

# TESIS DOCTORAL

## TÍTULO DE LA TESIS DOCTORAL

New insights on plant-virus-aphid interactions on single and double-infected melon plants

**DOCTORANDA:** María del Rocío Galán Cubero

**PROGRAMA DE DOCTORADO:** Biotecnología y Recursos Genéticos de Plantas y Microorganismos Asociados (Universidad Politécnica de Madrid)

**DIRECTORES:** Dr. Alberto Ferreres Castiel, Profesor de Investigación, Instituto de Ciencias Agrarias (ICA-CSIC); Dra. Aránzazu Moreno Lozano, Científica Titular, Instituto de Ciencias Agrarias (ICA-CSIC)

**CENTRO DE TRABAJO Y FINANCIACION:** Tesis Doctoral realizada en el grupo de Insectos Vectores de Patógenos de Plantas del Instituto de Ciencias Agrarias, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (ICA-CSIC). La financiación procedía del proyecto 'Multitrophic interactions between viruses, aphids, and natural enemies in a changing climate (INTERVIRAPHID)' financiado por Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (PID2020-117074RB-I00) y la ayuda de formación de personal investigador predoctoral asociada (PRE2021-098416).

**FECHA Y LUGAR DE LECTURA:** 23 de enero de 2026. Salón de Grado de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas (ETSIAAB) de la Universidad Politécnica de Madrid.

**COMPOSICIÓN DEL TRIBUNAL:** Dra. Pilar Medina Vélez (Presidenta), Dra. Soledad Sacristán Benayas (Secretaria), Dr. Pedro Gómez López (Vocal), Dra. Elisa Isabel Garzo González (Vocal) y Dr. Quentin Chesnais (Vocal)

**CALIFICACIÓN:** Sobresaliente *cum laude*.

## RESUMEN:

Los virus de plantas transmitidos por insectos vectores ocasionan importantes pérdidas económicas en la agricultura mundial. En la naturaleza, las infecciones mixtas que involucran varios virus son frecuentes y aumentan la complejidad de las interacciones virus-vector-planta, influyendo en la transmisión y el comportamiento del vector. Sin embargo, los estudios sobre estas infecciones y su impacto en la retención viral, la alimentación del pulgón y su eficacia biológica siguen siendo limitados. El **objetivo de esta Tesis** fue investigar las interacciones virus-pulgón y cómo diferentes virus (virus del mosaico del pepino, CMV, *Cucumovirus*; virus del mosaico amarillo del calabacín, ZYMV, *Potyvirus*; virus del amarilleo de las cucurbitáceas

transmitido por pulgones, CABYV, *Polerovirus*) influyen en el comportamiento del pulgón *Aphis gossypii* Glover y en la transmisión en melón. Se prestó especial atención a determinar si CMV y ZYMV, ambos transmitidos por pulgón de forma no circulativa pero con estrategias de unión distintas (cápsida y helper, respectivamente), pueden ser coadquiridos y coinoculados por los pulgones y si compiten por sus sitios de retención en los estiletes. Asimismo, se analizó cómo las infecciones dobles de virus con diferentes modos de transmisión afectan al comportamiento alimenticio, la transmisión, la eficacia biológica y la preferencia de hospedador del vector.

El **primer objetivo** abordó la posible competencia entre CMV y ZYMV. Los ensayos de transmisión secuencial mostraron que la transmisión de CMV disminuyó cuando los pulgones habían adquirido previamente ZYMV, lo que sugiere competencia por sus sitios de retención. Además, mediante la técnica de gráficos de penetración eléctrica (EPG) se comprobó que los pulgones podían coadquirir y coinocular CMV y ZYMV en la misma célula durante una sola punción intracelular (pd).

El **segundo objetivo** analizó los efectos indirectos de infecciones simples y dobles de CMV y CABYV en el comportamiento alimenticio y la transmisión viral. En plantas infectadas con CMV, los pulgones realizaron pruebas intracelulares (pd) más frecuentes y prolongadas, favoreciendo la transmisión del virus no circulativo. En plantas infectadas con CABYV se detectaron ligeros aumentos en la salivación e ingestión floemática, favorables para su transmisión. En plantas doblemente (CMV/CABYV) infectadas estas conductas se intensificaron, aunque sin traducirse en mayores tasas de transmisión, lo que sugiere que ambos virus ya optimizan su transmisión mediante la posible manipulación del vector en infecciones simples.

El **tercer objetivo** evaluó la eficacia biológica y la preferencia de *A. gossypii* en plantas con infección simple y doble con los virus CMV y CABYV. Las infecciones por CMV redujeron peso, fecundidad y crecimiento poblacional de los pulgones, mientras que CABYV no tuvo efectos significativos sobre la biología del vector. En infecciones dobles, los efectos negativos de CMV se neutralizaron. En los ensayos de preferencia, los pulgones se sintieron atraídos inicialmente por plantas doblemente infectadas, pero luego se desplazaron hacia plantas sanas, favoreciendo la dispersión viral.

En **conclusión**, esta Tesis demuestra que las infecciones mixtas generan contextos epidemiológicos que modifican las interacciones virus-vector. La competencia entre CMV y ZYMV y los efectos contrastantes de CABYV y CMV sobre el comportamiento, la eficacia biológica y la preferencia de los pulgones evidencian que el resultado de las infecciones mixtas depende en gran medida del modo de transmisión de los virus. Además, la existencia de células coinfectadas durante la adquisición proporciona un marco biológico para la interferencia viral. Estos hallazgos contribuyen a comprender cómo las infecciones mixtas moldean el

comportamiento del vector y la dispersión de virus, lo que resulta clave para predecir la propagación de enfermedades y mejorar las estrategias de manejo en cultivos.



**La doctoranda, los miembros del tribunal y los directores después de la defensa de la tesis.** De izquierda a derecha: Dr. Pedro Gómez López (Vocal), Dra. Pilar Medina Vélez (Presidenta), Dra. Aranzazu Moreno Lozano (Codirectora), Dr. Alberto Fereres Castiel (Codirector), Dra. Elisa Isabel Garzo González (Vocal), Dr. Quentin Chesnais (Vocal) y Dra. Soledad Sacristán Benayas (Secretaria),

**Trabajos derivados de la Tesis que ya han sido publicados:**

- Galán-Cubero, R., Cazorla, J., Fereres, A., Moreno, A. 2026. Consequences of double virus infections on host plant preference and performance of melon aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae). *Annals of the Entomological Society of America*. Aceptado AESA-2025-0068.R2
- Galán-Cubero, R., Jiménez, J., Dader, B., Plaza, M., Hernando, S., Guirao, M., Webster, C. G., Blanc, S., Almeida, R., Uzest, M., Moreno, A., Fereres, A. 2025. Do stylet-borne aphid-transmitted viruses share the same binding sites? *Annals of Applied Biology* 188(1), 87–101. DOI: 10.1111/aab.70028
- Galán, R., Fereres, A., Moreno, A. 2025. *Aphis gossypii* (Hemiptera:Aphididae) feeding responses to double virus infections in melon. *Journal of Insect Science* 25 (1) DOI: 10.1093/jisesa/ieaf017.