



universidad
de león

Tesis Doctoral

**Sentido adaptativo de las agallas
inducidas por pulgones de las tribus
Fordini y Pemphigini (Aphididae:
Eriosomatinae)**

Víctor Moreno González

Programa de Doctorado: Ecología Funcional y Aplicada

Tutor: Francisco García Criado

Director: Rafael Álvarez Nogal

León, 2023

Índice general

Resumen	1
Summary	5
Introducción general	9
Las agallas de plantas	9
Los insectos gallígenos	10
Inducción y desarrollo de las agallas	11
Los pulgones gallígenos (Aphididae: Eriosomatinae)	12
Estudios previos sobre Fordini	17
Estudios previos sobre Pemhigini	20
Objetivos	22
Metodología general	23
El área de estudio	23
Muestreos	24
Métrica de las agallas y estimación de su volumen	26
Determinación del tamaño población de la colonia gallícola	26
Análisis estadísticos	28
1 Clasificación morfo-histológica de agallas de pulgones	
Una perspectiva filogenética	29
2 Dinámicas poblacionales y desarrollo de las agallas de Fordinos	33
3 Cambios fisiológicos durante el desarrollo Las agallas definitivas de <i>Forda formicaria</i>	37
4 Enemigos naturales de Fordinos y Pemhiginos	41
Discusión General	45
El sentido adaptativo de las agallas de pulgones	45
Hipótesis nutricional	46
Hipótesis del enemigo	48
¿Por qué algunas agallas son rojas y otras no?	49
Sobre el papel de las fundatrígenas aladas	50
Conclusiones	53
Bibliografía	55
Appendices	63
C SessionInfo	65
Información de sesión del Capítulo I	67
Información de sesión del Capítulo II	68
Información de sesión del Capítulo III	69
Información de sesión del Capítulo IV	70

RESUMEN

Las agallas de plantas son estructuras inducidas *de novo* por la actividad de un organismo gallígeno, producidas mediante fenómenos de hipertrofia e hiperplasia. Su formación y posterior desarrollo dependen en gran medida del organismo inductor. Cuando éste induce la formación de agallas, provoca una profunda alteración en la expresión de genes de la planta hospedadora, lo que resulta en cambios significativos en su fisiología y morfología. A pesar del interés evolutivo de esta relación planta-insecto, los mecanismos precisos que desencadenan la formación de agallas en la mayoría de las especies gallígenas aún no se comprenden completamente. Sin embargo, se ha observado que ciertas fitohormonas, como el ácido indolacético y otras auxinas, desempeñan un papel relevante en este proceso.

Las agallas pueden tener efectos beneficiosos, perjudiciales o neutros en la planta hospedadora. A lo largo de las décadas, se han propuesto diversas hipótesis para explicar el sentido adaptativo de las agallas, que van desde el beneficio para la planta hasta el beneficio exclusivo del organismo inductor. En la actualidad, las hipótesis más ampliamente aceptadas respecto al sentido adaptativo de las agallas incluyen: (i) la hipótesis nutricional, que sostiene que las agallas mejoran la calidad nutritiva de los tejidos de la planta, aumentando así el éxito reproductor del organismo inductor; (ii) la hipótesis del enemigo, que argumenta que las agallas poseen mecanismos de defensa que protegen al organismo inductor contra depredadores o parásitos naturales; y (iii) la hipótesis del microambiente, que sugiere que las agallas proporcionan un entorno estable al organismo inductor, ayudándolo a evitar el estrés causado por factores ambientales externos.

Hoy en día, la mayoría de los organismos que inducen la formación de agallas son especies de insectos pertenecientes a diversos órdenes, como Hymenoptera,

Diptera y Hemiptera. Entre estos últimos, se destacan los pulgones gallígenos de la subfamilia Eriosomatinae, cuyas agallas son coloniales y pueden albergar desde unas pocas decenas hasta miles de individuos en su interior. Aunque no hay un amplio respaldo para la monofilia de esta subfamilia, se sugiere que la capacidad de inducir la formación de agallas ha surgido al menos en dos ocasiones de manera independiente en este grupo.

En este contexto, el análisis detallado de las agallas de esta subfamilia proporcionará una comprensión más profunda del origen evolutivo de estas estructuras, así como de su sentido adaptativo. Por consiguiente, los objetivos específicos de esta tesis doctoral incluyen: (1) desarrollar una clasificación de las agallas de pulgones basada en características histológicas; (2) investigar las interacciones dinámicas entre las poblaciones de pulgones y su relación con el desarrollo de las agallas; (3) confirmar la validez de la hipótesis nutricional; y (4) validar la hipótesis del enemigo en relación con las agallas inducidas por estos pulgones.

Con este propósito, se han recolectado muestras de agallas inducidas por especies de *Fordini* y *Pemphigini* en los entornos de las Médulas y la ciudad de León, respectivamente. Se han registrado las dimensiones de cada agalla, así como las características de las colonias de pulgones que las habitan. Estas agallas han sido posteriormente utilizadas para llevar a cabo estudios específicos, que incluyeron análisis histológicos, fisiológicos, poblacionales y ecológicos.

Basándose en los datos histológicos recopilados hasta la fecha de las agallas de *Fordini* y *Pemphigini*, se ha llevado a cabo una clasificación que identifica tres tipos distintos de agallas: agallas cerradas, agallas abiertas en forma de saco y agallas abiertas en forma de pliegue. Estas agallas presentan diferencias no solo en sus características histológicas, sino también en aspectos biológicos, como en el tamaño de la colonia gallícola, los mecanismos de apertura y la eliminación de residuos. El estudio de la hipertrofia y la hiperplasia de los tejidos de las agallas ha revelado la importancia del desarrollo del floema en estas estructuras, así como el papel estructural del xilema. Desde una perspectiva filogenética, se ha confirmado que en *Fordini* la capacidad de inducir agallas surgió en una única ocasión y que las agallas en forma de pliegue se originan a partir de las agallas cerradas. Por otro lado, en *Pemphigini*, tanto las agallas cerradas como las agallas abiertas en forma de saco tienen orígenes independientes a partir de pseudoagallas.

El análisis del desarrollo de la colonia de pulgones y de las agallas en las especies de *Fordini* ha revelado una estrecha interdependencia entre ambas. Tanto la colonia de pulgones como la agalla mostraron un crecimiento que siguió un patrón logístico, y se determinó que el desarrollo de la agalla está directamente relacionado

con el crecimiento de la colonia. Estos resultados permitieron conocer el papel de las fundatrígenas ápteras en el crecimiento rápido inicial de la agalla.

Los hallazgos relacionados con la fisiología de las agallas maduras de *Forda formicaria* han proporcionado información crucial sobre su función como sumideros fisiológicos. Además, se han encontrado indicios que sugieren su impacto negativo en la capacidad fotosintética de las agallas y la inhibición de los sistemas defensivos de la planta huésped. La acumulación de azúcares solubles, nutrientes minerales y potasio, el cual facilita la absorción de aminoácidos por parte de la colonia de pulgones, respalda aún más la hipótesis nutricional. Asimismo, al estudiar el perfil de las fitohormonas durante las etapas iniciales de desarrollo de estas agallas, se ha podido dilucidar el papel específico del ácido indolacético, la isopenteniladenina y la isopenteniladenosina en su inducción.

Finalmente, se determinó que los enemigos naturales, como el depredador *Alophia combustella* y el parasitoide *Monoctonia pistaciaecola*, mostraron un patrón diferencial de ataque hacia las especies de Fordini. Estos hallazgos sugieren la existencia de mecanismos o estructuras específicas en cada especie que las hacen más o menos susceptibles al ataque de enemigos naturales. Estos resultados proporcionan evidencias que respaldan la hipótesis del enemigo en las agallas inducidas por los pulgones.

En conjunto, estos resultados han establecido que las agallas de los pulgones son el resultado de la hipertrofia y la hiperplasia del floema y los tejidos adyacentes. Además, se ha confirmado que la capacidad de inducir la formación de agallas surgió una vez en Fordini y dos veces en Pemphigini, representando las agallas cerradas una convergencia evolutiva entre ambas tribus. Asimismo, se ha validado tanto la hipótesis nutricional como la hipótesis del enemigo en las agallas de pulgones, lo que ha permitido comprender mejor el sentido adaptativo de estas agallas.

SUMMARY

Plant galls are structures induced *de novo* by the activity of a gall maker, produced by hypertrophy and hyperplasia phenomena. Their formation and subsequent development is highly dependent on the inducing organism. When the inducing organism induces gall formation, it causes a profound alteration in gene expression in the host plant, resulting in significant changes in its physiology and morphology. Despite the evolutionary interest of this plant insect relationship, the precise mechanisms that trigger gall formation in most gall species are not yet fully understood. However, certain phytohormones, such as indoleacetic acid and other auxins, have been found to play a role in this process.

Galls can have beneficial, detrimental or neutral effects on the host plant. Over the decades, various hypotheses have been proposed to explain the adaptive sense of galls, ranging from benefit to the plant to exclusive benefit to the inducing organism. Currently, the most widely accepted hypotheses regarding the adaptive sense of galls include: (i) the nutritional hypothesis, which argues that galls improve the nutritional quality of plant tissues, thus enhancing the reproductive success of the inducer organism; (ii) the enemy hypothesis, which argues that galls possess defence mechanisms that protect the inducer organism against natural predators or parasites; and (iii) the microenvironment hypothesis, which suggests that galls provide a stable environment for the inducer organism, helping it to avoid stress caused by external environmental factors.

Nowadays, most of the organisms that induce gall formation are insect species belonging to various orders, such as Hymenoptera, Diptera and Hemiptera. Among the latter, the gall-inducing aphids of the subfamily Eriosomatinae, whose galls are colonial and can harbour from a few tens to thousands of individuals inside.

Although there is no broad support for monophyly in this subfamily, it is suggested that the ability to induce gall formation has arisen at least twice independently in this group.

In this context, detailed analyses of the galls of this subfamily will provide a deeper understanding of the evolutionary origin of these structures, as well as their adaptive significance. Therefore, the specific objectives of this PhD thesis include: (1) to develop a classification of aphid galls based on histological characteristics; (2) to investigate the dynamic interactions between aphid populations and their relationship with gall development; (3) to confirm the validity of the nutritional hypothesis; and (4) to validate the enemy hypothesis in relation to aphid-induced galls.

For this purpose, samples of galls induced by species of Fordini and Pemphigini were collected in the surroundings of Las Médulas and the city of León, respectively. The dimensions of each gall were recorded, as well as the characteristics of the aphid colonies that inhabit them. These galls have subsequently been used to carry out specific studies, including histological, physiological, population and ecological analyses.

Based on the histological data collected so far from Fordini and Pemphigini galls, a classification has been carried out which identifies three different types of galls: closed galls, open sac-like galls and open fold-like galls. These galls differ not only in their histological characteristics, but also in biological aspects, such as size of the gall colony, opening mechanisms and waste disposal. The study of hypertrophy and hyperplasia of gall tissues has revealed the importance of phloem development in these structures, as well as the structural role of xylem. From a phylogenetic perspective, it has been confirmed that in Fordini the ability to induce galls arose on a single occasion and that the fold-like galls originate from closed galls. On the other hand, in Pemphigini, both closed galls and open sac-like galls have independent origins from pseudogalls.

Analysis of aphid colony and gall development in Fordini species revealed a close interdependence between the two. Both aphid colony and gall growth followed a logistic pattern, and gall development was found to be directly related to colony growth. These results provided insight into the role of the apterous fundatrices in the initial rapid growth of the gall.

Findings related to the physiology of mature *Forda formicaria* galls have provided crucial information on their function as physiological sinks. In addition, evidence has been found suggesting their negative impact on the photosynthetic

capacity of the galls and inhibition of the host plant's defensive systems. The accumulation of soluble sugars, mineral nutrients and potassium, which facilitates the uptake of amino acids by the aphid colony, further supports the nutritional hypothesis. Furthermore, by studying the profile of phytohormones during the early stages of gall development, the specific role of indolacetic acid, isopentenyladenine and isopentenyladenosine in their induction has been elucidated.

Finally, it was determined that natural enemies, such as the predator *Alophia combustella* and the parasitoid *Monoctonia pistaciaecola*, showed a differential pattern of attack towards Fordini species. These findings suggest the existence of species-specific mechanisms or structures that make them more or less susceptible to attack by natural enemies. These results provide evidences to support the enemy hypothesis in aphid-induced galls.

Taken together, these results have established that aphid galls are the result of hypertrophy and hyperplasia of phloem and adjacent tissues. Furthermore, it has been confirmed that the ability to induce gall formation arose once in Fordini and twice in Pemphigini, being the closed galls an evolutionary convergence between the two tribes. Furthermore, both the nutritional hypothesis and the enemy hypothesis have been validated in aphid galls, leading to a better understanding of the adaptive meaning of these galls.

INTRODUCCIÓN GENERAL

LAS AGALLAS DE PLANTAS

Las **agallas de plantas** son **estructuras inducidas *de novo*** en plantas por la actividad de un organismo –denominado *gallígeno*–, como bacterias, hongos, insectos o ácaros, producidas mediante fenómenos de **hipertrofia** (incremento del tamaño de las células de la planta) e **hiperplasia** (aumento del número de células) del sitio de inducción (Mani, 1964). Harris y Pitzschke (2020) precisan la definición, enumerando las características que debe tener una neoformación en plantas para ser considerada como una agalla: (1) se debe producir un **desarrollo y crecimiento anómalo** de las células de la planta, (2) ha de estar **localizada** en el espacio y el tiempo, (3) la formación es un proceso continuo que **depende del organismo inductor**, y (4) las consecuencias para la planta pueden ser **beneficiosas, perjudiciales o neutras**. De esta forma, queda descartada la idea de que las agallas son formaciones tumorales inducidas por organismos patógenos (Williams, 1994), ya que esta definición implica una connotación de un crecimiento descontrolado (*tumoral*) y estrictamente perjudicial para la planta.

Todos los órganos de la planta son susceptibles de presentar agallas (Harris y Pitzschke, 2020), pudiendo ser inducidas en cualquier lugar de la planta que presente un meristemo (Mani, 1964). Sin embargo, el sitio donde se induzca una agalla depende exclusivamente del organismo inductor ya que esta relación es especie-específica, órgano-específica y espacio-específica (Stone y Schönrogge, 2003). En general, se asume que la morfología final de la agalla está determinada por el organismo inductor (Mani, 1964; Stern, 1995; Martini et al., 2019) y son por ello consideradas un fenotipo extendido (Shorthouse et al., 2005; Pan et al., 2015; Stone y Schönrogge, 2003).

Desde el punto de vista de la complejidad de las agallas, éstas se pueden clasificar en **organoides**, si su histología es muy similar a la del órgano en el que se inducen, o **histioides**, si la histología de la agalla es muy diferente al órgano de la planta (Mani, 1964). Ésta últimas agallas, se clasifican a su vez en **cataplásmicas**, si carecen de una morfología definida, o **prosoplásmicas**, si presentan una morfología definida y constante (Mani, 1964). En función de la morfología externa, el modo en el que la agalla se induce y desarrolla y su complejidad, existen un sin fin de clasificaciones más o menos complejas (Williams, 1994).

El sentido adaptativo de las agallas de plantas ha sido objeto de profundos estudios. Price et al. (1987) revisó las hipótesis existentes sobre este tema, y concluyó que, salvo casos particulares como las agallas inducidas por especies de la familia Agaonidae [Hymenoptera] en plantas del género *Ficus*, las agallas sólo suponen una ventaja para el inductor. Así, las hipótesis que a día de hoy tienen más soporte son (Stone y Schönrogge, 2003; Wool, 2005): **(1) la hipótesis nutricional** que afirma que las agallas favorecen una mejora en la calidad nutritiva de los tejidos de la planta, lo cual aumenta el éxito reproductor del organismo inductor; **(2) la hipótesis del enemigo** que dice que las agallas presentan mecanismos de defensa que evitan que el organismo inductor sea atacado por enemigos naturales; y **(3) la hipótesis del microambiente** que postula que las agallas proveen al organismo inductor un ambiente estable, evitando el estrés por factores externos.

LOS INSECTOS GALLÍGENOS

Numerosas especies dentro de los reinos Animalia, Eubacteria, Fungi, Protozoa, y Chromista inducen agallas en plantas (Harris y Pitzschke, 2020). Entre los organismos inductores cobran especial relevancia los insectos por la gran diversidad de especies inductoras de agallas y por la complejidad de las mismas (Shorthouse et al., 2005; Gätjens-Boniche, 2019). En este grupo, la capacidad para inducir agallas ha surgido en múltiples ocasiones (Stone y Schönrogge, 2003), encontrando cerca de 13000 especies gallígenas de diversas familias en los órdenes Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera y Thysanoptera (Stone y Schönrogge, 2003; Williams, 1994; Fernandes et al., 2012).

El modo de vida de los insectos dentro de las agallas varía mucho en función del grupo taxonómico. De una parte, algunas especies como *Andricus quercustozae* (Bosc, 1792) [Hymenoptera: Cynipidae] inducen **agallas solitarias** en las que una única larva vive en el interior de la agalla (**Figura 1A, D**). Otras especies, como *Diplolepis rosae* (L., 1758) [Hymenoptera: Cynipidae] forman agallas coalescentes,

en las que viven multitud de individuos, pero cada uno está aislado en una cámara independiente (**Figura 1B, E**). Por último, determinadas especies de Hemípteros como *Tetraneura (Tetraneura) ulmi* (L., 1785) [Hemiptera: Aphididae: Eriosomatinae], inducen la formación de **agallas coloniales** en las que viven multitud de individuos en el interior de una única cámara (**Figura 1E, F**) (Ferreira et al., 2019). En estas últimas agallas, las coloniales, es preciso diferenciar al organismo que induce la agalla (**organismo gallígeno**) de los que viven dentro de ella y normalmente descienden del primero (**organismos gallícolas**).

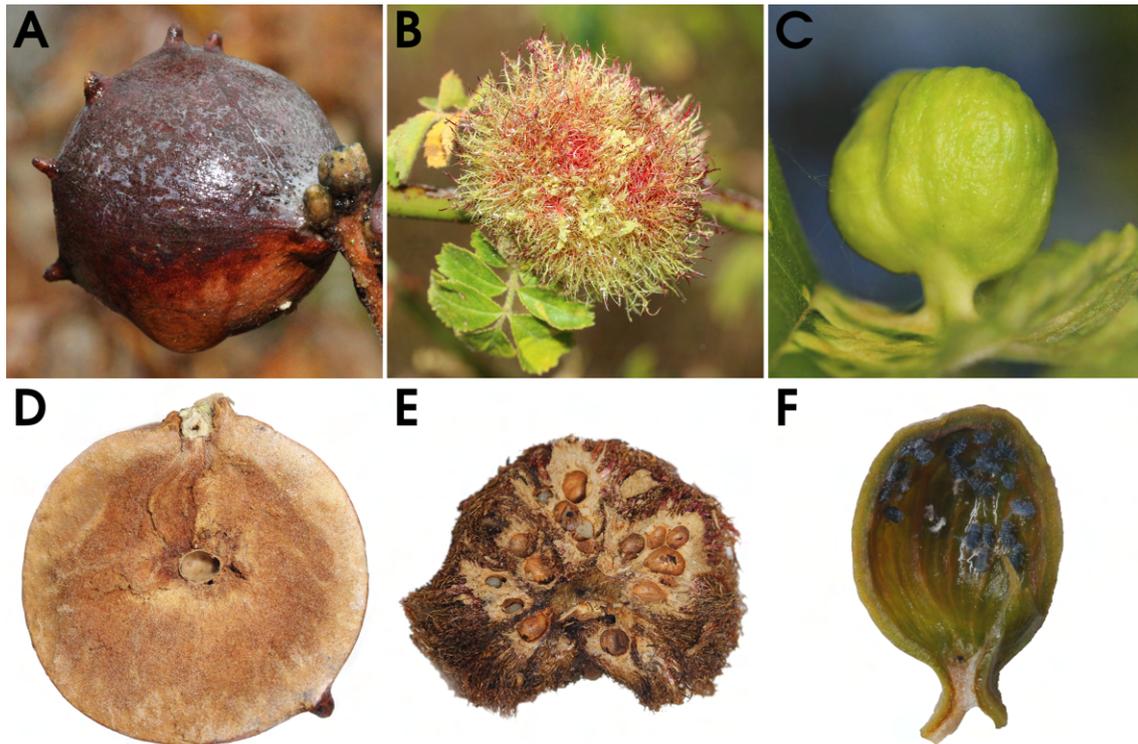


Figura 1: Ejemplos de tipos de agallas solitarias (**A, D**), coalescentes (**B, E**) y coloniales (**C, F**), junto con el detalle del interior (**D-F**).

INDUCCIÓN Y DESARROLLO DE LAS AGALLAS

La **cecidogénesis** o inducción de agallas conlleva una profunda alteración en la expresión de genes en la planta hospedadora, incluyendo la sobreexpresión de genes relacionados con el ciclo celular y la subexpresión de genes de la fotosíntesis (Desnitskiy et al., 2023). Este proceso está considerado como un conjunto de etapas en las que el estímulo inicial ha de ser reforzado durante un tiempo hasta que la agalla se forma (Gätjens-Boniche, 2019; Raman, 2021). Sin embargo, el mecanismo de inducción de las agallas de insecto es desconocido (Stone y Schönrogge, 2003; Shorthouse et al., 2005; Wool, 2005). En este contexto, se han identificado varios posibles inductores, como fitohormonas, aminoácidos, proteínas, virus y bacterias,

que son secretados por el insecto durante la inducción de la agalla (Stone y Schönrogge, 2003; Oates et al., 2016). La hipótesis predominante sugiere un papel clave de las fitohormonas en la inducción de agallas (Tooker y Helms, 2014), respaldada por la síntesis de ácido indolacético (IAA) a partir de triptófano en varias especies de insectos gallígenos (Yamaguchi et al., 2012; Suzuki et al., 2014). También se ha planteado la posibilidad de que las bacterias endosimbiontes de los insectos estén involucradas en la inducción (Hammer et al., 2021). Sin embargo, aunque muchos de estos efectores han sido identificados y su efecto sobre los cambios morfológicos y fisiológicos han sido probados, su modo de acción es, en la mayoría de los casos, desconocido (Giron et al., 2016).

Durante las últimas décadas se han realizado numerosos de estudios para comprender los patrones fisiológicos que acontecen en los tejidos de las agallas durante su desarrollo. Aunque cada especie puede tener mecanismos específicos para alterar la planta (Hartley, 1998), se han encontrado con mucha frecuencia patrones comunes. La mayoría de las agallas presentan una mayor cantidad de carbohidratos y aminoácidos que los órganos sanos de la planta (Kmieć et al., 2018b; Castro et al., 2012; Hartley, 1998; Dsouza y Ravishankar, 2014; Carneiro et al., 2014; Huang et al., 2015). Por otro lado, la inducción de las agallas produce un aumento del estrés oxidativo (Kmieć et al., 2018a; Kot y Kmieć, 2020; Samsone et al., 2012; Oliveira et al., 2017), ligado normalmente a una reducción de la capacidad fotosintética del tejido de la agalla (Samsone et al., 2011; Castro et al., 2012; Fernandes et al., 2010; Carneiro et al., 2014; Huang et al., 2014; Samsone et al., 2012; Huang et al., 2015; Larson, 1998; Oliveira et al., 2017) y un incremento como sumidero fisiológico (Compson et al., 2011; Huang et al., 2014; Larson, 1998).

Más allá de los evidentes cambios morfológicos acompañados de cambios en la expresión génica y en la fisiología de la planta, la inducción, formación y desarrollo de las agallas produce importantes cambios fisiológicos (Mani, 1964). Entre los más notables –por la definición de las agallas– se encuentran la hipertrofia y la hiperplasia de los tejidos de la planta (Mani, 1964), algo que es reconocible en pocas horas tras el estímulo inductor (Desnitskiy et al., 2023). Además, también se produce la rediferenciación de los tejidos de la planta (Stone y Schönrogge, 2003) e, incluso, se forman tejidos no existentes de forma natural en la planta como el tejido nutricio (Mani, 1964), el cual está compuesto por células en constante división y ricas en carbohidratos que sirven como alimento al organismo gallícola (Ferreira et al., 2015). En otras agallas en las que no se forma este tejido y que, normalmente, están inducidas por insectos succionadores, se produce una importante hipertrofia de los haces vasculares afectados (Ferreira et al., 2019; Álvarez et al., 2009; Álvarez, 2011, 2012). Además de estos fenómenos, en las agallas de insectos también es habitual la

acumulación de cristales y amiloplastos, la reordenación de los tejidos y la aparición de tricomas (Ferreira et al., 2019).

En definitiva, la formación de agallas en plantas inducidas por insectos es un fenómeno multifactorial y complejo que aún no está bien comprendido, si bien la mayoría de evidencias señalan que es dirigido por el insecto gallígeno (Stern, 1995; Martini et al., 2019; de Oliveira et al., 2016), aunque las capacidades del órgano afectado y de la planta también muestran un efecto sobre la morfología y complejidad finales (Amorim et al., 2017; Formiga et al., 2013; Mani, 1964).

LOS PULGONES GALLÍGENOS (APHIDIDAE: ERIOSOMATINAE)

ASPECTOS MORFOLÓGICOS Y BIOLÓGICOS BÁSICOS DE LOS PULGONES

Los pulgones (Hemiptera: Aphididae) constituyen una familia de insectos fitófagos, fluidófagos y coloniales compuesta por unas 4700 especies agrupadas en aproximadamente 600 géneros. Su distribución es subcosmopolita, si bien son mucho más frecuentes en los climas templados del hemisferio norte, estando prácticamente ausentes en los bosques tropicales (Blackman y Eastop, 2020; Douglas, 2003; Nieto Nafría y Mier Durante, 1998).

Este grupo de insectos tiene un cuerpo globoso, con una longitud de entre 1.5 y 3.0 mm de longitud. Pueden presentar alas o carecer de ellas. Sus antenas son filiformes y están compuestas, en general, por seis antemómeros. En la parte ventral de su cabeza se encuentra el aparato bucal picador-chupador que, en este grupo, recibe el nombre de rostro y está compuesto por cuatro artejos. El abdomen, dividido en nueve segmentos o uritos, presenta estructuras características de esta familia. Por un lado, en el urito V se encuentran el par de cornículos, los cuales son órganos que secretan feromonas de alarma y se utilizan en la comunicación química. Por otro lado, en la parte terminal del urito IX se encuentra la cola, una estructura impar con desarrollo y morfología variable. En la zona ventral y terminal del abdomen se localizan dos placas más esclerotizadas: la placa anal (posterior) y la placa genital (anterior), estando esta última presente sólo en los ejemplares adultos (Nieto Nafría y Mier Durante, 1998).

POLIMORFISMO Y CICLOS VITALES

Los pulgones presentan un gran polimorfismo en su ciclo de vida, existiendo generaciones morfológicamente distintas y denominadas formas o morfos (Blackman y Eastop, 2020), las cuales son inducidas mediante estímulos ambientales como el fotoperiodo y la temperatura (Moran, 1992). Una particularidad biológica de los ciclos vitales de este grupo, junto con el resto de familias de Aphidoidea, es

que alternan una generación anfigónica con hembras ovíparas, con una o varias generaciones partenogénicas que, en el caso particular de Aphididae, son todas hembras vivíparas (Nieto Nafría y Mier Durante, 1998; Moran, 1992). Además, el inicio de la partenogénesis en los pulgones se da de forma muy temprana en la ontogenia, dando lugar a *generaciones telescópicas*, es decir, que los pulgones contienen embriones que, a su vez, ya contienen los embriones de la siguiente generación (Moran, 1992).

En la familia Aphididae existen numerosos ciclos vitales, los cuales se encuentran, sin duda, entre los más complejos del reino Animalia debido a su polimorfismo y a la alternancia de hospedadores (Moran, 1992; Wool, 2005). Estos ciclos pueden ser **monoicos**, si sólo presentan un hospedador o **dioicos**, si presentan dos hospedadores. En este último caso, se distingue al **hospedador primario** como aquel en el que vive y se reproduce la generación anfigónica y en el que se depone el huevo de resistencia, frente al **hospedador secundario** en el que sólo viven generaciones partenogénicas. Además, los ciclos pueden ser **holociclos**, si presentan una generación anfigónica, o **anholociclos** si carecen de dicha generación. En el caso de los holociclos, puede darse de forma coyuntural la sucesión de forma indefinida de generaciones partenogénicas en un **paraciclo** (Nieto Nafría y Mier Durante, 1998). En función de estas clasificaciones de los ciclos vitales y alguna otra no expuesta, se pueden definir con precisión los diferentes ciclos vitales que acontecen en las especies de la familia Aphididae.

El ciclo vital básico de Aphididae es un holociclo monoico, es decir, que presenta generación anfigónica y carece de alternancia de hospedador (Nieto Nafría y Mier Durante, 1998). En este caso, del huevo de resistencia nace la primera generación partenogénica, denominada **fundadora**. Este morfo, el más fértil de todo el ciclo (Moran, 1992), origina por partenogénesis una generación de **fundatrígenas**, las cuales pueden ser ápteras o aladas. Las fundatrígenas darán lugar a nuevas generaciones de fundatrígenas hasta que en un momento dado, surja un nuevo morfo: las **sexúparas**. Esta generación contiene los embriones de la generación anfigónica (machos y hembras ovíparas). Una vez estos dos últimos morfos alcanzan la madurez sexual, se reproducen y la hembra depone un huevo sobre el hospedador.

SISTEMÁTICA DE LOS GRUPOS DE PULGONES GALLÍGENOS

Dentro de la familia Aphididae, al menos dos subfamilias presentan especies con capacidad de inducir agallas en sentido estricto: la subfamilia **Hormaphidinae** Mordvilko, 1909 y la subfamilia **Eriosomatinae** Baker, 1920 (Blackman y Eastop, 2020; Chen y Qiao, 2009). Aunque existen múltiples textos en los que se refieren como gallígenas a especies como *Aphis fabae* L, 1857 (Aphidini), en realidad estos

pulgones sólo producen deformaciones en las hojas y no inducen fenómenos de hipertrofia e hiperplasia. Además de por la capacidad de inducción de agallas, estas dos subfamilias se caracterizan por sus ciclos vitales extremadamente complejos con alternancia de hospedadores y una fuerte especificidad con su hospedador primario (Blackman y Eastop, 2020; Chen et al., 2014).

La subfamilia Hormaphidinae presenta una distribución disyunta, prácticamente restringida a la región oriental de Asia y a Norteamérica, siendo su presencia en Europa muy reducida (Von Dohlen et al., 2002). Está dividida en las tribus **Cerataphidini**, **Hormaphidini**, y **Nipponaphidini**, con 117, 15 y 107 especies, respectivamente (Favret y Eades, 2023). En la fauna ibérica, sin embargo, tan sólo hay citadas dos especies y ninguna de ellas gallígena: *Cerataphis orchidearum* (Westwood, 1879) y *Hamamelistes betulinus* (Horbáth, 1896) (Nieto Nafría y Mier Durante, 1998).

Por su parte, la subfamilia Eriosomatinae, presenta una distribución holártica (Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003). La clasificación de este grupo se divide en las tribus: **Eriosomatini**, **Fordini**, y **Pemphigini** con 124, 84 y 185 especies, respectivamente (Favret y Eades, 2023). En este caso, la fauna ibérica es mucho más rica, presentando 36 especies de estos grupos, de las cuales, en al menos 29, se conoce la capacidad para inducir agallas en su hospedador primario (Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003).

Desde un punto de vista filogenético, recientes estudios, han apoyado la monofilia de Hormaphidinae (Chen et al., 2014), pero no se ha encontrado soporte para la monofilia de Eriosomatinae (Nováková et al., 2013; Ortiz-Rivas y Martínez-Torres, 2010). Además, sólo la monofilia de las tribus Fordini y Nipponaphidini está soportada (Chen et al., 2014; Ortiz-Rivas et al., 2009; Zhang y Qiao, 2007c; Nováková et al., 2013), mientras que la monofilia de Eriosomatini (Nováková et al., 2013; Sano y Akimoto, 2011), Pemphigini (Zhang y Qiao, 2007a), Cerataphidini y Hormaphidini (Chen et al., 2014), está en discusión. Esto, además de los evidentes problemas taxonómicos que suponen para la familia Aphididae en general y para ambas subfamilias en particular, supone un paradigma evolutivo en el que la capacidad de inducción de agallas en los pulgones habría surgido múltiples ocasiones y de forma independiente.

LOS CICLOS VITALES EN ERIOSOMATINAE

El ciclo vital básico de Eriosomatinae depende de la tribu, si bien la mayoría de las especies de esta subfamilia para las que se conoce su holociclo, presentan ciclos con alternancia de hospedador (Blackman y Eastop, 2020), lo cual los convierte posiblemente en los ciclos vitales más complejos de los pulgones (Wool, 2005).

El ciclo vital de Fordini es un **holociclo diécico bianual** (**Figura 2A**), con hospedador primario en especies de *Pistacia* y *Rhus* y hospedador secundario en raíces de gramíneas, si bien algunas establecen paraciclos en el hospedador secundario (Blackman y Eastop, 2020). La **fundadora** nace del huevo de resistencia entre marzo y abril e induce las agallas. Posteriormente, nacen las generaciones de **fundatrígenas**, cuyo número varía en función de las especies. En el caso de las especies de *Forda* y *Smynthurodes*, la primera generación de fundatrígenas sale de la agalla de la fundadora e inducen una nueva agalla (denominada definitiva). Por este motivo, a esta generación particular se le denominará **fundatrígenas gallígenas**, en contraposición a las **fundatrígenas gallícolas**, siguiendo la terminología de Roberti (1983). La última generación de fundatrígenas es alada y, una vez se abren las agallas entre los meses de agosto y septiembre, son las encargadas de realizar el vuelo de migración al hospedador secundario, donde darán lugar a una generación de **virginógenas ápteras**. En este hospedador se mantendrán mediante ciclos de partenogénesis, normalmente atendidas por hormigas, hasta que en el primavera del año siguiente, dan lugar a las **virginógenas aladas**, las cuales migrarán a otros hospedadores secundarios, y a las **sexúparas**, las cuales realizarán el vuelo de regreso al hospedador primario. Allí, las sexúparas darán lugar a la **generación anfigónica** (machos y hembras ovíparas), los cuales se reproducirán y la hembra depondrá un único huevo de resistencia. Este huevo permanecerá sobre el hospedador secundario hasta su eclosión un año después.

El ciclo vital de Eriosomatini y Pemphigini es un **holociclo diécico anual** (**Figura 2B**), con hospedador primario en *Populus* y hospedador secundario en especies de distintas familias botánicas según la especie (Apiaceae, Asteraceae, Ranunculaceae, etc.) (Blackman y Eastop, 2020). La **fundadora** que nace del huevo de resistencia induce las agallas entre los meses de abril y mayo. Dentro de ellas, nacen las **fundatrígenas**, las cuales generalmente son una única generación y son aladas. En algunas especies como *P. spyrothecae* o *P. bursarius*, el primer estado ninfal de las fundatrígenas es dimórfico, existiendo unas ninfas con las patas más cortas y un comportamiento agresivo, las cuales se denominan **soldados** (Aoki y Kurosu, 1986; Braendle y Foster, 2004). Durante el verano, las fundatrígenas migran a su hospedador secundario donde dan lugar a las **virginógenas ápteras** que establecen una nueva colonia. A finales del verano y principios del otoño, las virginógenas ápteras dan lugar a **virginógenas aladas** y a las **sexúparas**. Estas últimas realizan el vuelo de migración, dando lugar a la **generación anfigónica**. En este momento, se produce la reproducción y la hembra ovípara depone un único huevo, el cual resistirá todo el invierno hasta la siguiente primavera.

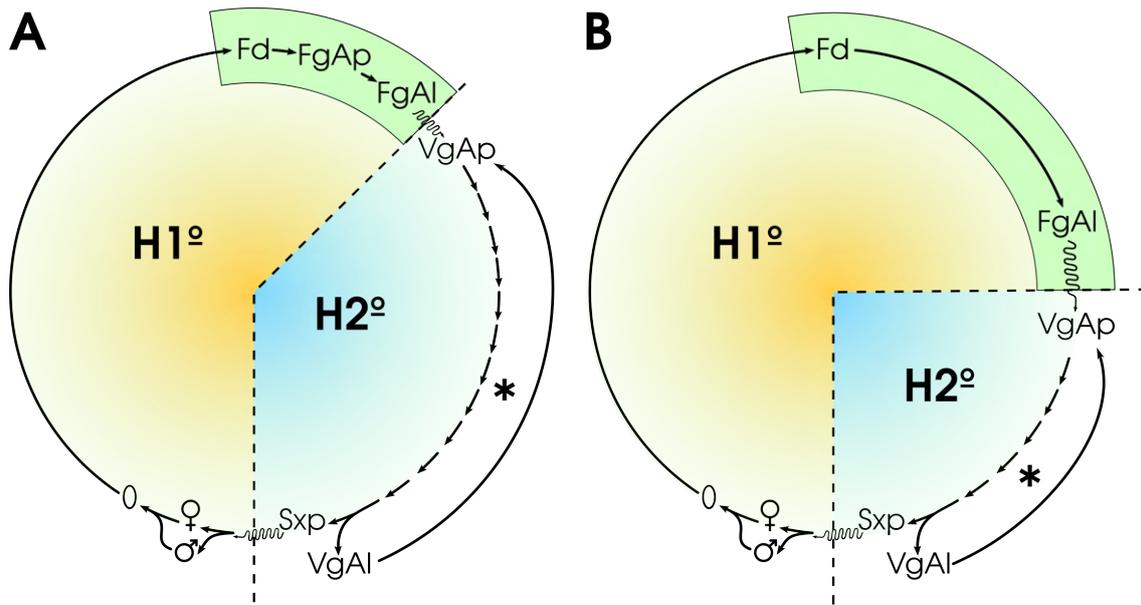


Figura 2: Holociclo diécico bianual básico de Fordini (A) y holociclo diécico anual básico de Pemphigini (B). En verde, se recuadran las generaciones gallícolas. Las líneas continuas representan ciclos de partenogénesis. Las líneas onduladas representan vuelos de migración (paso del hospedador primario al secundario) y de regreso (paso del hospedador secundario al primario). El ciclo marcado con un asterisco (*) representa un paraciclo monoico sobre el hospedador secundario. **Fd:** fundadora; **FgAp:** Fundatrígena alada; **FgAl:** Fundatrígena alada; **VgAp:** Virginógena áptera; **VgAl:** Virginógena alada; **Sxp:** Sexúpara; ♀: Hembra ovípara; ♂: macho; 0: Huevo; **H1º:** Hospedador primario; **H2º:** Hospedador secundario. Modificado de Nieto Nafría y Mier Durante (1998).

ESTUDIOS PREVIOS SOBRE FORDINI

PROBLEMAS TAXONÓMICOS Y FILOGENÉTICOS DE LA TRIBU FORDINI

Desde un punto de vista filogenético, se considera que la tribu Fordini es monofilética y que las relaciones entre sus especies están bien establecidas (Ortiz-Rivas et al., 2009; Inbar et al., 2004). No obstante, persisten importantes desafíos taxonómicos en muchas de estas especies, posiblemente debido a la complejidad de sus ciclos vitales (Blackman y Eastop, 2020), pese a que se han llevado a cabo investigaciones recientes en los géneros *Forda*, *Geoica* y *Paracletus* con el fin de esclarecer su taxonomía (Pérez Hidalgo, 2016).

Dentro del género *Geoica*, debido a las descripciones insuficientes de muchas de sus formas, existe un conjunto de nueve especies que conforman el grupo *utricularia* (Remaudière y Remaudière, 1997). A estas, se suman otras cuatro muy próximas filogenética y morfológicamente y que inducen agallas semejantes en distintas especies de *Pistacia* (Brown y Blackman, 1994). Aunque en la península ibérica se asumiese que sólo *G. utricularia s.s.* (Passerini, 1856) inducía agallas en *Pistacia terebinthus* (Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003), actualmente se sabe que *G. setulosa* (Passerini, 1860) también induce agallas en este territorio, las cuales son muy similares morfológicamente (Pérez Hidalgo, 2016).

En el género *Forda* también existen desafíos taxonómicos. Por ejemplo, *F. marginata* y *F. riccobonii* conforman un complejo de especies que divergieron recientemente y que, pese a la gran diferencia morfológica de las agallas, las virginígenas ápteras son difícilmente distinguibles (Ortiz-Rivas et al., 2009). Además, las generaciones radicícolas de *F. marginata* muestran una variabilidad morfológica que sugiere la existencia de múltiples especies agrupadas con el mismo nombre (Blackman y Eastop, 2020). Del mismo modo, bajo el nombre de *F. formicaria* parecen estar incluyéndose, al menos, tres especies diferentes (Blackman y Eastop, 2020).

Por último, el género *Paracletus* también parece mostrar una gran diversidad genética, existiendo evidencias que soportan la existencia de dos o tres linajes induciendo agallas en *Pistacia terebinthus* en la península ibérica (Ortiz-Rivas et al., 2009). En este sentido, parece que las agallas y las generaciones gallícolas de *Paracleuts cimiciformis* y *P. donisthorpei* son indistinguibles (Blackman y Eastop, 2020; Ortiz-Rivas et al., 2009; Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003).

ESPECIES IBÉRICAS DE LA TRIBU FORDINI

De las 86 especies conocidas de esta tribu (Favret y Eades, 2023) hay 14 especies citadas en la península ibérica, agrupadas en ocho géneros, pertenecientes todas ellas a la subtribu Fordina (Hermoso de Mendoza et al., 2002; Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003; Pérez-Hidalgo et al., 2007; Pérez Hidalgo, 2016) (**Figura 3; Tabla 1**). De ellas, diez inducen agallas sobre su hospedador primario. Sin embargo, pese a que los estudios moleculares y los experimentos de transferencia hayan permitido describir las formas gallícolas de *G. pellucida* y *P. rotundus* (Ortiz-Rivas et al., 2009; Pérez Hidalgo, 2016), sus agallas son aún indistinguibles de las inducidas por *G. utricularia* y *P. cimiciformis*, respectivamente.

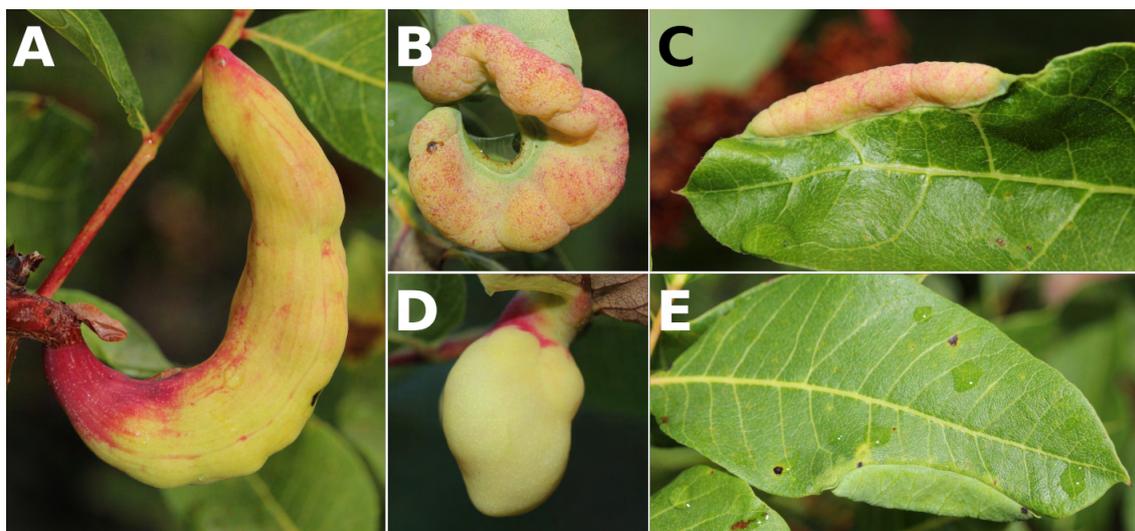


Figura 3: Agallas inducidas por las especies de Fordini sobre *Pistacia terebinthus*. (A) *Baizongia pistaciae*, (B) *Forda formicaria* (agalla definitiva), (C) *F. marginata* (agalla definitiva), (D) *Geoica* sp., (E) *Paracletus* sp.

Tabla 1: Relación de hospedadores primarios y especies de pulgones de las tribus Fordini y Pemphigini en la península ibérica. En negrita se indican las especies gallígenas en la península ibérica.

FORDINI	PEMPHIGINI
<i>Pistacia atlantica</i> Desf. 1799	<i>Crataegus</i> spp.
<i>Forda riccobonii</i> (De Stefani, 1899)	<i>Prociphilus pini</i> (Burmeister, 1835)
<i>Smynthurodes betae</i> Westwood, 1849	<i>Fraxinus</i> spp.
<i>Pistacia lentiscus</i> L., 1753	<i>Prociphilus fraxini</i> (Fabricius, 1777)
<i>Aploneura lentisci</i> (Passerini, 1856)	<i>Prociphilus fraxinifolii</i> (Riley)
<i>Pistacia terebinthus</i> L., 1753	<i>Prociphilus bumeliae</i> (Schrank, 1801)
<i>Baizongia pistaciae</i> L., 1767	<i>Olea europaea</i>
<i>Forda formicaria</i> von Heyden, 1837	<i>Prociphilus oleae</i> (Leach, 1826)
<i>Forda marginata</i> Koch, 1857	<i>Populus</i> spp.
<i>Geoica utricularia</i> (Passerini, 1856)	<i>Pemphigus bursarius</i> (L., 1758)
<i>Geoica pellucida</i> (Buckton, 1883)	<i>Pemphigus immunis</i> Buckton, 1896
<i>Paracleus cimiciformis</i> von Heyden, 1837	<i>Pemphigus phenax</i> Börner & Blunck, 1916
<i>Paracleus rotundus</i> (Theobald, 1914)	<i>Pemphigus populinigrae</i> (Schrank, 1801)
Sin hospedador primario	<i>Pemphigus protospirae</i> Lichtenstein, 1885
<i>Aloephagus myersi</i> Essig, 1950	<i>Pemphigus spyrothecae</i> Passerini, 1856
<i>Forda longicornis</i> Remaudière & Leclant, 1999	<i>Pemphigus populi</i> Courchet, 1879
<i>Geoica setulosa</i> (Passerini, 1860)	<i>Pemphigus vesicarius</i> Passerini, 1862
<i>Rectinasus buxtonii</i> Theobald, 1914	<i>Thecabius affinis</i> (Kaltenbach, 1843)
	<i>Pachypappa warshavensis</i> (Nasonov, 1894)
	<i>Tilia</i> spp.
	<i>Patchiela reamuri</i> (Kaltenbach, 1843)
	Sin hospedador primario
	<i>Pemphigus groenlandicus</i> (Rübsaamen, 1898)

ESTUDIOS HISTOLÓGICOS EN FORDINI

Desde un punto de vista histológico, la mayoría de agallas inducidas en especies de *Pistacia* por Fordinos ha sido descrita en profundidad (Álvarez et al., 2008, 2009; Álvarez, 2012; Álvarez et al., 2014, 2016; Kurzfeld-Zexer et al., 2015; Muñoz-Viveros et al., 2014; Wool y Bar-El, 1995), si bien, la identificación de las agallas asignadas a *G. utricularia* y *P. cimiciformis* han de ser tomadas con precaución por los motivos expuestos anteriormente. También se ha estudiado la histología de varias especies de Fordinos induciendo agallas en especies de *Rhus* (Liu et al., 2014b; Lu et al., 2019). Estos estudios han permitido describir las agallas inducidas por las especies de esta tribu en dos grupos: agallas cerradas, caracterizadas por la presencia de oquedades en la superficie que tapiza internamente la agalla, y agallas abiertas que carecen de dichas oquedades en la superficie interna. Estas agallas, al igual que el resto de agallas inducidas por insectos, se caracterizan por fenómenos de hipertrofia e hiperplasia del mesófilo aunque, en el caso particular de las agallas inducidas por Fordinos, hay una importante afección del nervio central del órgano afectado (Álvarez et al., 2009; Álvarez, 2011, 2012). Finalmente, estos estudios han realizado valiosas aportaciones desde un punto de vista taxonómico (Álvarez et al., 2014, 2016).

ESTUDIOS ECOLÓGICOS EN FORDINI

Desde un punto de vista del desarrollo de las agallas inducidas por especies de Fordini, sólo se han estudiado la dinámica de la colonia gallícola y el crecimiento de la agalla en algunas especies que inducen agallas sobre *Pistacia* en Israel (Martinez, 2009; Wertheim, 1954; Wool y Bar-El, 1995; Wool y Ben-Zvi, 1998; Wool et al., 1999; Wool, 2012), no existiendo ningún estudio en profundidad en otras regiones como la península ibérica. Dichos estudios han permitido describir los cambios macroscópicos y poblacionales acontecidos en estas agallas.

De forma similar, sólo se ha estudiado la relación de unas pocas especies con sus enemigos naturales en las fases gallícolas y, de nuevo, existe un importante sesgo hacia la región de oriente próximo (Wool y Bar-El, 1995; Wool y Ben-Zvi, 1998; Wool, 2012). Sólo gracias a los estudios de Starý (1968) y Rakhshani et al. (2015), tenemos información sobre los parasitoides que afectan a estas especies en Europa. La relación de estas especies con sus enemigos naturales y los efectos en el desarrollo de las agallas sólo se conoce para algunas especies en Israel.

Habida cuenta de la importante variabilidad interanual y geográfica en la ecología de estas especies (eg: Wertheim, 1954; Wool y Bar-El, 1995), así como de los problemas taxonómicos que algunas de ellas presentan, se hace fundamental realizar estudios con un mayor seguimiento temporal y a una escala taxonómica mayor que permita comparar los patrones encontrados entre las distintas especies. Además, especies como *P. cimiciformis* o *F. marginata* carecen de estudios ecológicos previos.

ESTUDIOS PREVIOS SOBRE PEMPHIGINI

ESPECIES IBÉRICAS DE LA TRIBU PEMPHIGINI

En la afidofauna mundial hay 185 especies descritas de Pemphigini (Favret y Eades, 2023), de las cuales 17 están presentes en la península ibérica (Casiraghi et al., 2019, 2022; Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003; Pérez Hidalgo y Mier Durante, 2012) (**Figura 4; Tabla 1**). De ellas, cuatro inducen deformaciones en su hospedador primario y nueve inducen agallas verdaderas en *Populus nigra*. Tan sólo de dos de ellas se desconocen sus formas sobre el hospedador primario y, por tanto, su capacidad para inducir agallas.

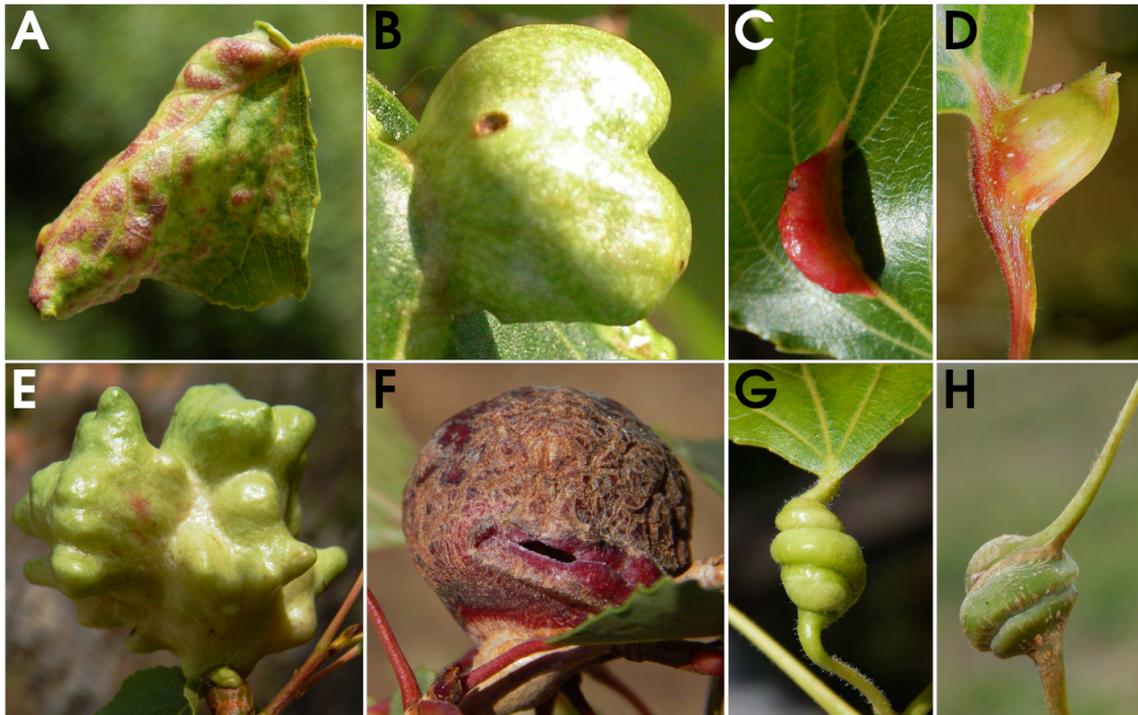


Figura 4: Agallas inducidas por las especies de Pemphigini sobre *Populus nigra*. (A) *Thecabius affinis* (agalla definitiva), (B) *Pemphigus populi*, (C) *P. populinigrae*, (D) *P. bursarius*, (E) *P. vesicarius*, (F) *P. immunis*, (G) *P. protospirae*, (H) *P. spyrothecae*,

ESTUDIOS HISTOLÓGICOS EN PEMPHIGINI

Al contrario que los Fordinos, en este grupo apenas existen estudios histológicos sobre las agallas inducidas por las especies de Pemphigini. Richardson et al. (2017) analizaron la histología y la morfología de las agallas de *Pemphigus betae* Doane, 1900, determinando que éstas implican fenómenos de hiperplasia de las epidermis adaxial y abaxial, acompañado de una hipertrofia generalizada del mesófilo. Sin embargo, hasta la fecha no se conocen otros estudios similares realizados de las agallas de otras especies de Pemphigini, por lo que no se puede determinar si lo observado para *P. betae* es la regla o la excepción.

ESTUDIOS FISIOLÓGICOS EN PEMPHIGINI

Por el contrario, muchas de estas agallas y el efecto que éstas tienen sobre su hospedador, han sido bien analizadas desde un punto de vista fisiológico, si bien estos estudios se centran en *P. betae* y *P. spyrothecae*. De una parte, gracias a estudios de marcaje con isótopos radioactivos, se determinó el efecto sumidero de las agallas de *P. betae* (Larson y Whitham, 1991). Por otro lado, también se describió las alteraciones en el perfil de fitohormonas producido por la acción de *P. betae* en distintos genotipos de *Populus angustifolia*. Además, Kot y Kmiec (2020) y Ye et al. (2019) determinaron recientemente que las agallas de *P. spyrothecae* tienen

una mayor concentración de especies reactivas de oxígeno, una mayor permeabilidad de las membranas, así como una mayor producción de volátiles y una menor tasa fotosintética.

ESTUDIOS ECOLÓGICOS EN PEMPHIGINI

Desde un punto de vista ecológico, la mayoría de estudios se han centrado en el género *Pemphigus*, y especialmente en *P. betae*. Una particularidad biológica de este género es que las ninfas de primer estado de las fundatrígenas aladas son dimórficas, existiendo unas con una mayor esclerotización y unas patas más robustas que reciben el nombre de **soldados** (Aoki y Kurosu, 1986). A día de hoy, estas formas se conocen sólo en algunas especies del subgénero *Pemphigus* como *P. spyrothecae*, *P. bursarius* o *P. protospirae* (Pike et al., 2007), y parece claro que son responsables de la defensa de la colonia frente a intrusos, así como de la reparación de daños estructurales ocasionados en las agallas (Aoki y Kurosu, 1986). Además, el desarrollo de las agallas y de su colonia se conoce para bastantes especies (Ghosh, 1984; Pike et al., 2007; Pike, 2007; Urban, 2002), pero los estudios sobre las relaciones ecológicas con sus enemigos naturales son muy escasos (Rakhshani et al., 2015; Urban, 2002).

OBJETIVOS

Habida cuenta de la información sesgada sobre el sentido adaptativo de las especies de pulgones gallígenas y la información insuficiente en la península ibérica, se hace necesaria la realización de estudios multidisciplinarios e integradores, que abarquen un enfoque histológico, ecológico y filogenético. Por ello, se plantea como **objetivo general** de este trabajo el **estudio del sentido adaptativo de las agallas inducidas por las especies ibéricas de Fordini y Pemphigini**. Como objetivos específicos, se plantean:

1. La elaboración de una **clasificación de las agallas** inducidas por los pulgones de las tribus Fordini y Pemphigini.
2. El estudio de las **dinámicas poblacionales** y su implicación en el desarrollo de las agallas inducidas por especies de Fordini y Pemphigini.
3. La validación de la **hipótesis nutricional** en las agallas inducidas por especies de Fordini y Pemphigini.
4. La validación de la **hipótesis del enemigo** en las agallas inducidas por especies de Fordini y Pemphigini.

EL ÁREA DE ESTUDIO

El estudio de las agallas inducidas por pulgones se centró en aquellas inducidas en *Pistacia terebintus* por especies de la tribu Fordini, y las inducidas en *Populus nigra* por especies de la tribu Pemphigini. En la provincia de León, estas especies están presentes y su distribución se encuentra ligada a la del hospedador primario (Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003). La mayor parte de las muestras proceden de las dos localidades de muestreo principales: el entorno de Las Médulas y el entorno de la ciudad de León. En algunos casos se recurrió a muestras de otras localidades, lo cual se indicará en los capítulos que corresponda.

El entorno de Las Médulas – agallas de Fordinos

El entorno de las médulas, al oeste de la provincia de León, se ubica desde un punto de vista biogeográfico en el sector Berciano-Sanabriense (provincia Mediterránea Ibérica Occidental) (Rivas-Martínez, 2007). Su bioclima es mediterráneo pluvies-tacional oceánico, mesomediterráneo superior, subhúmedo inferior (Rivas-Martínez, 2011a). En esta zona, cuya vegetación potencial está definida por encinares salicícolas (*Genisto hystricis-Querceto rotundifoliae* Sigmetum)(Rivas-Martínez, 2011b), está presente el cornicabra, *Pistacia terebintus*, en zonas con buena accesibilidad. Los lugares que ocupa esta planta en esta zona corresponde con hábitats relativamente degradados por el uso antrópico. Además, en este área están citadas todas las especies iberobaleares conocidas induciendo agallas en esta planta (*Baizongia pistaciae*, *Forda formicaria*, *F. marginata*, *Paracletus* spp. y *Geoica* spp.) (Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003). En este entorno, se han centrado los esfuerzos en las proximi-

dades de las localidades de San Juan de Paluezas (42° 30' 22"N, 6° 43' 27"W) y Villavieja (42° 29' 1"N, 6° 41' 0"W) (**Figura 5A y B**) por la especial abundancia del hospedador primario de los Fordinos. Los muestreos se han realizado en más de 50 pies de planta durante los años 2005 a 2016.

El entorno de León – agallas de Pemphiginos

La ciudad de León (42° 35' 60"N, 5° 34' 18"W), situada en el tercio este de la provincia de León, se ubica desde un punto de vista biogeográfico en el sector Leonés (provincia Mediterránea Ibérica Occidental) (Rivas-Martínez, 2007). Su bioclima es mediterráneo pluviestacional oceánico, submediterráneo inferior, subhúmedo inferior (Rivas-Martínez, 2011a). En esta zona, situada en los fondos de valle de los ríos Bernesga y Torío, y cuya vegetación potencial en las zonas riparias son alisedas (Rivas-Martínez, 2011b), hay abundantes pies de chopo negro, *Populus nigra*, en los cuales se encuentran la mayoría de especies de Pemphiginos induciendo agallas en esta planta (*Pemphigus bursarius*, *P. immunis*, *P. populi*, *P. protospirae*, *P. spyrothecae* y *T. affinis*) En esta zona (**Figura 5A y C**) se han recogido las agallas en 15 pies de planta durante los años 2020 a 2023.

MUESTREOS

Todos los muestreos se realizaron quincenalmente entre mayo y septiembre, coincidiendo con la época en la que las agallas están en desarrollo en su hospedador primario (Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003). En cada árbol, las agallas se recogieron de forma aleatoria, sin seleccionar una especie frente a otra, por lo que los muestreos pueden dar una idea de la abundancia relativa de cada especie en las zonas de muestreo. Una vez recogidas las agallas e individualizadas por cada pie de planta muestreado, se trasladaron al laboratorio donde fueron congeladas para su posterior procesamiento. En los años 2007 a 2010 también se realizaron muestreos puntuales durante el resto de meses del año para recoger agallas abiertas en busca de parásitos o depredadores que hubieran permanecido en la agalla tras su apertura.

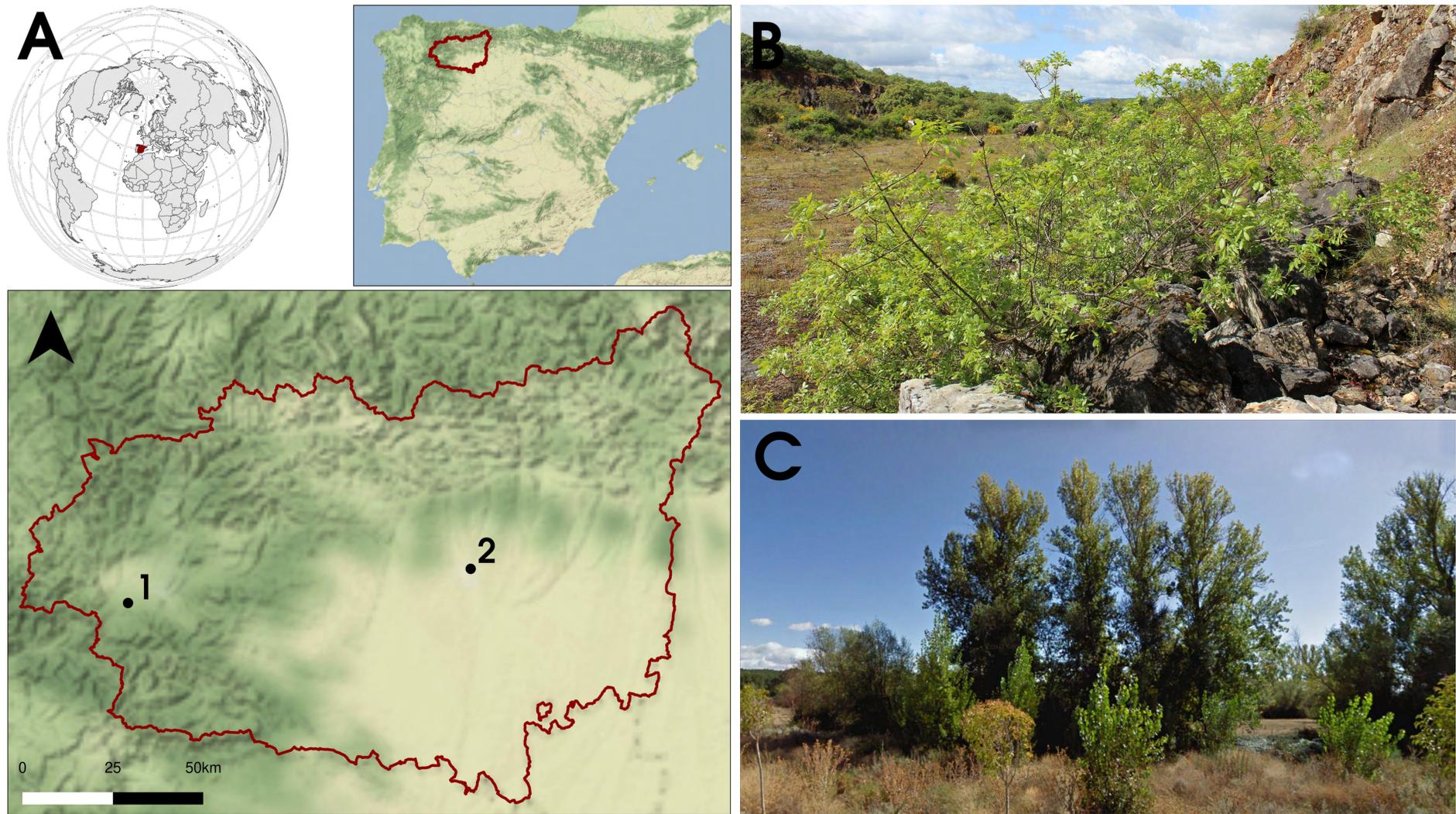


Figura 5: (A) Ubicación de las dos zonas principales de estudio, donde **1** indica el entorno de las Médulas donde se muestrearon agallas inducidas por Fordinos, y **2** indica el entorno de la ciudad de León, donde se muestrearon las agallas inducidas por Pemfiginos. (B) Pie de planta de *Pistacia terebinthus*. (C) Pies de planta de *Populus nigra*.

MÉTRICA DE LAS AGALLAS Y ESTIMACIÓN DE SU VOLUMEN

De cada hoja con agallas recogida se tomaron diversas medidas, las cuales difirieron en función de la especie de planta. En el caso de las hojas *P. therebintus*, se midió la longitud de la hoja, el número de foliolos y la longitud, anchura y posición del foliolo sobre el que se asentaba la agalla. Por su parte, de las hojas de *P. nigra* se midió la longitud y anchura de la hoja, así como la longitud del peciolo. Adicionalmente, de cada agalla, se registró su altura, anchura y longitud. A partir de estas tres últimas medidas, fue posible estimar el volumen de la agalla, aplicando modelos geométricos similares a la morfología de cada agalla (**Figura 6**). Así, para las agallas de *F. marginata* se utilizó un modelo cilíndrico de sección circular, mientras que para las agallas de *Paracletus* spp. y *F. formicaria*, se utilizó un cilindro aplanado de sección oval. El resto de agallas, como las de *Geoica* spp. o las de las especies de *Pemphigus* fueron asemejadas a un esferoide.

DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO POBLACIÓN DE LA COLONIA GALLÍCOLA

Una vez medidas las agallas, éstas fueron diseccionadas bajo una microscopio estereoscópico (marca Euromex NexiusZoom) con ayuda de un escalpelo. Los pulgones de su interior fueron fijados seguidamente en etanol al 70 % para su posterior conteo y conservación. En concreto, de cada colonia gallícola se determinó el número de individuos de cada generación. La diferenciación de las generaciones presentes en el interior de las agallas se puede realizar estudiando el número de antenómeros (Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003). Así, las fundadoras presentan sólo cuatro antenómeros, mientras que las fundatrigenas ápteras presentan cinco antenómeros y las aladas, seis. En el caso de haber un sólo pulgón (el inductor), se determinó también su estado de desarrollo mediante el conteo de las exuvias. En el caso de las generaciones de fundatrigenas ápteras, se determinó el número de ninfas (sin placa genital) y adultas (con placa genital). Finalmente, para la generación de fundatrigenas aladas se determinó el número de ninfas sin esbozos alares (n1-n2), de ninfas con esbozos alares (n3-n4), así como el número de adultas.

Adicionalmente se identificaron los ataques realizados por enemigos naturales. Las agallas atacadas por lepidópteros se reconocieron por presentar, al menos, un orificio en su pared (Wool, 2005). Por otro lado, las agallas parasitadas se identificaron por la hinchazón y endurecimiento de la cutícula de la fundadora o la fundatrígena áptera gallícola (Rakhshani et al., 2015).

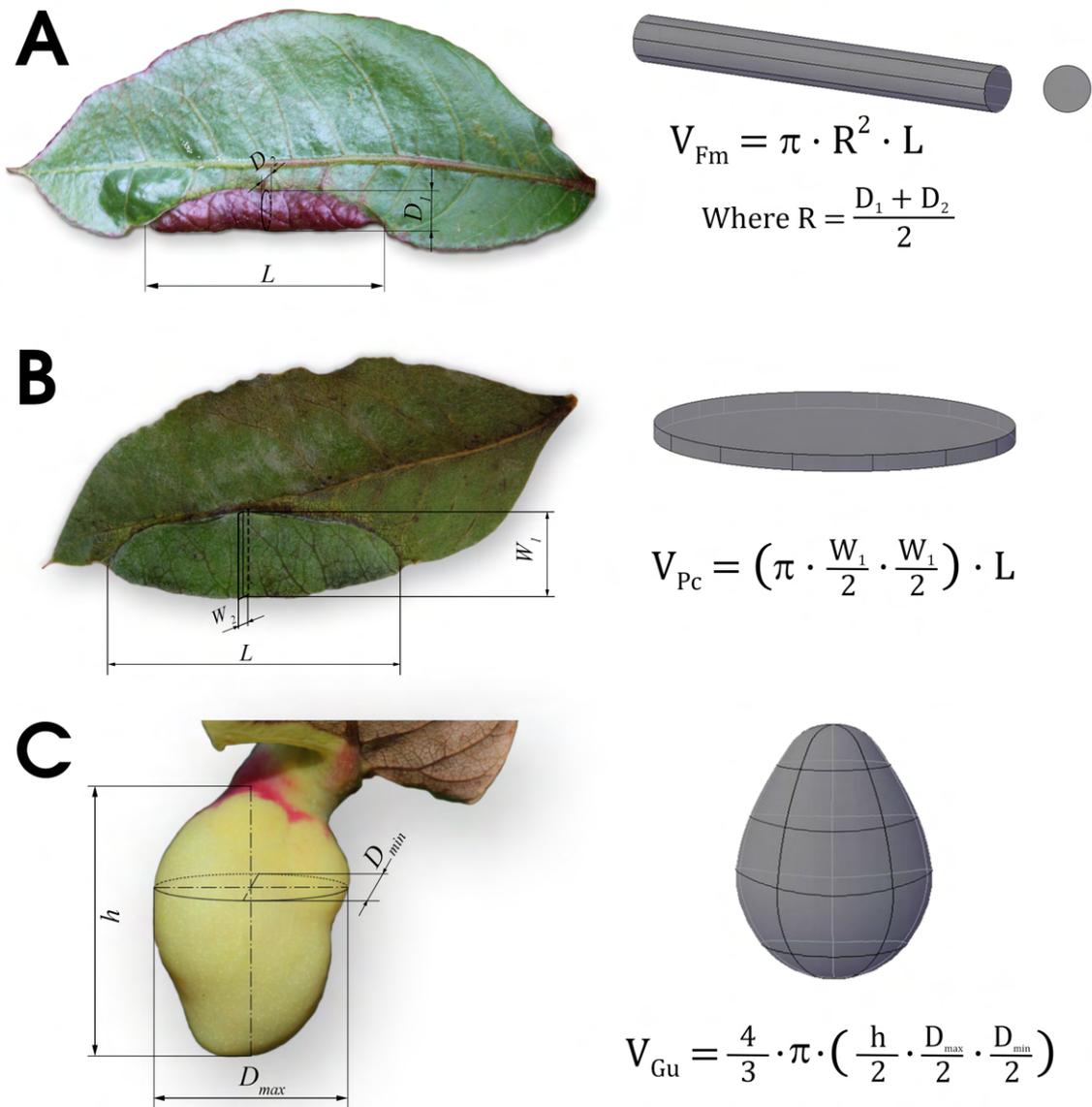


Figura 6: Modelos geométricos utilizados para *F. marginata* (A), *Paracletus* spp. y *F. formicaria* (B) y *Geoica* spp. y *Pemphigus* spp. (C). D_1 y D_2 : diámetros perpendiculares en el centro de la agalla; D_{max} : Diámetro mayor; D_{min} : diámetro menor; h : altura de la agalla; L : longitud de la agalla; W_1 y W_2 : Anchura y altura de la agalla, respectivamente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Dada la variabilidad en la naturaleza de los datos y los objetivos específicos, los análisis estadísticos detallados se explicarán en cada capítulo.

En todos los casos, se ha utilizado el lenguaje de programación **R** v.4.3.1 (R Core Team, 2023), realizando los análisis en un ordenador MSI con 16GB de RAM, un procesador Intel® Core™ i7 con 8 núcleos (2.80 GHz) y con un sistema operativo Ubuntu 20.04.6 LTS. La lectura de las tablas de datos se ha realizado con el paquete **openxlsx** v. 4.2.5 (Schauberger y Walker, 2021). Los gráficos se han realizado con **ggplot2** v.3.3.6 (Wickham, 2016), **ggpubr** v.0.4.0 (Kassambara, 2020) y otras funciones integradas en los paquetes indicados en su caso.

CAPÍTULO 1

CLASIFICACIÓN MORFO-HISTOLÓGICA DE AGALLAS DE PULGONES UNA PERSPECTIVA FILOGENÉTICA

La información contenida en este capítulo ha sido publicada, en parte, en la siguiente aportación:

Álvarez, R., **Moreno-González, V.**, Martínez, J. I., Ferreira, B. G., y Pérez Hidalgo, N. (2020). Microscopic study of nine galls induced in *Populus nigra* by aphids of the Iberian Peninsula. *Arthropod-Plant Interactions*, 14(6), 799–809. doi.org/10.1007/s11829-020-09778-1

RESUMEN

Los estudios histológicos de las agallas de insectos han sido fundamentales para comprender sus características y desarrollo. Las características histológicas, además, pueden ser únicas para ciertas especies o grupos taxonómicos, lo que permite la clasificación y diferenciación precisa. A partir de las recientes publicaciones que revisan la clasificación de agallas inducidas por especies de Fordini y Pemphigini, en este capítulo se presenta una clasificación conjunta de las agallas de todos los pulgones de ambas tribus. Además, se analizan las características histológicas en relación con la filogenia de estos taxones. La clasificación mostró la existencia de tres grupos netamente diferenciados: (1) bolsas abiertas, (2) pliegues de la lámina foliar, y (3) agallas cerradas. Estos tres grupos se diferenciaron en características histológicas y, además, en cuestiones biológicas como el sitio de inducción o el mecanismo de apertura. El estudio detallado del grado de hipertrofia e hiperplasia puso de manifiesto que en prácticamente todas las agallas analizadas, existió un incremento significativo en el grosor de la pared, el número de células de la pared y los grosores del floema y del haz vascular en comparación con el órgano sano del hospedador. Por su parte, el xilema sólo se hipertrofió en algunas agallas. Además, se observó que el grosor de la pared de la agalla está determinado por el número de células e influenciado por el tipo de agalla. Así, las agallas cerradas tienen mayor hipertrofia e hiperplasia. Todo ello demuestra que las agallas de pulgones son inducidas por fenómenos de hipertrofia del floema e hiperplasia del parénquima del órgano afectado. Finalmente, la clasificación filogenética mostró que, en la tribu Fordini, las agallas surgieron en una ocasión. Probablemente, las agallas abiertas con forma de pliegue, surgieron a partir de las agallas cerradas, habida cuenta que en los dos clados encontrados existen este tipo de agallas. Por su parte, en la tribu Pemphigini, la capacidad de inducir agallas surgió en, al menos, dos ocasiones: el subgénero *Pemphigus* induce agallas abiertas con forma de saco y el subgénero *Pemphiginus*, filogenéticamente independiente del género *Pemphigus*, induce agallas cerradas. De esta forma, las agallas cerradas son una convergencia evolutiva entre ambas tribus.

CAPÍTULO 2

DINÁMICAS POBLACIONALES Y DESARROLLO DE
LAS AGALLAS DE FORDINOS

RESUMEN

Las agallas de pulgones son coloniales. Esto implica que son generadas por un individuo, el cual se reproduce dentro de la agalla, dando lugar a una colonia gallícola. Su dinámica poblacional y la relación de ésta con el crecimiento de las agallas plantea, sin embargo, interrogantes. A pesar de la tendencia a considerar un crecimiento exponencial, se sugiere que un modelo logístico puede ser más apropiado debido a la limitación de la reproducción de la última generación. La falta de estudios exhaustivos, que están sesgados taxonómica y geográficamente, resalta la necesidad de una comprensión más completa de este fenómeno. Este capítulo tiene como objetivo determinar el modelo de crecimiento de las colonias gallícolas y las agallas, y su relación con el tipo de agalla, centrándose en cuatro especies de Fordinos (*Forda formicaria*, *F. marginata*, *Geoica* sp. y *Paracletus* sp.). A partir de los datos de tamaño poblacional y de las estimas de volumen de las agallas inducidas por cuatro especies de Fordinos en el periodo 2009-2016, se ajustaron diversas curvas logísticas. Con estos análisis, se comprobó que en todas las especies analizadas, la población gallícola creció de forma logística, es decir, que la colonia crece de forma lenta al inicio de su desarrollo y, posteriormente lo hace de forma rápida hasta llega a un estado de estabilidad poblacional. De modo semejante, todas agallas estudiadas, salvo las inducidas por *F. marginata* crecieron de forma logística. En la agalla mencionada, no se detectó un incremento del volumen a lo largo del tiempo, posiblemente debido al depósito de pared secundaria (lignificación) en las células parenquimáticas de la pared de la agalla. Adicionalmente, se pudo constatar que la colonia determina el crecimiento de la agalla en todo su desarrollo. Así, el estado de desarrollo de la forma gallígena correlacionó positivamente con el volumen de la agalla, de modo que esta forma es determinante en el establecimiento de la morfología y volumen iniciales. Por otro lado, el volumen de las agallas estuvo determinado por el tamaño de la colonia gallícola, aunque en este caso, la presencia de fundatrigenas aladas se relacionó con la ralentización del crecimiento. Gracias a estos resultados, se ha podido comprobar que las fundatrigenas ápteras gallícolas son responsables del crecimiento rápido de la agalla. Posiblemente, las fundatrigenas aladas sean responsables de la apertura de las agallas, aunque serán necesarios experimentos adicionales para determinar este hecho.

CAPÍTULO 3

CAMBIOS FISIOLÓGICOS DURANTE EL DESARROLLO.
LAS AGALLAS DEFINITIVAS DE *FORDA FORMICARIA*

RESUMEN

Durante el desarrollo de las agallas, se producen cambios fisiológicos y estructurales en los tejidos de la planta inducidos por el organismo inductor, afectando su capacidad fotosintética y su función como sumidero fisiológico. Aunque los estudios anteriores se han centrado en algunas tribus de pulgones gallígenos, la investigación sobre las agallas inducidas por Fordinos en *Pistacia* es limitada, y el desarrollo de agallas abiertas con forma de pliegue no ha sido estudiado. Este capítulo tiene como objetivos investigar los cambios fisiológicos en estas agallas, comprender su relación con el hospedador primario mediante parámetros fisiológicos clave, y profundizar en el papel de las fitohormonas en las etapas tempranas de cecidogénesis. Se utilizarán las agallas definitivas inducidas por las fundatrigenas ápteras gallígenas de *F. formicaria* en la región mediterránea. Se recolectaron agallas definitivas en *P. terebinthus* para análisis fisiológicos y nutricionales. Se analizaron azúcares solubles, almidón, fenoles, antocianos y nutrientes minerales. Adicionalmente, se estudió el papel de fitohormonas en las etapas tempranas de la cecidogénesis. El análisis de los resultados reveló patrones fisiológicos distintivos en el desarrollo de las agallas de *F. formicaria* en comparación con el tejido sano. Las agallas acumularon fenoles y antocianos en las primeras etapas, cambiando posteriormente a una acumulación de almidón y azúcares solubles. En el análisis de carbohidratos, se observó un aumento significativo de azúcares solubles y almidón en las agallas, y la presencia de antocianos y fenoles decreció a medida que las agallas maduraban. Los nutrientes también exhibieron cambios específicos en las agallas, como la disminución de calcio, hierro y manganeso, así como un aumento marcado de potasio. Además, las fitohormonas como el ácido indolacético e isopenteniladenina mostraron incrementos significativos en las agallas, mientras que el ácido salicílico y la castasterona disminuyeron. Estos hallazgos sugieren que las agallas de *F. formicaria* actúan como un sumidero limitado y, en sus fases maduras, acumula almidón en forma de amiloplastos. Además, la modulación de los componentes minerales en las agallas puede tener implicaciones en la tasa fotosintética (reducción de hierro y manganeso), la inhibición de defensas (reducción en calcio) o la mayor efectividad en la toma de aminoácidos (aumento en potasio y del ratio C/N). Durante la inducción, cobran especial relevancia el ácido indolacético, responsable de los procesos de hipertrofia e hiperplasia, y las citoquininas, posiblemente responsables del mantenimiento de la actividad fotosintética en la hoja. Además, queda patente que la inducción de agallas supone una inhibición de las defensas de la planta, habida cuenta de la disminución de ácido salicílico y compuestos defensivos como los fenoles y los antocianos.

CAPÍTULO 4

ENEMIGOS NATURALES DE FORDINOS Y PEMPHIGINOS

La información contenida en este capítulo ha sido presentada, en parte, en la siguiente comunicación oral:

Moreno-González, V., Casiraghi, A., Álvarez, R. y Pérez Hidalgo, N. (2023). Right in time, Right in space: how *Monoctonia pistaciaecola* parasitism affects the development of Fordini galls (Hemiptera: Aphididae). *XX Congreso Ibérico de Entomología*, Alicante (España). Comunicación oral.

RESUMEN

Las agallas inducidas por artrópodos presentan diversas estructuras externas e internas que desempeñan un papel crucial en la protección de los organismos que las albergan. La hipótesis del enemigo plantea que estas agallas representan una ventaja adaptativa al proporcionar protección contra enemigos naturales, lo que promueve la diversidad de estructuras de defensa en grupos gallícolas. El estudio se centra en los pulgones gallícolas, que son atacados por depredadores y parasitoides. En concreto, se estudian las preferencias por unas especies gallígenas frente a otras (1) del pirálido *Alophia combustella*, un depredador generalista, y (2) de los afidiinos *Monocotonia pistaciaecola* y *M. vesicarii*, ambos parasitoides especialistas de formas gallígenas de Fordini y Pemphigini, respectivamente. Durante los años 2008 a 2011 se recolectaron agallas de Fordinos depredadas por *A. combustella* en las localidades de Villavieja y San Juan de Paluezas (León). Estos muestreos se llevaron a cabo durante todos los meses del año. Las agallas recolectadas fueron diseccionadas y las orugas del interior, medidas para estimar su estado larvario. Adicionalmente, durante los años 2009, 2010 y 2019, se recolectaron agallas de Fordinos parasitadas por *M. pistaciaecola* y agallas de Pemphiginos parasitadas por *M. vesicarii*, tomando de ellas medidas para la estima del volumen de las agallas y contando los pulgones del interior para determinar el tamaño poblacional de la colonia. Los resultados mostraron que, entre los meses de mayo a septiembre, *A. combustella* tiene una preferencia por las agallas de *Geoica* spp., *Baizongia pistaciae* y *Forda formicaria*, siendo marginal la depredación sobre *F. marginata* y *Paracletus* spp., si bien, la preferencia por unas agallas frente a otras cambia a lo largo del desarrollo de la oruga. Por el contrario, *M. pistaciaecola* muestra un parasitismo diferencial, atacando fundamentalmente a *F. marginata*, *Geoica* spp., y *Paracletus* spp. En ambos casos, estos resultados suponen una evidencia indirecta que soporta la hipótesis del enemigo, aunque serán necesarios futuros estudios para determinar qué características hacen que una especie sea más o menos atacada por enemigos naturales. Además, el estudio del efecto sobre el tamaño de la colonia del parasitismo de *Monocotonia* pone de manifiesto que, en ausencia de fundatrígenas ápteras y aladas, las agallas cesan su crecimiento y nunca se abren. Esto evidencia de nuevo la implicación de las fundatrígenas en el desarrollo de la agalla.

DISCUSIÓN GENERAL

EL SENTIDO ADAPTATIVO DE LAS AGALLAS DE PULGONES

Las agallas estudiadas se han clasificado en tres grupos: cerradas, abiertas con forma de bolsa y abiertas con forma de pliegue. En esta clasificación es destacable, como ya se ha mencionado anteriormente, que cada tipo de agalla tiene un sitio de inducción diferente. Así, las agallas cerradas y las abiertas con forma de bolsa dependen directamente del haz vascular principal del órgano (nervio central de hoja o foliolo, haz vascular de peciolo, haz vascular de tallo) (Álvarez, 2012; Álvarez et al., 2016, 2020). Por su parte, las agallas abiertas con forma de pliegue son agallas que se inducen en la lámina foliolar (Álvarez et al., 2009, 2016, 2020). Si bien es sabido que el pulgón es el principal factor influenciando en la morfología de la agalla (Stern, 1995), parece que el sitio de inducción también está jugando un papel importante.

Las agallas cerradas son, en general las más grandes en volumen, pudiendo albergar desde decenas hasta millares de individuos (Wool, 2005). En el extremo opuesto, las agallas en forma de pliegue son las más pequeñas en volumen y también las que menor número de individuos albergan (Wertheim, 1954). Por su parte, las agallas con forma de bolsa tienen un tamaño intermedio, salvo las agallas de *Pemphigus immunis*, las cuales pueden ser bastante voluminosas (Ghosh, 1984). Además, las agallas cerradas presentan una mayor hipertrofia del tejido parenquimático, lo cual implica que sus paredes son más gruesas (ver **Capítulo 1**). Teniendo esto en cuenta, parece claro que el tipo de agalla, quizás unido al sitio de inducción, supone sobre el éxito reproductor de la colonia.

Todos las especies aquí estudiadas tienen ciclos diécicos o con alternancia de hospedadores salvo *P. spyrothecae* (Blackman y Eastop, 2020; Pérez Hidalgo y

Nieto Nafría, 2003; Chan y Forbes, 1975). Para llegar al hospedador secundario desde las agallas inducidas en el primario, es necesario que las agallas se abran para que las fundatrígenas aladas puedan realizar el vuelo de migración. De nuevo, en la clasificación encontrada, los mecanismos por los cuales las agallas se abren difieren totalmente. Así, las agallas cerradas se rompen por múltiples sitios permitiendo el vuelo sincrónico de todas las aladas. Las agallas abiertas con forma de pliegue se abren mediante la apertura de su zona de cierra por dehiscencia de la agalla. En este caso, el vuelo de las aladas es también sincrónico. En contraposición, las agallas abiertas con forma de bolsa, se abren mediante el aumento del tamaño del poro apical permitiendo que las aladas realicen el vuelo a medida que alcanzan la adultez y, por tanto, lo hacen de forma asincrónica (Pike et al., 2007).

HIPÓTESIS NUTRICIONAL

La hipótesis nutricional afirma que las agallas suponen un beneficio para el organismo gallígeno al proporcionar una mejor nutrición (Price et al., 1987; Stone y Schönrogge, 2003). Una agalla con mejor calidad nutritiva proporcionará un mayor éxito en términos de supervivencia y, en el caso particular de los pulgones, también en términos de reproducción. Teniendo en cuenta esta hipótesis, en los distintos tipos de agallas encontrados deberían haberse seleccionado características o estructuras que permitan esta mejora en la calidad nutricional (Stone y Schönrogge, 2003).

En especies de la tribu Fordini, las agallas cerradas tienen una colonia mayor y un mayor efecto sumidero que las agallas en pliegue (Inbar et al., 2004). Además, aunque en especies de Pemphigini no se haya estudiado el efecto sumidero de los distintos tipos de agallas, siguiendo la idea de Inbar et al. (2004), seguramente, las agallas cerradas tengan una mayor capacidad como sumidero al presentar una colonia de mayor tamaño (Pike et al., 2007).

Dado que la población crece de forma logística en la mayoría de especies de pulgones gallícolas (ver **Capítulo 2**), durante la fase de crecimiento logístico los nutrientes serán importados con mayor intensidad desde otros órganos de la planta. En este sentido, las agallas cerradas pueden hacer frente a esto gracias a que están situadas siempre sobre el nervio central y, en algunas especies como *Baizongia pistaciae*, *Slavum wertheimae* o *Pemphigus vesicarius*, la agalla afecta a todo el órgano y se inducen cuando éste es muy joven, permitiendo así que se produzcan una mayor cantidad de cambios fisiológicos (Mani, 1964). Además, todas las agallas cerradas inducidas por pulgones presentan una epidermis en la luz con oquedades (Álvarez et al., 2020, 2016), lo que les permite evacuar la melaza

producida por la colonia (Kutsukake et al., 2019). Teniendo en cuenta que la melaza de los pulgones es muy similar a la savia elaborada (Douglas, 2003), serán necesarios futuros estudios para determinar si estos desechos absorbidos por la planta pueden ser reutilizados por los pulgones y, por tanto, si tiene alguna implicación sobre la nutrición de la colonia.

En el extremo opuesto, las agallas con forma de pliegue tienen un poder como sumidero fisiológico muy limitado (Inbar et al., 2004) al ser inducidas en el margen foliolar sobre un órgano ya diferenciado. Posiblemente, en estas agallas la mejora en los nutrientes se dé a través de la acumulación de almidón en forma de amiloplastos que se liberan por acción de las α -amilasas según se incrementa la demanda de azúcares por parte de la colonia (ver **Capítulo 3** y Álvarez et al., 2009). Además, la mayoría de especies inductoras de agallas con forma de pliegue (todas menos las del género *Paracletus*) inducen dos agallas y presentan una generación de fundatrígenas ápteras adicional (Roberti, 1983). Mediante la acumulación de amiloplastos y la inducción de dos agallas secuenciales en el ciclo vital, las especies que inducen este tipo de agallas pueden no ser tan dependientes del efecto sumidero.

Finalmente, las agallas con forma de saco, al igual que las agallas cerradas, están inducidas sobre el nervio central de las hojas, sobre el peciolo, o sobre la rama, lo cual les permite un buen acceso a los recursos de la planta que circulan por el floema (Inbar et al., 2004; Larson y Whitham, 1991). Además, en estas especies, las fundatrígenas aladas salen durante un periodo más o menos dilatado en el tiempo y no de forma sincrónica como el resto (Pike et al., 2007). De este modo, la fase estacionaria de la colonia gallícola se alcanza antes y con un número de pulgones menor.

Con todo ello, es posible afirmar que, entre los distintos tipos de agallas inducidas por especies de Fordini y Pemphigini, existen evidencias directas e indirectas que soportan la hipótesis nutricional. En este sentido, parece claro que la mejora en la calidad nutricional o las estrategias que permiten aprovechar mejor los recursos de la planta hospedadora son un motor fundamental en la evolución de estas especies.

HIPÓTESIS DEL ENEMIGO

La hipótesis del enemigo postula que las agallas protegen a los organismos gallícolas del ataque de enemigos naturales como depredadores o parásitos (Price et al., 1987). De este modo, los organismos gallícolas deberían sufrir una menor cantidad de ataques por enemigos naturales y, además, presentar una menor tasa de mortalidad por dichos ataques (Stone y Schönrogge, 2003). Además, según esta hipótesis, características como la dureza y el grosor de la pared, o la presencia de tricomas reducen la cantidad de ataques (Stone y Schönrogge, 2003). En este sentido, la hipótesis del enemigo se validaría si los enemigos naturales atacasen más a agallas más blandas, con paredes más finas o con menos tricomas.

En el **Capítulo 4** se ha constatado que el depredador generalista *Alophia combustella* ataca preferentemente a *Geoica utricularia*, *Forda formicaria* y *Baizongia pistaciae*. Por su parte, el parasitoide *Monoctonia pistaciaecola* ataca a *F. marginata*, *Geoica* spp. y *Paracletus* spp., siendo el parasitismo sobre el resto de especies, residual. Sin embargo, esta preferencia por unas especies frente a otras, no está ligada a la clasificación de las agallas, pues entre las agallas atacadas, tanto por *A. combustella* como por *M. pistaciaecola*, hay agallas cerradas y agallas con forma de pliegue.

La selección de *A. combustella* de unas agallas frente a otras, parece tener relación con el tamaño de las mismas. Además, en las agallas maduras de *F. marginata* existe lignificación de las células de la parte externa de la agalla, así como una acumulación de esclereidas que no ocurre en el del resto de agallas estudiadas (Álvarez et al., 2009, 2016). Estos factores pueden actuar como deterrentes frente al depredador.

Por su parte, la selección de *M. pistaciaecola* de unas especies frente a otras no debe responder a características de las agallas, pues este parasitoide ataca al pulgón gallígeno antes de que la agalla se forme (Starý, 1968). Sin embargo, es posible que la supervivencia de las especies de *Monoctonia* se vea favorecida por las características de las agallas. De hecho, la especie más parasitada fue *F. marginata*, cuyas agallas definitivas muestran una pared muy endurecida por la lignificación y la presencia de esclereidas (Álvarez et al., 2009, 2016).

La existencia de una depredación y parasitismo diferenciales, así como la existencia de determinadas características de las agallas que pueden ser responsables de estos patrones, son evidencias indirectas que validan la hipótesis del enemigo. Sin embargo, aún serán necesarios estudios más detallados sobre los motivos por los que estos enemigos naturales seleccionan unas agallas frente a otras.

¿POR QUÉ ALGUNAS AGALLAS SON ROJAS Y OTRAS NO?

Las agallas estudiadas tienden a adquirir coloraciones rojizas durante su maduración, como es el caso de *F. marginata*, *F. formicaria*, *P. spyrothecae* o *T. affinis*, mientras que otras como *P. cimiciformis* o *P. populi* son verdes durante todo su desarrollo. Además, algunas presentan una coloración rojiza sólo en determinadas partes como el pedúnculo en agallas de *G. utricularia* o el pedúnculo y el ápice en las agallas de *B. pistaciae*. En la actualidad, existen cuatro hipótesis que explican por qué las agallas adquieren una coloración rojiza: (1) la coloración rojiza es consecuencia de la acumulación de antocianos que actúan como elementos fotoprotectores (Wool, 2005); (2) la coloración rojiza es una coloración aposemática que advierte a los potenciales depredadores de su impalatabilidad (Inbar et al., 2010); (3) las agallas adquieren una coloración rojiza durante sus etapas finales del desarrollo como consecuencia de la senescencia de las células más externas de la pared de la agalla (White, 2010); (4) la coloración rojiza se produce por una interacción entre las citoquininas, los azúcares y la radiación solar y, por tanto, es una consecuencia del mecanismo de inducción de la agalla (Connor et al., 2012). Sin embargo, aún no hay consenso sobre cuál de las cuatro hipótesis es válida para explicar este fenómeno tan extendido en las agallas inducidas por insectos (ver Connor et al., 2012; Gerchman et al., 2013).

Para que la hipótesis de la fotoprotección (Wool, 2005) fuese cierta, debería observarse que las agallas inducidas por la misma especie tuviesen coloraciones rojizas de distinta intensidad en función del grado de exposición solar. Aunque este hecho no ha sido comprobado directamente en el marco de esta tesis doctoral, las observaciones de campo indican que las agallas que desarrollan coloraciones rojizas lo hacen independientemente del lugar de la planta en el que se desarrollen (*observación personal*). Del mismo modo, la hipótesis de (White, 2010) no explicaría por qué algunas agallas como las temporales de *F. formicaria* y *F. marginata* o las definitivas de *F. marginata* son rojas durante todo su desarrollo.

Por otro lado, la hipótesis del aposematismo de Inbar et al. (2010) requiere que exista un reconocimiento por parte del depredador que, eventualmente, ataque selectivamente a agallas que no muestren esta coloración rojiza y, además, que exista un beneficio sobre el éxito reproductor en el organismo gallígeno. Sin embargo, los resultados expuestos en el **Capítulo 4** no apoyan esta idea. En el estudio de depredación de *Alophia combustella* sobre las agallas de Fordinos, se observó que las agallas de *G. utricularia* (parcialmente rojizas) y las de *F. formicaria* (totalmente rojizas) fueron depredadas de forma preferente, mientras que la depredación sobre las agallas de *F. marginata* (totalmente rojiza) y *P. cimiciformis* (verde) fue marginal

(ver **Figura ??**, pág. ??). Por lo tanto, no se puede asumir una depredación selectiva asociada al color rojo.

Finalmente, la hipótesis de las citoquininas de Connor et al. (2012) sí estaría apoyada por los resultados mostrados en el **Capítulo 3**. En las agallas de *F. formicaria*, que intensifican su coloración rojiza durante su desarrollo, se observó un incremento significativo de algunas citoquininas y un aumento paulatino de los azúcares solubles y el almidón en el interior de la agalla, si bien los antocianos, responsables de la coloración rojiza en muchas plantas (Taiz et al., 2015), redujeron su concentración en las agallas a medida que éstas maduraron. Debido a que la coloración rojiza de estas agallas se da sólo en la pared externa, es posible que se dé una acumulación de antocianos en el exterior de la agalla –quizás en respuesta a la luz (Guo et al., 2005)– y, aun así, se cuantifique una disminución de la concentración global de este compuesto. Además, esta hipótesis explicaría porque agallas como las inducidas por *G. utricularia* se tornan rojas en el sitio de inducción, donde la concentración de citoquininas se supone mayor.

Por lo tanto, parece que en las agallas inducidas por Fordinos y Pemphiginos la coloración rojiza es una consecuencia del mecanismo de inducción y de los cambios fisiológicos que acontecen durante su desarrollo. Por lo tanto, este elemento no ayudaría a explicar el sentido adaptativo de las agallas ni la hipótesis del enemigo (Price et al., 1987; Stone y Schönrogge, 2003) al no poder considerarse una consecuencia de la presión selectiva ejercida por los enemigos naturales. Sin embargo, serán necesarios futuros estudios para determinar por qué no todas las agallas son rojas. Del mismo modo, sería interesante determinar si, de forma secundaria, la coloración rojiza reporta algún beneficio sobre el éxito reproductor de los organismo gallígenos.

SOBRE EL PAPEL DE LAS FUNDATRÍGENAS ALADAS

La apertura de las agallas es necesaria para la continuidad del ciclo vital de los Fordinos y los Pemphiginos, puesto que es la única manera de que se produzca el vuelo de migración al hospedador secundario (Blackman y Eastop, 2020; Pérez Hidalgo y Nieto Nafría, 2003; Wool, 2005). Puesto que la forma de apertura de estas agallas es diferente en las agallas abiertas y las agallas cerradas, los fenómenos fisiológicos que acontezcan durante este periodo serán diferentes. Así, las agallas cerradas se abren por rotura de su pared (Wool, 2005), por lo que es posible que acontezcan eventos semejantes a los que ocurren durante la abscisión foliar (suberificación, senescencia celular y rotura tisular (Olsson y Butenko, 2018)) o a

la dehiscencia de las tecas en las anteras y frutos (lignificación, senescencia celular, deshidratación (Wilson et al., 2011)). Por otro lado, las agallas abiertas en forma de pliegue y las agallas abiertas en forma de saco se abren de forma más o menos paulatina por la zona de cierre (Pike et al., 2007). En este sentido, al presentar una zona por la que la agalla se puede abrir, es posible que las agallas se abran simplemente por deshidratación.

En plantas, tanto la abscisión como la dehiscencia de órganos son fenómenos que están controlados por fitohormonas como auxinas (Olsson y Butenko, 2018; Taiz et al., 2015; Wilson et al., 2011). Teniendo en cuenta que (1) los pulgones gallígenos sintetizan ácido indolacético (Tooker y Helms, 2014) que produce una fuerte desregulación del perfil de fitohormonas (ver **Capítulo 2**), y (2) que el desarrollo de las agallas es un proceso continuo que requiere el estímulo constante de los organismos gallícolas (Williams, 1994), seguramente los pulgones gallícolas sigan estimulando a la planta con fitohormonas endógenas. Así, es posible que la colonia gallícola desencadene la apertura de las agallas. Los resultados del **Capítulo 4** señalan que, en agallas parasitadas, la muerte de la colonia en Fordinos causada por *Monoctonia pistaciaecola* impide que estas agallas se abran. Por otro lado, en las agallas de Pemphiginos, en las que el *M. vesicarii* no produce la muerte de la colonia, las agallas se desarrollan hasta su apertura. Todo esto señala que la colonia gallícola es indispensable para que la agalla se abra, si bien aún es imposible determinar si este proceso es inducido por las fundatrígenas ápteras, por las fundatrígenas aladas o por ambas de forma sinérgica. Serán necesarios futuros estudios para determinar qué papel juegan las generaciones gallícolas en la apertura de las agallas.

CONCLUSIONES

1. Los pulgones de las tribus Fordini y Pemphigini inducen tres tipos de agallas: agallas cerradas, agallas abiertas con forma de pliegue y agallas abiertas con forma de saco. Cada uno de estos tipos difiere, no sólo en las características histológicas, sino también en propiedades como el sitio de inducción, el mecanismo de apertura y la evacuación de los residuos.
2. Desde un punto de vista evolutivo, en la tribu Fordini, la capacidad de inducción de agallas ha surgido en una ocasión, constituyendo así una sinapomorfía de este taxón. Según este paradigma, las agallas con forma de pliegue se habrían originado a partir de agallas cerradas. Por otro lado, en Pemphigini, la capacidad para inducir agallas ha surgido en dos ocasiones de forma independiente. Por un lado, habrían surgido las agallas abiertas con forma de saco propias del subgénero *Pemphigus*; por otro, surgen las agallas cerradas propias del género *Mordovilloja* y las especies de *Pemphigus* (*Pemphiginus*). Así, las agallas cerradas constituyen una convergencia evolutiva entre las tribus Fordini y Pemphigini.
3. La colonia gallícola determina el desarrollo de la agalla. Desde el punto de vista de la cecidogénesis, las formas gallígenas son responsables de la inducción y, por tanto, de la morfología inicial de las agallas. Posteriormente, las fundatrígenas ápteras gallícolas son responsables del crecimiento rápido de la agalla. Por último, las fundatrígenas aladas, quizás junto con las fundatrígenas ápteras gallícolas, pueden ser las responsables de la apertura de las agallas previa al vuelo de migración al hospedador secundario. Futuros estudios serán necesarios para determinar el papel que juega cada morfo en esta última etapa del desarrollo de las agallas inducidas por especies de Fordini y Pemphigini.

-
4. Las diferencias encontradas en la capacidad como sumideros fisiológicos en las agallas atiende a la clasificación realizada en este trabajo. Estas disimilitudes, también se relacionan con el tamaño de la colonia gallícola al final del desarrollo, así como con el sitio de inducción. Todas estas evidencias –directas e indirectas– soportan la hipótesis nutricional.
 5. Los enemigos naturales estudiados seleccionaron las agallas de forma diferencial, aunque esta selección no atendió a la clasificación de las agallas realizada. Pese a ello, se encontraron características como la presencia de esclereidas en la parte externa de las agallas de *Forda marginata* que pueden estar detrás de que éstas sean seleccionadas por el parasitoide *Monoctonia pistaciaecola* y, al mismo tiempo, evitadas por el depredador *Alophia combustella*. El ataque diferencial, junto con las mencionadas características son evidencias que soportan parcialmente la hipótesis del enemigo en las agallas inducidas por especies de Fordini y Pemphigini.

BIBLIOGRAFÍA

- A Observation International y socios locales (2023). Observation.org dataset *Alophia combustella*.
- Abbot, P. y Withgott, J. H. (2004). Phylogenetic and Molecular evidence for Allochronic speciation in gall-forming aphids (*Pemphigus*). *Evolution*, 58(3), 539–553.
- Álvarez, R. (2002). *Atlas de histología y organografía de las plantas*. Leon: Universidad de Leon.
- Álvarez, R. (2011). Initial Stages in the Formation of Galls Induced by *Geoica utricularia* in *Pistacia terebinthus* Leaflets: Origin of the Two Vascular Bundles which Characterize the Wall of the Galls. *American Journal of Plant Sciences*, 02(02), 175–179.
- Álvarez, R. (2012). Microscopic study of the walls of galls induced by *Geoica utricularia* and *Baizongia pistaciae* in *Pistacia terebinthus*: a contribution to the phylogeny of Fordini. *Arthropod-Plant Interactions*, 6(1), 137–145.
- Álvarez, R., Encina, A., y Pérez Hidalgo, N. (2008). *Pistacia terebinthus* L. leaflets: An anatomical study. *Plant Systematics and Evolution*, 272(1-4), 107–118.
- Álvarez, R., Encina, A., y Pérez Hidalgo, N. (2009). Histological aspects of three *Pistacia terebinthus* galls induced by three different aphids: *Paracletus cimiciformis*, *Forda marginata* and *Forda formicaria*. *Plant Science*, 176(2), 303–314.
- Álvarez, R., Martínez, J. I., Muñoz-Viveros, A. L., Molist, P., Abad-González, J., y Nieto Nafría, J. M. (2016). Contribution of gall microscopic structure to taxonomy of gallicolous aphids on *Pistacia*. *Plant biology*, 18(5), 868–875.
- Álvarez, R., Molist, P., González-Sierra, S., Martínez, J. I., y Nieto Nafría, J. M. (2014). The histo structure of galls induced by aphids as a useful taxonomic character: the case of *Rectinasus* (Hemiptera, Aphididae, Eriosomatinae). *Zootaxa*, 3861(5), 487.
- Álvarez, R., Moreno-González, V., Martínez, J. I., Ferreira, B. G., y Pérez Hidalgo, N. (2020). Microscopic study of nine galls induced in *Populus nigra* by aphids of the Iberian Peninsula. *Arthropod-Plant Interactions*, 14(6), 799–809.
- Amorim, D. O., Ferreira, B. G., y Fleury, G. (2017). Plant potentialities determine anatomical and histochemical diversity in *Mikania glomerata* Spreng. galls. *Revista Brasileira de Botanica*, 40(2), 517–527.
- Aoki, S. y Kurosu, U. (1986). Soldiers of a European Gall Aphid, *Pemphigus spyrotecae* (Homoptera: Aphidoidea): Why Do They Molt? *Journal of Ethology*, 4, 97–104.
- Arima, M., Yokota, T., y Takahashi, N. (1984). Identification and quantification of brassinolide-related steroids in the insect gall and healthy tissues of the chestnut plant. *Phytochemistry*, 23(8), 1587–1591.
- Bailey, S., Percy, D. M., Hefer, C. A., y Cronk, Q. C. B. (2015). The transcriptional landscape of insect galls: psyllid (Hemiptera) gall formation in Hawaiian *Metrosideros polymorpha* (Myrtaceae). *BMC Genomics*, 16(1).
- Bartlett, L. y Connor, E. F. (2014). Exogenous phytohormones and the induction of plant galls by insects. *Arthropod-Plant Interactions*, 8, 339–348.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., y Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48.

- Benjamini, Y. y Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)*, 57(1), 289–300.
- Blackman, R. y Eastop, V. (2020). Aphids on the world's plants.
- Body, M. J. A., Zinkgraf, M. S., Whitham, T. G., Lin, C.-H., Richardson, R. A., Appel, H. M., y Schultz, J. C. (2019). Heritable Phytohormone Profiles of Poplar Genotypes Vary in Resistance to a Gall-forming Aphid. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 32(6), 654–672.
- Bomfim, P. M., Cardoso, J. C., Rezende, U. C., Martini, V. C., y Oliveira, D. C. (2019). Red galls: the different stories of two gall types on the same host. *Plant Biology*, 21(2), 284–291.
- Borowiak-Sobkowiak, B., Durak, R., Kmiec, K., y Walczak, U. (2022). Population Development of Alien Gall-Forming Aphid *Tetraneura nigriabdominalis* on *Ulmus minor* and *Ulmus glabra*. *Forests*, 13(7), 1069.
- Braendle, C. y Foster, W. A. (2004). Defensive Behavior in Primary- and Secondary-Host Generations of the Soldier-Producing Aphid, *Pemphigus bursarius* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Insect Behavior*, 17(5), 663–672.
- Brown, P. A. y Blackman, R. (1994). Morphometric variation in the *Geoica utricularia* (Homoptera: Aphididae) species group on *Pistacia* (Anacardiaceae), with descriptions of new species and a key to emigrant alatae. *Systematic Entomology*, 19, 119–132.
- Burstein, M., Wool, D., y Eshel, A. (1994). Sink strength and clone size of sympatric, gall-forming aphids. *European Journal of Entomology*, 91, 57–61.
- Carneiro, R. G., Castro, A. C., y Isaias, R. M. (2014). Unique histochemical gradients in a photosynthesis-deficient plant gall. *South African Journal of Botany*, 92, 97–104.
- Casiraghi, A., Martínez-Torres, D., y Pérez Hidalgo, N. (2019). Confirmation of the presence of *Pachypappa warshavensis* (Nasonov, 1894) [Hemiptera Aphididae] in the Iberian Peninsula. *Redia*, 102, 113–119.
- Casiraghi, A., Umanan, Á., Moreno-González, V., y Pérez Hidalgo, N. (2022). The presence of *Prociphilus (Prociphilus) bumeliae* (Schränk, 1801) (Aphididae: Eriosomatinae: Pemphigini) in the Iberian Peninsula. *Bonn Zoological Bulletin*, 71(2), 209–214.
- Castro, A. C., Oliveira, D. C., Moreira, A. S. F., Lemos-Filho, J., y Isaias, R. (2012). Source-sink relationship and photosynthesis in the horn-shaped gall and its host plant *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae). *South African Journal of Botany*, 83, 121–126.
- Chan, C. K. y Forbes, A. R. (1975). Life-cycle of a spiral gall aphid, *Pemphigus spirothecae* (Homoptera: Aphididae), on poplar in British Columbia. *Journal of the Entomological Society of British Columbia*, 72, 26–30.
- Charif, D. y Lobry, J. R. (2007). SeqinR 1.0-2: a contributed package to the R project for statistical computing devoted to biological sequences retrieval and analysis. In U. Bastolla, M. Porto, H. E. Roman, y M. Vendruscolo (Eds.), *Structural approaches to sequence evolution: Molecules, networks, populations*, Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering (pp. 207–232). New York: Springer Verlag.
- Chen, J., Jiang, L. Y., y Qiao, G. X. (2014). A total-evidence phylogenetic analysis of Hormaphidinae (Hemiptera: Aphididae), with comments on the evolution of galls. *Cladistics*, 30, 26–66.
- Chen, J. y Qiao, G. (2009). A study on diversity of aphid's galls of Hormaphidinae. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 34(2), 269–276.
- Chen, X., Yang, Z., Chen, H., Qi, Q., Liu, J., Wang, C., Shao, S., Lu, Q., Li, Y., Wu, H., King-Jones, K., y Chen, M. S. (2020). A Complex Nutrient Exchange Between a Gall-Forming Aphid and Its Plant Host. *Frontiers in Plant Science*, 11, 811.
- Chen, Y. y Seybold, S. J. (2013). Application of a Frequency Distribution Method for Determining Instars of the Beet Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) From Widths of Cast Head Capsules. *Journal of Economic Entomology*, 106(2), 800–806.
- Compson, Z. G., Larson, K. C., Zinkgraf, M. S., y Whitham, T. G. (2011). A genetic basis for the manipulation of sink-source relationships by the gall-forming aphid *Pemphigus batae*. *Oecologia*, 167, 711–721.
- Connor, E. F., Bartlett, L., O'Toole, S., Byrd, S., Biskar, K., y Orozco, J. (2012). The mechanism of gall induction makes galls red. *Arthropod-Plant Interactions*, 6, 489–495.
- Costamagna, A. C., Van Der Werf, W., Bianchi, F. J., y Landis, D. A. (2007). An exponential growth model with decreasing r captures bottom-up effects on the population growth of *Aphis glycines* Matsumura (Hemiptera: Aphididae). *Agricultural and Forest Entomology*, 9(4), 297–305.
- Danielsson, R. (1989). *Clydesmithia canadensis*, a new genus and species of Pemphigidae living of *Populus* in North America (Homoptera: Aphidoidea: Pemphigidae). *Entomologica Scandinavica*, 20(4), 429–437.
- de Jong, Y., Verbeek, M., Michelsen, V., Bjørn, P. d. P., Los, W., Steeman, F., Bailly, N., Basire, C., Chylarecki, P., Stloukal, E., Hagedorn, G., Wetzell, F., Glöckler, F., Kroupa, A., Korb, G., Hoffmann, A., Häuser, C., Kohlbecker, A., Müller, A., Güntsch, A., Stoev, P., y Penev, L. (2014). Fauna Europaea – all European animal species on the web. *Biodiversity Data Journal*, 2, e4034.

- de Oliveira, D. C., Isaias, R. M. d. S., Fernandes, G. W., Ferreira, B. G., Carneiro, R. G. S., y Fuzaro, L. (2016). Manipulation of host plant cells and tissues by gall-inducing insects and adaptive strategies used by different feeding guilds. *Journal of Insect Physiology*, 84, 103–113.
- Delatorre, C., Rodríguez, A., Rodríguez, L., Majada, J. P., Ordás, R. J., y Feito, I. (2017). Hormonal profiling: Development of a simple method to extract and quantify phytohormones in complex matrices by UHPLC–MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 1040, 239–249.
- Desnitskiy, A. G., Chetverikov, P. E., Ivanova, L. A., Kuzmin, I. V., Ozman-Sullivan, S. K., y Sukhareva, S. I. (2023). Molecular Aspects of Gall Formation Induced by Mites and Insects. *Life*, 13(6), 1347.
- Dische, Z., Pallavicini, C., Kavasaki, H., Smirnow, N., Cizek, L. J., y Chien, S. (1962). Influence of the nature of the secretory stimulus on the composition of the carbohydrate moiety of glycoproteins of the submaxillary saliva. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 97(3), 459–469.
- Douglas, A. E. (2003). The nutritional physiology of aphids. *Advances in insect physiology*, 31(31), 73–140.
- Dsouza, M. R. y Ravishankar, B. E. (2014). Nutritional sink formation in galls of *Ficus glomerata* Roxb. (Moraceae) by the insect *Paucopsylla depressa* (Psyllidae, Hemiptera). *Tropical Ecology*, 55(1), 129–136.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32(5), 1792–1797.
- Favret, C. y Eades, D. C. (2023). Aphid Species File.
- Fernandes, G. W., Carneiro, M. A. A., y Isaias, R. M. S. (2012). Gall-Inducing Insects: From Anatomy to Biodiversity. In A. R. Panizzi y J. R. Parra (Eds.), *Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management* chapter 16, (pp. 387–414). Boca Raton: CRC Press.
- Fernandes, G. W., Coelho, M. S., y Lüttge, U. (2010). Photosynthetic efficiency of *Clusia arrudae* leaf tissue with and without Cecidomyiidae galls. *Brazilian Journal of Biology*, 70(3), 723–728.
- Ferreira, B. G., Álvarez, R., Bragança, G. P., Alvarenga, D. R., Pérez Hidalgo, N., y Isaias, R. M. (2019). Feeding and Other Gall Facets: Patterns and Determinants in Gall Structure. *Botanical Review*, 85, 78–106.
- Ferreira, B. G., Carneiro, R. G., y Isaias, R. M. (2015). Multivesicular bodies differentiate exclusively in nutritive fast-dividing cells in *Marctia taxifolia* galls. *Protoplasma*, 252(5), 1275–1283.
- Formiga, A. T., de Oliveira, D. C., Ferreira, B. G., Magalhães, T. A., de Castro, A. C., Fernandes, G. W., y Isaias, R. M. d. S. (2013). The role of pectic composition of cell walls in the determination of the new shape-functional design in galls of *Baccharis reticularia* (Asteraceae). *Protoplasma*, 250(4), 899–908.
- Fox, J. y Weisberg, S. (2019). *An R Companion to Applied Regression*. Thousand Oaks, CA: SAGE Publications Ltd., third edition.
- Gätjens-Boniche, O. (2019). The mechanism of plant gall induction by insects: Revealing clues, facts, and consequences in a Cross-Kingdom complex interaction. *Revista de Biología Tropical*, 67(6), 1359–1382.
- Gerchman, Y., Lev-Yadun, S., y Inbar, M. (2013). Red gall pigmentation: Cytokinin stimulation is not everything. *Arthropod-Plant Interactions*, 7(3), 335–337.
- Ghosh, A. K. (1984). *Fauna of India and adjacent countries. Homoptera, Aphidoidea. Subfamily Pemphiginae*. India: Zoological Survey of India.
- Giron, D., Huguet, E., Stone, G. N., y Body, M. (2016). Insect-induced effects on plants and possible effectors used by galling and leaf-mining insects to manipulate their host-plant. *Journal of Insect Physiology*, 84, 70–89.
- Gould, K. S. (2004). Nature's Swiss army knife: The diverse protective roles of anthocyanins in leaves. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5(5), 314–320.
- Guerrieri, E. y Digilio, M. C. (2008). Aphid-plant interactions: A review. *Journal of Plant Interactions*, 3(4), 223–232.
- Guo, J., Hu, X., y Duan, R. (2005). Interactive effects of cytokinins, light, and sucrose on the phenotypes and the syntheses of anthocyanins and lignins in cytokinin overproducing transgenic *Arabidopsis*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24, 93–101.
- Hallmark, H. T. y Rashotte, A. M. (2020). Cytokinin isopentenyladenine and its glucoside isopentenyladenine-9G delay leaf senescence through activation of cytokinin-associated genes. *Plant Direct*, 4(12), e00292.
- Hammer, T. J., De Clerck-Floate, R., Tooker, J. F., Price, P. W., Miller, D. G., y Connor, E. F. (2021). Are bacterial symbionts associated with gall induction in insects? *Arthropod-Plant Interactions*, 15, 1–12.
- Hänsch, R. y Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12, 259–266.
- Harris, M. O. y Pitzschke, A. (2020). Plants make galls to accommodate foreigners: some are friends, most are foes. *New Phytologist*, 225, 1852–1872.

- Hartley, S. E. (1998). The chemical composition of plant galls: Are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall-former? *Oecologia*, 113, 492–501.
- Hartley, S. E. y Lawton, J. H. (1992). Host-plant manipulation by gall-insects: a test of the nutrition hypothesis. *Journal of Animal Ecology*, 61, 113–119.
- Hermoso de Mendoza, A., Paulino Perona, J. S., Miquel, E., y Verdeguer, A. (2002). Primera cita en España de *Aloephagus myersi* Essig, 1950 (Hemiptera, Aphididae). *Boletín de la Asociación española de Entomología*, 26(3-4), 139.
- Hirschi, K. D. (2004). The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. *Plant Physiology*, 136, 2348–2442.
- Huang, M.-Y., Huang, W.-D., Chou, H.-M., Chen, C.-C., Chen, P.-J., Chang, Y.-T., y Yang, C.-M. (2015). Structural, biochemical, and physiological characterization of photosynthesis in leaf-derived cup-shaped galls on *Litsea acuminata*. *BMC Plant Biology*, 15, 61.
- Huang, M.-Y., Huang, W. D., Chou, H. M., Lin, K. H., Chen, C. C., Chen, P. J., Chang, Y. T., y Yang, C. M. (2014). Leaf-derived cecidomyiid galls are sinks in *Machilus thunbergii* (Lauraceae) leaves. *Physiologia Plantarum*, 152, 475–485.
- Huertas-Dionisio, M. (2016). Estados inmaduros de Lepidoptera (LII). *Alophia comustella* (Herrich-Schäffer, 1855) en Huelva, España (Lepidoptera: Pyralidae, Phycitinae). *SHILAP Revista de lepidopterología*, 44(175), 401–406.
- Inbar, M., Izhaki, I., Koplovich, A., Lupo, I., Silanikove, N., Glasser, T., Gerchman, Y., Perevolotsky, A., y Lev-Yadun, S. (2010). Why do many galls have conspicuous colors? A new hypothesis. *Arthropod-Plant Interactions*, 4(1), 1–6.
- Inbar, M., Wink, M., y Wool, D. (2004). The evolution of host plant manipulation by insects: Molecular and ecological evidence from gall-forming aphids on *Pistacia*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32, 504–511.
- Johnson, R., Vishwakarma, K., Hossen, M. S., Kumar, V., Shackira, A. M., Puthur, J. T., Abdi, G., Sarraf, M., y Hasanuzzaman, M. (2022). Potassium in plants: Growth regulation, signaling, and environmental stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 172, 56–69.
- Kassambara, A. (2020). ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots.
- Kassambara, A. y Mundt, F. (2020). *factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses*.
- Kieber, J. J. y Schaller, G. E. (2014). Cytokinins. *The Arabidopsis Book*, 12, e0168.
- Kmieć, K., Rubinowska, K., y Golan, K. (2018a). *Tetraneura ulmi* (Hemiptera: Eriosomatinae) Induces Oxidative Stress and Alters Antioxidant Enzyme Activities in Elm Leaves. *Environmental Entomology*, 47(4), 840–847.
- Kmieć, K., Złotek, U., Jakubczyk, A., y Karaś, M. (2018b). Biochemical alterations in *Ulmus pumila* L. Leaves induced by galling aphid *Tetraneura ulmi* L. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 17(6), 175–183.
- Kot, I. y Kmieć, K. (2020). Poplar tree response to feeding by the petiole gall aphid *Pemphigus spyrothecae* Pass. *Insects*, 11, 271.
- Kurzfeld-Zexer, L., Lev-Yadun, S., y Inbar, M. (2015). One aphid species induces three gall types on a single plant: Comparative histology of one genotype and multiple extended phenotypes. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 210, 19–30.
- Kutsukake, M., Uematsu, K., y Fukatsu, T. (2019). Plant Manipulation by Gall-Forming Social Aphids for Waste Management. *Frontiers in Plant Science*, 10, 993.
- Laitinen, R. A. E., Ainasoja, M., Broholm, S. K., Teeri, T. H., y Elomaa, P. (2008). Identification of target genes for a MYB-type anthocyanin regulator in *Gerbera hybrida*. *Journal of Experimental Botany*, 59(13), 3691–3703.
- Larson, K. C. (1998). The impact of two gall-forming arthropods on the photosynthetic rates of their hosts. *Oecologia*, 115(1-2), 161–166.
- Larson, K. C. y Whitham, T. G. (1991). Manipulation of food resources by a gall-forming aphid: the physiology of sink-source interactions. *Oecologia*, 88, 15–21.
- Lattanzio, V., Lattanzio, V. M. T., y Cardinali, A. (2006). Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. In F. Imperato (Ed.), *Phytochemistry: Advances in Research* chapter 2, (pp. 23–67). Kerala, India: Research Signpost.
- Lê, S., Josse, J., y Husson, F. (2008). FactoMineR: A Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18.
- Lefevre, H., Bauters, L., y Gheysen, G. (2020). Salicylic Acid Biosynthesis in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 338.
- Lenth, R. V. (2021). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means.
- Leraut, P. (2014). *Papillons de nuit d'Europe. Pyrales 2, 4*. Verrières-le-Buisson (Francia): NAP Editions.

- Lhomme, L. (1935). Crambidae (Pyralidae), Galleridae. *Catalogue des Lépidoptères de France et de Belgique, Microlépidoptères*, 1(1), 1–264.
- Li, X. Y., Jiang, L. Y., y Qiao, G. (2014). Is the subfamily Eriosomatinae (Hemiptera: Aphididae) monophyletic? *Turkish Journal of Zoology*, 38, 285–297.
- Liu, L., Li, X.-Y., Huang, X.-L., y Qiao, G. (2014a). Evolutionary relationships of *Pemphigus* and allied genera (Hemiptera: Aphididae: Eriosomatinae) and their primary endosymbiont, *Buchnera aphidicola*. *Insect Science*, 21, 301–312.
- Liu, P., Yang, Z. X., Chen, X. M., y Footitt, R. G. (2014b). The effect of the gall-forming aphid *Schlechtendalia chinensis* (Hemiptera: Aphididae) on leaf wing ontogenesis in *Rhus chinensis* (Sapindales: Anacardiaceae). *Annals of the Entomological Society of America*, 107(1), 242–250.
- Lu, Q., Chen, H., Wang, C., xiang Yang, Z., Lü, P., shun Chen, M., y ming Chen, X. (2019). Macro- and Microscopic Analyses of Anatomical Structures of Chinese Gallnuts and Their Functional Adaptation. *Scientific Reports*, 9, 5193.
- Mani, M. S. (1964). *Ecology of Plant Galls*, volume 12. Springer Science and Business Media.
- Martinez, J. I. (2009). Population ecology of *Forda riccobonii* (Hemiptera: Pemphigidae) on *Pistacia atlantica*. *Oriental Insects*, 43(1), 241–251.
- Martinez, J. I., Jonas-Levi, A., Gonzalez-Karlsson, A., Moreno-González, V., y Álvarez, R. (2021). Experimental validation of the soil fertility hypothesis in a natural Mediterranean tri-trophic system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, (pp. eea.13041).
- Martini, V. C., Moreira, A. S. F., Kuster, V. C., y Oliveira, D. C. (2019). Galling insects as phenotype manipulators of cell wall composition during the development of galls induced on leaves of *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae). *South African Journal of Botany*, 127, 226–233.
- Mizrachi, I. (2007). GenBank: the nucleotide sequence database. *The NCBI handbook [Internet]*, updated, 22, .
- Moran, N. A. (1992). The evolution of aphid life cycles. *Annual review of entomology*, 37, 321–348.
- Muñoz-Viveros, A. L., Martinez, J. I., Molist, P., González-Sierra, S., Julián, P. G., y Álvarez, R. (2014). Microscopic study of galls induced by three species of *Geopemphigus* (Hemiptera: Aphididae: Eriosomatinae) on *Pistacia mexicana*. *Arthropod-Plant Interactions*, 8(6), 531–538.
- Nabity, P. D., Haus, M. J., Berenbaum, M. R., y DeLucia, E. H. (2013). Leaf-galling phylloxera on grapes reprograms host metabolism and morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(41), 16663–16668.
- Nabity, P. D., Zavala, J. A., y DeLucia, E. H. (2009). Indirect suppression of photosynthesis on individual leaves by arthropod herbivory. *Annals of Botany*, 103, 655–663.
- Natural History Museum (2023). Query on the Natural History Museum Data Portal (data.nhm.ac.uk) (6 records).
- Nguyen, L.-T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 32(1), 268–274.
- Nieto Nafría, J. M. y Mier Durante, M. P. (1998). *Hemiptera, Aphididae I*. Madrid (ES): Museo Nacional de Ciencias Naturales.
- Nováková, E., Hypša, V., Klein, J., Footitt, R. G., von Dohlen, C. D., y Moran, N. A. (2013). Reconstructing the phylogeny of aphids (Hemiptera: Aphididae) using DNA of the obligate symbiont *Buchnera aphidicola*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 68(1), 42–54.
- Oates, C., Denby, K., Myburg, A., Slippers, B., y Naidoo, S. (2016). Insect Gallers and Their Plant Hosts: From Omics Data to Systems Biology. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1891.
- Oates, C. N., Külheim, C., Myburg, A. A., Slippers, B., y Naidoo, S. (2015). The transcriptome and terpene profile of *Eucalyptus grandis* reveals mechanisms of defense against the insect pest, *Leptocybe invasa*. *Plant and Cell Physiology*, 56(7), 1418–1428.
- Oliveira, D. C., Moreira, A. S. F., Isaias, R. M., Martini, V., y Rezende, U. C. (2017). Sink status and photosynthetic rate of the leaflet galls induced by *Bystracoccus mataybae* (Eriococcidae) on *Matayba guianensis* (Sapindaceae). *Frontiers in Plant Science*, 8, 1249.
- Olsson, V. y Butenko, M. A. (2018). Abscission in plants. *Current Biology*, 28(8), R338–R339.
- Ortiz-Rivas, B. y Martínez-Torres, D. (2010). Combination of molecular data support the existence of three main lineages in the phylogeny of aphids (Hemiptera: Aphididae) and the basal position of the subfamily Lachninae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55, 305–317.
- Ortiz-Rivas, B., Martínez-Torres, D., y Pérez Hidalgo, N. (2009). Molecular phylogeny of Iberian Fordini (Aphididae: Eriosomatinae): implications for the taxonomy of genera *Forda* and *Paracletus*. *Systematic Entomology*, 34, 293–306.

- Pan, L. Y., Chen, W. N., Chiu, S. T., Raman, A., Chiang, T. C., y Yang, M. M. (2015). Is a Gall an Extended Phenotype of the Inducing Insect? A Comparative Study of Selected Morphological and Physiological Traits of Leaf and Stem Galls on *Machilus thunbergii* (Lauraceae) Induced by Five Species of *Daphnephila* (Diptera: Cecid. *Zoological Science*, 32(3), 314–321.
- Paradis, E. y Schliep, K. (2019). ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*, 35(3), 526–528.
- Pérez Hidalgo, N. (2016). *La tribu Fordini (Hem.: Aphididae: Eriosomatinae) en la península Ibérica: un enfoque multidisciplinar*. Ph.d. thesis, Universidad de León.
- Pérez-Hidalgo, N., Espadaler, X., y Nieto Nafría, J. M. (2007). Primera cita de *Geoica setulosa* (Passerini, 1860) en la península Ibérica (Hemiptera, Aphididae, Eriosomatinae, Fordini). *Graellsia*, 63(1), 143–146.
- Pérez Hidalgo, N. y Mier Durante, M. P. (2012). First record of *Prociphilus (Meliarhizophagus) fraxinifolii* (Riley) [Hemiptera: Aphididae] in the Iberian Peninsula. *EPPO Bulletin*, 42(1), 142–145.
- Pérez Hidalgo, N. y Nieto Nafría, J. M. (2003). Sufamilia Eriosomatinae Kirkaldy, 1905 (1843). En: Hemiptera, Aphididae II. Nieto Nafría *et al.* In R. MA (Ed.), *Fauna Ibérica vol. 19* (pp. 141–275). Naturales. CSIC. Madrid.
- Pike, N. (2007). Specialised placement of morphs within the gall of the social aphid *Pemphigus spyrothecae*. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 18.
- Pike, N., Whitfield, J. A., y Foster, W. A. (2007). Ecological correlates of sociality in Pemphigus aphids, with a partial phylogeny of the genus. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 1–12.
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7), 1253–1256.
- Price, P. W., Fernandes, G. W., y Waring, G. L. (1987). Adaptive Nature of Insect Galls. *Environmental Entomology*, 16, 15–24.
- Price, P. W., Waring, G. L., y Fernandes, G. W. (1986). Hypotheses on the adaptive nature of galls. *Proceedings of Entomological Society Washington*, 88(2), 361–363.
- R Core Team (2023). R: A language and environment for statistical computing.
- Rakhshani, E., Starý, P., Pérez Hidalgo, N., Čkrkić, J., Moghaddam, M. G., Tomanović, S., Petrović, A., y Tomanović, Ž. (2015). Revision of the world *Monoctonia* Starý, parasitoids of gall aphids: Taxonomy, distribution, host range, and phylogeny (Hymenoptera, Braconidae: Aphidiinae). *Zootaxa*, 3905(4), 474–488.
- Raman, A. (2021). Gall-inducing insects and plants: the induction conundrum. *Current Science*, 120(1), 66–78.
- Rawat, N., Neeraja, C. N., Nair, S., y Bentur, J. S. (2012). Differential gene expression in gall midge susceptible rice genotypes revealed by suppressive subtraction hybridization (SSH) cDNA libraries and microarray analysis. *Rice*, 5, 8.
- Remaudière, G. y Remaudière, M. (1997). *Catalogue des Aphididae du monde*. Paris, France: INRA Editions.
- Richardson, R. A., Body, M., Warmund, M. R., Schultz, J. C., y Appel, H. M. (2017). Morphometric analysis of young petiole galls on the narrow-leaf cottonwood, *Populus angustifolia*, by the sugarbeet root aphid, *Pemphigus betae*. *Protoplasma*, 254, 203–216.
- Rivas-Martínez, S. (2007). Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España - Parte I. *Itinera Geobotanica*, 17, 5–435.
- Rivas-Martínez, S. (2011a). Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España - Parte II. *Itinera Geobotanica*, 18(1), 5–424.
- Rivas-Martínez, S. (2011b). Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España - Parte II. *Itinera Geobotanica*, 18(2), 425–800.
- Roberti, D. (1983). Note su alcune specie di Fordinae (Homoptera, Aphidoidea, Eriosomatidae). *Entomologica (Bari)*, 18, 151–214.
- Rojo, S. y Marcos-García, M. A. (1997). Syrphid predators (Dipt.: Syrphidae) of gall forming aphids (Hom.: Aphididae) in mediterranean areas: implications for biological control of fruit trees pests. *Entomophaga*, 42(1/2), 269–276.
- Samsone, I., Anderson, U., y Ievinsh, G. (2011). Gall midge *Rhabdophaga rosaria*-induced rosette galls on *Salix*: morphology, photochemistry of photosynthesis and defense enzyme activity. *Environmental and Experimental Biology*, 9, 29–36.
- Samsone, I., Anderson, U., y Ievinsh, G. (2012). Variable effect of arthropod-induced galls on photochemistry of photosynthesis, oxidative enzyme activity and ethylene production in tree leaf tissues. *Environmental and Experimental Biology*, 10, 15–26.
- Sano, M. y Akimoto, S. I. (2011). Morphological phylogeny of gall-forming aphids of the tribe Eriosomatini (Aphididae: Eriosomatinae). *Systematic Entomology*, 36, 607–627.

- Schauberger, P. y Walker, A. (2021). *openxlsx: Read, Write and Edit xlsx Files*.
- Schliep, Klaus, Potts, J., A., Morrison, A., D., Grimm, y W., G. (2017). Intertwining phylogenetic trees and networks. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(10), 1212–1220.
- Shorthouse, J. D., Wool, D., y Raman, A. (2005). Gall-inducing insects - Nature's most sophisticated herbivores. *Basic and Applied Ecology*, 6(5), 407–411.
- Singleton, V. L. y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Starý, P. (1968). Diapause in *Monoctonia pistaciaecola* Starý, a parasite of gall aphids (Hymenoptera: Aphidiidae; Homoptera: Aphidoidea). *Bolletino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri" di Portici*, XXVI, 241–251.
- Stern, D. L. (1995). Phylogenetic evidence that aphids, rather than plants, determine gall morphology.
- Stone, G. N. y Schönrogge, K. (2003). The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(10), 512–522.
- Sugiura, S. y Yamazaki, K. (2009). Gall-attacking behavior in phytophagous insects, with emphasis on Coleoptera and Lepidoptera. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 2, 41–61.
- Suzuki, H., Yokokura, J., Ito, T., Arai, R., Yokoyama, C., Toshima, H., Nagata, S., Asami, T., y Suzuki, Y. (2014). Biosynthetic pathway of the phytohormone auxin in insects and screening of its inhibitors. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 53, 66–72.
- Taiz, L., Zieger, E., Møller, I. M., y Murphy, A. (2015). *Plant Physiology and Development*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 6th edition.
- Takada, H., Kamijo, K., y Torikura, H. (2010). An aphidiine parasitoid *Monoctonia vesicarii* (Hymenoptera: Braconidae) and three chalcidoid hyperparasitoids of *Pemphigus matsumurai* (Homoptera: Aphididae) forming leaf galls on *Populus maximowiczii* in Japan. *Entomological Science*, 13(2), 205–215.
- Takeda, S., Yoza, M., Amano, T., Ohshima, I., Hirano, T., Sato, M. H., Sakamoto, T., y Kimura, S. (2019). Comparative transcriptome analysis of galls from four different host plants suggests the molecular mechanism of gall development. *PLoS ONE*, 14(10), e0223686.
- Takei, M., Yoshida, S., Kawai, T., Hasegawa, M., y Suzuki, Y. (2015). Adaptive significance of gall formation for a gall-inducing aphids on Japanese elm trees. *Journal of Insect Physiology*, 72, 43–51.
- Thaler, J. S., Humphrey, P. T., y Whiteman, N. K. (2012). Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. *Trends in Plant Science*, 17(5), 260–270.
- Tooker, J. F. y Helms, A. M. (2014). Phytohormone Dynamics Associated with Gall Insects, and their Potential Role in the Evolution of the Gall-Inducing Habit. *Journal of Chemical Ecology*, 40(7), 742–753.
- Tsoularis, A. y Wallace, J. (2002). Analysis of logistic growth models. *Mathematical Biosciences*, 179, 21–55.
- Turchin, P. (2001). Does population ecology have general laws? *Oikos*, 94, 17–26.
- Urban, J. (2002). Occurrence, development and natural enemies of *Pemphigus spyrothecae* (Homoptera, Pemphigidae). *Journal of Forest Science*, 48(6), 248–270.
- Venkatesan, T., Mohanraj, P., Jalali, S. K., Srinivasamurthy, K., Rabindra, R. J., y Lakshmi, B. (2008). A semi-synthetic diet for rearing *Dipha aphidivora* (Lepidoptera: Pyralidae), a promising predator of woolly aphid in sugarcane. *Biocontrol Science and Technology*, 18(3), 319–323.
- Von Dohlen, C. D., Kurosu, U., y Aoki, S. (2002). Phylogenetics and evolution of the eastern Asian-eastern North American disjunct aphid tribe, Hormaphidini (Hemiptera: Aphididae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23(2), 257–267.
- Walling, L. L. (2008). Avoiding effective defenses: Strategies employed by phloem-feeding insects. *Plant Physiology*, 146(3), 859–866.
- Wei, Z., Gou, X., y Li, J. (2016). Brassinosteroids. In *Encyclopedia of Life Sciences* (pp. 1–11). John Wiley and Sons, Ltd.
- Wertheim, G. (1954). Studies on the biology and ecology of the gall-producing aphids of the tribe Fordini (Homoptera: Aphidoidea) in Israel. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 105(5), 79–96.
- White, T. C. (2010). Why do many galls have conspicuous colours? An alternative hypothesis revisited. *Arthropod-Plant Interactions*, 4, 149–150.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. New York: Springer-Verlag.
- Will, T., Tjallingii, W. F., Thönnessen, A., y Van Bel, A. J. (2007). Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(25), 10536–10541.

- Will, T. y Van Bel, A. J. (2006). Physical and chemical interactions between aphids and plants. *Journal of Experimental Botany*, 57(4), 729–737.
- Williams, M. A. J. (1994). Plant galls: a perspective. In M. A. J. Williams (Ed.), *Plant galls: organisms, interactions, populations* (pp. 1–7). New York: Oxford University Press.
- Wilson, Z. A., Song, J., Taylor, B., y Yang, C. (2011). The final split: The regulation of anther dehiscence. *Journal of Experimental Botany*, 62(5), 1633–1649.
- Wool, D. (2005). Gall-inducing Aphids: Biology, Ecology and Evolution. *Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods*, 1, 73–132.
- Wool, D. (2012). Autecology of *Baizongia pistaciae* (L.): a monographical study of a galling aphid. *Israel Journal of Entomology*, 41-42, 67–93.
- Wool, D., Aloni, R., Ben-Zvi, O., y Wollberg, M. (1999). A galling aphid furnishes its home with a built-in pipeline to the host food supply. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91, 183–186.
- Wool, D. y Bar-El, N. (1995). Population ecology of the galling aphid *Forda formicaria* von Heyden in Israel: Abundance, demography, and gall structure. *Israel Journal of Zoology*, 41(2), 175–192.
- Wool, D. y Ben-Zvi, O. (1998). Population ecology and clone dynamics of the galling aphid *Geoica wertheimae* (Sternorrhyncha: Pemphigidae: Fordinae). *European Journal of Entomology*, 95, 509–518.
- Wool, D. y Bogen, R. (1999). Ecology of the gall-forming aphid, *Slavum wertheimae*, on *Pistacia atlantica*: Population dynamics and differential herbivory. *Israel Journal of Zoology*, 45(2), 247–260.
- Wool, D. y Burstein, M. (1991). Parasitoids of the gall-forming aphid *Smynthurodes betae* [Aphidoidea: Fordinae] in Israel. *Entomophaga*, 36(4), 531–538.
- Wool, D. y Manheim, O. (1986). Population ecology of the gall-forming aphid, *Aploneura lentisci* (Pass.) in Israel. *Res. Popul. Ecol.*, 28, 151–162.
- xiang Yang, Z., ming Chen, X., Havill, N. P., Feng, Y., y Chen, H. (2010). Phylogeny of *Rhus* gall aphids (Hemiptera: Pemphigidae) based on combined molecular analysis of nuclear EF1 α and mitochondrial COII genes. *Entomological Science*, 13(3), 351–357.
- Yakota, T., Arima, M., y Takahashi, N. (1982). Castasterone, a new phytosterol with plant-hormone potency, from chestnut insect gall. *Tetrahedron Letters*, 23(12), 1275–1278.
- Yamaguchi, H., Tanaka, H., Hasegawa, M., Tokuda, M., Asami, T., y Suzuki, Y. (2012). Phytohormones and willow gall induction by a gall-inducing sawfly. *New Phytologist*, 196, 586–595.
- Ye, J., Jiang, Y., Veromann-Jürgenson, L. L., y Niinemets, Ü. (2019). Petiole gall aphid (*Pemphigus spyrothecae*) infestation of *Populus × petrovskiana* leaves alters foliage photosynthetic characteristics and leads to enhanced emissions of both constitutive and stress-induced volatiles. *Trees - Structure and Function*, 33(1), 37–51.
- Yoshiyasu, Y. (1986). Notes on two lepidopterous species attacking the galls of *Schlechtendalia chinensis* (BELL)(Aphididae) on *Rhus javanica*. *Tyô to Ga*, 37, 97–100.
- Yu, G., Smith, D., Zhu, H., Guan, Y., y Lam, T. T.-Y. (2017). ggtree: an R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(1), 28–36.
- Zhang, H. y Qiao, G. (2007a). Systematic status of the genus *Formosaphis* Takahashi and the evolution of galls based on the molecular phylogeny of Pemphigini (Hemiptera: Aphididae: Eriosomatinae). *Systematic Entomology*, 32(4), 690–699.
- Zhang, H. y Qiao, G. (2007b). Systematic status of the genus *Formosaphis* Takahashi and the evolution of galls based on the molecular phylogeny of Pemphigini (Hemiptera: Aphididae: Eriosomatinae). *Systematic Entomology*, 32, 690–699.
- Zhang, H. C. y Qiao, G. (2007c). Molecular phylogeny of Fordini (Hemiptera: Aphididae: Pemphiginae) inferred from nuclear gene EF-1 α and mitochondrial gene COI. *Bulletin of Entomological Research*, 97(4), 379–386.
- Zhang, H. C. y Qiao, G. (2008). Molecular phylogeny of Pemphiginae (Hemiptera: Aphididae) inferred from nuclear gene EF-1 α sequences. *Bulletin of Entomological Research*, 98(5), 499–507.
- Zuur, A. F. y Ieno, E. N. (2016). A protocol for conducting and presenting results of regression-type analyses. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(6), 636–645.

Apéndices

APÉNDICE C

SESSIONINFO

En este apéndice se presenta la información de la sesión de R, proporcionando detalles sobre el software utilizado en los análisis estadísticos llevados a cabo en los capítulos de esta tesis doctoral. El listado de paquetes y la configuración del entorno proporcionan una visión general de las herramientas empleadas en la investigación, facilitando así su reproducibilidad.

INFORMACIÓN DE SESIÓN DEL CAPÍTULO I

```
## R version 4.3.1 (2023-06-16)
## Platform: x86_64-pc-linux-gnu (64-bit)
## Running under: Ubuntu 20.04.6 LTS
##
## Matrix products: default
## BLAS: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/blas/libblas.so.3.9.0
## LAPACK: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/lapack/liblapack.so.3.9.0
##
## locale:
## [1] LC_CTYPE=es_ES.UTF-8      LC_NUMERIC=C
## [3] LC_TIME=es_ES.UTF-8      LC_COLLATE=es_ES.UTF-8
## [5] LC_MONETARY=es_ES.UTF-8  LC_MESSAGES=es_ES.UTF-8
## [7] LC_PAPER=es_ES.UTF-8     LC_NAME=C
## [9] LC_ADDRESS=C             LC_TELEPHONE=C
## [11] LC_MEASUREMENT=es_ES.UTF-8 LC_IDENTIFICATION=C
##
## time zone: Europe/Madrid
## tzcode source: system (glibc)
##
## attached base packages:
## [1] stats      graphics  grDevices  utils      datasets  methods   base
##
## other attached packages:
## [1] emmeans_1.7.5      BioDatev_1.0.0.9000 RColorBrewer_1.1-3
## [4] data.table_1.14.2  kableExtra_1.3.4    ggpubr_0.4.0
## [7] ggplot2_3.4.2      openxlsx_4.2.5.1    tidyr_1.2.0
## [10] dplyr_1.0.9
##
## loaded via a namespace (and not attached):
## [1] tidyselect_1.2.0  viridisLite_0.4.0  fastmap_1.1.0      TH.data_1.1-1
## [5] digest_0.6.29    estimability_1.3    lifecycle_1.0.3    survival_3.5-5
## [9] magrittr_2.0.3   compiler_4.3.1     rlang_1.1.1        tools_4.3.1
## [13] utf8_1.2.2       yaml_2.3.5         knitr_1.39         ggsignif_0.6.3
## [17] htmlwidgets_1.5.4 xml2_1.3.3         abind_1.4-5        multcomp_1.4-19
## [21] withr_2.5.0      purrr_0.3.4        grid_4.3.1         fansi_1.0.3
## [25] xtable_1.8-4     colorspace_2.0-3   scales_1.2.0       MASS_7.3-60
## [29] cli_3.4.1        mvtnorm_1.1-3      rmarkdown_2.14     generics_0.1.3
## [33] rstudioapi_0.13  httr_1.4.3         minqa_1.2.4        DBI_1.1.3
## [37] stringr_1.4.0    splines_4.3.1     parallel_4.3.1     rvest_1.0.2
## [41] assertthat_0.2.1 vctrs_0.5.2        boot_1.3-28        webshot_0.5.3
## [45] Matrix_1.6-0     sandwich_3.0-1     carData_3.0-5      bookdown_0.27
## [49] car_3.1-0        pbkrtest_0.5.1     rstatix_0.7.0      ggrepel_0.9.1
## [53] systemfonts_1.0.4 glue_1.6.2         nloptr_2.0.3       codetools_0.2-19
## [57] cowplot_1.1.1    DT_0.23           stringi_1.7.8      gtable_0.3.0
## [61] lme4_1.1-30      munsell_0.5.0     tibble_3.2.1       pillar_1.9.0
## [65] htmltools_0.5.2  R6_2.5.1          evaluate_0.15      lattice_0.21-8
## [69] backports_1.4.1  broom_1.0.1       Rcpp_1.0.9         zip_2.2.0
## [73] svglite_2.1.0    coda_0.19-4       nlme_3.1-162      xfun_0.31
## [77] zoo_1.8-10       pkgconfig_2.0.3
```

INFORMACIÓN DE SESIÓN DEL CAPÍTULO II

```
## R version 4.3.1 (2023-06-16)
## Platform: x86_64-pc-linux-gnu (64-bit)
## Running under: Ubuntu 20.04.6 LTS
##
## Matrix products: default
## BLAS: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/blas/libblas.so.3.9.0
## LAPACK: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/lapack/liblapack.so.3.9.0
##
## locale:
## [1] LC_CTYPE=es_ES.UTF-8      LC_NUMERIC=C
## [3] LC_TIME=es_ES.UTF-8      LC_COLLATE=es_ES.UTF-8
## [5] LC_MONETARY=es_ES.UTF-8  LC_MESSAGES=es_ES.UTF-8
## [7] LC_PAPER=es_ES.UTF-8     LC_NAME=C
## [9] LC_ADDRESS=C             LC_TELEPHONE=C
## [11] LC_MEASUREMENT=es_ES.UTF-8 LC_IDENTIFICATION=C
##
## time zone: Europe/Madrid
## tzcode source: system (glibc)
##
## attached base packages:
## [1] stats      graphics  grDevices  utils      datasets  methods   base
##
## other attached packages:
## [1] BioDatev_1.0.0.9000 RColorBrewer_1.1-3 data.table_1.14.2
## [4] kableExtra_1.3.4    ggpubr_0.4.0      ggplot2_3.4.2
## [7] openxlsx_4.2.5.1    tidyr_1.2.0       dplyr_1.0.9
##
## loaded via a namespace (and not attached):
## [1] utf8_1.2.2          generics_0.1.3     xml2_1.3.3         rstatix_0.7.0
## [5] stringi_1.7.8       digest_0.6.29      magrittr_2.0.3     evaluate_0.15
## [9] grid_4.3.1          bookdown_0.27      fastmap_1.1.0      zip_2.2.0
## [13] backports_1.4.1     DBI_1.1.3          httr_1.4.3         rvest_1.0.2
## [17] purrr_0.3.4         fansi_1.0.3        viridisLite_0.4.0 scales_1.2.0
## [21] abind_1.4-5         cli_3.4.1          rlang_1.1.1        ellipsis_0.3.2
## [25] munsell_0.5.0       withr_2.5.0        yaml_2.3.5         tools_4.3.1
## [29] ggsignif_0.6.3     colorspace_2.0-3   DT_0.23            webshot_0.5.3
## [33] broom_1.0.1         assertthat_0.2.1   vctrs_0.5.2        R6_2.5.1
## [37] lifecycle_1.0.3    stringr_1.4.0      htmlwidgets_1.5.4  car_3.1-0
## [41] pkgconfig_2.0.3    pillar_1.9.0       gtable_0.3.0       glue_1.6.2
## [45] Rcpp_1.0.9         systemfonts_1.0.4 xfun_0.31          tibble_3.2.1
## [49] tidyselect_1.2.0   rstudioapi_0.13    knitr_1.39         htmltools_0.5.2
## [53] svglite_2.1.0      rmarkdown_2.14     carData_3.0-5      compiler_4.3.1
```

INFORMACIÓN DE SESIÓN DEL CAPÍTULO III

```
## R version 4.3.1 (2023-06-16)
## Platform: x86_64-pc-linux-gnu (64-bit)
## Running under: Ubuntu 20.04.6 LTS
##
## Matrix products: default
## BLAS: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/blas/libblas.so.3.9.0
## LAPACK: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/lapack/liblapack.so.3.9.0
##
## locale:
## [1] LC_CTYPE=es_ES.UTF-8      LC_NUMERIC=C
## [3] LC_TIME=es_ES.UTF-8       LC_COLLATE=es_ES.UTF-8
## [5] LC_MONETARY=es_ES.UTF-8   LC_MESSAGES=es_ES.UTF-8
## [7] LC_PAPER=es_ES.UTF-8     LC_NAME=C
## [9] LC_ADDRESS=C              LC_TELEPHONE=C
## [11] LC_MEASUREMENT=es_ES.UTF-8 LC_IDENTIFICATION=C
##
## time zone: Europe/Madrid
## tzcode source: system (glibc)
##
## attached base packages:
## [1] stats      graphics  grDevices  utils      datasets  methods   base
##
## other attached packages:
## [1] emmeans_1.7.5      BioDatev_1.0.0.9000 RColorBrewer_1.1-3
## [4] data.table_1.14.2  kableExtra_1.3.4    ggpubr_0.4.0
## [7] ggplot2_3.4.2      openxlsx_4.2.5.1    tidyr_1.2.0
## [10] dplyr_1.0.9
##
## loaded via a namespace (and not attached):
## [1] tidyselect_1.2.0  viridisLite_0.4.0  farver_2.1.0      fastmap_1.1.0
## [5] TH.data_1.1-1    digest_0.6.29      estimability_1.3  factoextra_1.0.7
## [9] lifecycle_1.0.3  survival_3.5-5    magrittr_2.0.3    compiler_4.3.1
## [13] rlang_1.1.1      tools_4.3.1       utf8_1.2.2        yaml_2.3.5
## [17] knitr_1.39       ggsignif_0.6.3    labeling_0.4.2    htmlwidgets_1.5.4
## [21] xml2_1.3.3       multcomp_1.4-19   abind_1.4-5       withr_2.5.0
## [25] purrr_0.3.4      grid_4.3.1        fansi_1.0.3       xtable_1.8-4
## [29] colorspace_2.0-3 scales_1.2.0      MASS_7.3-60       cli_3.4.1
## [33] mvtnorm_1.1-3    rmarkdown_2.14    generics_0.1.3    rstudioapi_0.13
## [37] httr_1.4.3       minqa_1.2.4       DBI_1.1.3         stringr_1.4.0
## [41] splines_4.3.1    parallel_4.3.1    rvest_1.0.2       assertthat_0.2.1
## [45] vctrs_0.5.2      sandwich_3.0-1    boot_1.3-28       webshot_0.5.3
## [49] Matrix_1.6-0     carData_3.0-5     bookdown_0.27     car_3.1-0
## [53] pbkrtest_0.5.1   rstatix_0.7.0     ggrepel_0.9.1     systemfonts_1.0.4
## [57] glue_1.6.2       nloptr_2.0.3      codetools_0.2-19  ggtext_0.1.1
## [61] cowplot_1.1.1    DT_0.23           stringi_1.7.8     gtable_0.3.0
## [65] lme4_1.1-30      munsell_0.5.0     tibble_3.2.1      pillar_1.9.0
## [69] htmltools_0.5.2  R6_2.5.1          evaluate_0.15     lattice_0.21-8
## [73] highr_0.9        backports_1.4.1   gridtext_0.1.4    broom_1.0.1
## [77] Rcpp_1.0.9       zip_2.2.0         svglite_2.1.0     coda_0.19-4
## [81] gridExtra_2.3    nlme_3.1-162     xfun_0.31         zoo_1.8-10
## [85] pkgconfig_2.0.3
```

INFORMACIÓN DE SESIÓN DEL CAPÍTULO IV

```
## R version 4.3.1 (2023-06-16)
## Platform: x86_64-pc-linux-gnu (64-bit)
## Running under: Ubuntu 20.04.6 LTS
##
## Matrix products: default
## BLAS: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/blas/libblas.so.3.9.0
## LAPACK: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/lapack/liblapack.so.3.9.0
##
## locale:
## [1] LC_CTYPE=es_ES.UTF-8      LC_NUMERIC=C
## [3] LC_TIME=es_ES.UTF-8       LC_COLLATE=es_ES.UTF-8
## [5] LC_MONETARY=es_ES.UTF-8   LC_MESSAGES=es_ES.UTF-8
## [7] LC_PAPER=es_ES.UTF-8     LC_NAME=C
## [9] LC_ADDRESS=C              LC_TELEPHONE=C
## [11] LC_MEASUREMENT=es_ES.UTF-8 LC_IDENTIFICATION=C
##
## time zone: Europe/Madrid
## tzcode source: system (glibc)
##
## attached base packages:
## [1] stats      graphics  grDevices  utils      datasets  methods   base
##
## other attached packages:
## [1] BioDatev_1.0.0.9000 RColorBrewer_1.1-3 data.table_1.14.2
## [4] kableExtra_1.3.4    ggpubr_0.4.0      ggplot2_3.4.2
## [7] openxlsx_4.2.5.1    tidyr_1.2.0       dplyr_1.0.9
##
## loaded via a namespace (and not attached):
## [1] gtable_0.3.0      xfun_0.31         htmlwidgets_1.5.4 ggrepel_0.9.1
## [5] rstatix_0.7.0     lattice_0.21-8    vctrs_0.5.2       tools_4.3.1
## [9] generics_0.1.3    tibble_3.2.1      fansi_1.0.3       pkgconfig_2.0.3
## [13] Matrix_1.6-0      assertthat_0.2.1 webshot_0.5.3     factoextra_1.0.7
## [17] lifecycle_1.0.3   compiler_4.3.1    stringr_1.4.0     munsell_0.5.0
## [21] carData_3.0-5     htmltools_0.5.2  yaml_2.3.5        nloptr_2.0.3
## [25] pillar_1.9.0      car_3.1-0         MASS_7.3-60       DT_0.23
## [29] boot_1.3-28       abind_1.4-5       nlme_3.1-162      tidyselect_1.2.0
## [33] rvest_1.0.2       zip_2.2.0         digest_0.6.29     stringi_1.7.8
## [37] purrr_0.3.4       bookdown_0.27     splines_4.3.1     cowplot_1.1.1
## [41] fastmap_1.1.0     grid_4.3.1        colorspace_2.0-3  cli_3.4.1
## [45] magrittr_2.0.3    utf8_1.2.2        broom_1.0.1       withr_2.5.0
## [49] scales_1.2.0      backports_1.4.1   rmarkdown_2.14    httr_1.4.3
## [53] lme4_1.1-30       ggsignif_0.6.3    evaluate_0.15     knitr_1.39
## [57] viridisLite_0.4.0 rlang_1.1.1       Rcpp_1.0.9        glue_1.6.2
## [61] DBI_1.1.3         xml2_1.3.3        minqa_1.2.4       svglite_2.1.0
## [65] rstudioapi_0.13  R6_2.5.1          systemfonts_1.0.4
```