, R. N. C., Smagghe, G., Stark, J. D., & Desneux, N. (2016). Pesticide induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. *Annual Review of Entomology*, 61(1), 43-62. doi:10.1146/annurev-ento-010715-023646.
- Goudet, J. (1995). FStat (version.2.9.3.2): a computer program to calculate *F*-statistics. *Journal of Heredity*, 86(6), 485-486. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a111627.
- Guillemaud, T., Mieuzet, L., & Simon, J. C. (2003). Spatial and temporal genetic variability in French populations of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Heredity*, 91(2), 143-152. doi:10.1038/sj.hdy.6800292.
- Kasproicz, L., Malloch, G., Pickup, J., & Fenton, B. (2008). Spatial and temporal dynamics of *Myzus persicae* clones in fields and suction traps. *Agricultural and Forest Entomology*, 10(2), 91-100. doi:10.1111/j.1461-9563.2008.00365.x.
- Malloch, G., Hight, F., Kasproicz, L., Pickup, J., Neilson, R., & Fenton, B. (2006). Microsatellite marker analysis of peach-potato aphids (*Myzus persicae*, Homoptera: Aphididae) from Scottish suction traps. *Bulletin of Entomological Research*, 96(6), 573-582. doi:10.1079/BER2006459.
- Margaritopoulos, J. T., Malarky, G., Tsitsipis, J. A., & Blackman, R. L. (2007). Microsatellite DNA and behavioural studies provide evidence of host-mediated speciation in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 91(4), 687-702. doi:10.1111/j.1095-8312.2007.00828.x.
- Margaritopoulos, J. T., Skouras, P. J., Nikolaidou, P., Manolikaki, J., Maritsa, K., ... Tsitsipis, J. A. (2007). Insecticide resistance status of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) populations from peach and tobacco in mainland Greece. *Pest Management Science*, 63(8), 821-829. doi:10.1002/ps.1409.
- Margaritopoulos, J. T., Tsourapas, C., Tzortzi, M., Kanavaki, O. M., & Tsitsipis, J. A. (2005). Host selection by winged colonisers within the *Myzus persicae* group: a contribution towards understanding host specialisation. *Ecological Entomology*, 30(4), 406-418. doi:10.1111/j.0307-6946.2005.00700.x.
- Martínez-Torres, D., Foster, S. P., Field, L. M., Devonshire, A. L., & Williamson, M. S. (1999). A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Insect Molecular Biology*, 8(3), 339-346. doi:10.1046/j.1365-2583.1999.83121.x.
- Moores, G. D., Devine, G. J., & Devonshire, A. L. (1994). Insecticide-insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase-based resistance in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 49(2), 114-120. doi:10.1006/pest.1994.1038.
- Nabeshima, T., Kozaki, T., Tomita, T., & Kono, Y. (2003). An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb-resistant strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 307(1), 15-22. doi:10.1016/s0006-291x(03)01101-x.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Raymond, M., & Rousset, F. (1995). Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3), 248-249. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573.
- Rouger, R., Reichel, K., Malrieu, F., Masson, J. P., & Stoeckel, S. (2016). Effects of complex life cycles on genetic diversity: cyclical parthenogenesis. *Heredity*, 117(5), 336-347. doi:10.1038/hdy.2016.52.
- Rubiano-Rodríguez, J. A., Fuentes-Contreras, E., Figueroa, C. C., Margaritopoulos, J. T., Briones, L. M., & Ramírez, C. C. (2014). Genetic diversity and insecticide resistance during the growing season in the green peach aphid (Hemiptera: Aphididae) on primary and secondary hosts: a farm-scale study in central. *Bulletin of Entomological Research*, 104(2), 182-194. doi:10.1017/S000748531300062X.
- Sánchez, J. A., Spina M. L., Guirao, P., & Cánovas, F. (2013). Inferring the population structure of *Myzus persicae* in diverse agroecosystems using microsatellite markers. *Bulletin of Entomological Research*, 103(4), 473-484. doi:10.1017/S0007485313000059.
- Schneider, S., Roessli, D., & Excoffier, L. (2000). *Arlequin. A software for population genetic data analysis, Version 2.0*. Geneva, Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, Universidad de Ginebra.
- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*, 18(2), 233-234. doi:10.1038/72708.
- Servicio Agrícola y Ganadero. (2012). *Lista de plaguicidas autorizados*. Recuperado de [http://www.sag.gob.cl/OpenDocs/asp/pagDefault.asp?boton=Doc51&argInstanciaId=51&argCarpetaId=327&argTreeNodosAbiertos=\(327\)\(-51\)&argTreeNodoActual=327&argTreeNodoSel=7](http://www.sag.gob.cl/OpenDocs/asp/pagDefault.asp?boton=Doc51&argInstanciaId=51&argCarpetaId=327&argTreeNodosAbiertos=(327)(-51)&argTreeNodoActual=327&argTreeNodoSel=7).
- Srigiriraju, L., Semtner, P. J., Anderson, T. D., & Bloomquist, J. R. (2010). Monitoring for MACE resistance in the tobacco-adapted form of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) in the eastern United States. *Crop Protection*, 29(2), 197-202. doi:10.1016/j.cropro.2009.11.006.
- Sunnucks, P., De Barro, P. J., Lushai, G., Maclean, N. & Hales, D. F. (1997). Genetic structure of an aphid studied using microsatellite: cyclic parthenogenesis, differentiated lineages, and host specialization. *Molecular Ecology*, 6(11), 1059-1073. doi:10.1046/j.1365-294X.1997.00280.x.
- Sunnucks, P., & Hales, D. F. (1996). Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I-II in aphids of the genus *Sitobion* (Hemiptera: Aphididae). *Molecular Biology and Evolution*, 13(3), 510-524. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a025612.
- Van Toor, R. F., Foster, S. P., Anstead, J. A., Mitchinson, S., Fenton, B., & Kasproicz, L. (2008). Insecticide resistance and genetic composition of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) on field potatoes in New Zealand. *Crop Protection*, 27(2), 236-247. doi:10.1016/j.cropro.2007.05.015.

- Van Toor, R. F., Malloch, G.L., Anderson, E. A., Daoson, G., & Fenton, B. (2013). Insecticide resistance profiles can be misleading in predicting the survival of *Myzus persicae* genotypes on potato crops following the application of different insecticide classes. *Pest Management Science*, 69(1), 93-103. doi:10.1002/ps.3370.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, O. F., Oills, D. P. M., & Shipley, P. (2004). Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology*, 4(3), 535-538. doi:10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x.
- Vialatte, A., Dedryver, C. A., Simon, J. C., Galman, M., & Plantegenest, M. (2005). Limited genetic exchanges between populations of an insect pest living on uncultivated and related cultivated host plants. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 272(1567), 1075-1082. doi:10.1098/rspb.2004.3033.
- Vorburger, C. (2006). Temporal dynamics of genotypic diversity reveal strong clonal selection in the aphid *Myzus persicae*. *Journal of Evolutionary Biology*, 19(1), 97-107. doi:10.1111/j.1420-9101.2005.00985.x.
- Vorburger, C., Lancaster, M., & Sunnucks, P. (2003). Environmentally related patterns of reproductive modes in the aphid *Myzus persicae* and the predominance of two 'superclones' in Victoria, Australia. *Molecular Ecology*, 12(12), 3493-3504. doi:10.1046/j.1365-294X.2003.01998.x.
- Voudouris, C. C., Kati, A. N., Sadikoglou, E., Williamson, M., Skouras, P. J., ... Margaritopoulos, J. T. (2016). Insecticide resistance status of *Myzus persicae* in Greece: long-term surveys and new diagnostics for resistance mechanisms. *Pest Management Science*, 72(4), 671-683. doi:10.1002/ps.4036.
- Wilson, A. C., Sunnucks, C., P., Blackman, R. L., & Hales, D. F. (2002). Microsatellite variation in cyclically parthenogenetic populations of *Myzus persicae* in southeastern Australia. *Heredity*, 88(4), 258-266. doi:10.1038/sj.hdy.6800037.
- Zamoum, T., Simon, J. C., Crochard, D., Ballanger, Y., Lapchin, L., ... Guillemaud, T. (2005). Does insecticide resistance alone account for the low genetic variability of asexually reproducing populations of the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Heredity*, 94(6), 630-639. doi:10.1038/sj.hdy.6800673.

