

# El virus del rayado fino del maíz: estudios adicionales sobre la relación del virus y su insecto vector<sup>\*1/</sup> \_\_\_\_\_

RODOLFO PANIAGUA, RODRIGO GAMEZ\*\*

## ABSTRACT

*The leafhopper Dalbulus maidis was able to acquire maize rayado fino virus (MRFV) after a 6 h feeding period on diseased plants, and transmit it to healthy plants after inoculation feedings of 8 h. Slightly higher proportions of viruliferous insects were obtained with prolonged acquisition or inoculation feeding periods. Colonies of 23 to 40 per cent transmitters in the F<sub>2</sub> generation were developed through controlled matings and selection of viruliferous progeny, while 17 to 28 per cent vectors were obtained from non viruliferous progeny. The more active colonies returned to a level of 11 to 28 per cent vectors following a few generations of random mating. In the more active colony 75 per cent of the females were viruliferous as compared to 43 per cent of the males. Puncturing the anterior abdomen of nymphs immediately before or after acquisition, increased slightly the ability of D. maidis to transmit MRFV. A number of species of Graminae and Cyperaceae appeared not susceptible to the virus and were poor hosts for D. maidis. MRFV was not transmitted by the planthopper Peregrinus maidis. — The authors.*

## Introducción

**L**A transmisión del virus del rayado fino del maíz (VRFM) por *Dalbulus maidis* DeLong & Wolcott, se caracteriza por un período de incubación en el saltahojas, que oscila de 8 a 37 días (7, 8, 9). La transmisión del virus es intermitente, y la infectividad de los insectos virulíferos decrece con el tiempo, aunque el virus puede recuperarse de los insectos que han perdido la capacidad de transmitirlo (8). El período de incubación del VRFM en machos es menor que en las hembras, pero los machos mueren primero. Por otra parte las hembras parecen ser vectores más eficientes que los machos (8, 9). No todos los insectos en

una población de *D. maidis* son transmisores del virus; únicamente un 11 a 28 por ciento aproximadamente pueden adquirirlo y transmitirlo (8, 9). Cuando la adquisición e incubación del virus en el vector ocurren a temperaturas de 20 a 25°C, un mayor número de insectos es capaz de transmitir el virus por períodos más prolongados que a 30°C. Por otra parte, no parece ocurrir transmisión transovarial del VRFM a la progenie de hembras virulíferas (9). El modo en que *D. maidis* transmite el VRFM y particularmente el largo período de incubación del virus en el vector, son típicos de virus que se multiplican en el insecto transmisor (3, 4, 8).

En el presente trabajo se investigan algunos aspectos de las relaciones virus-vector no incluidos en estudios anteriores: períodos de alimentación requeridos para la adquisición y transmisión del virus; desarrollo de razas del vector con mayor eficiencia de transmisión; efecto de punciones abdominales del vector en la adquisición y transmisión del virus; prueba de algunas especies de plantas silvestres como posibles hospedantes del virus y del vector; y prueba de otra especie de homóptero como transmisor del VRFM.

\* Recibido para su publicación el 8 de setiembre de 1975.

1/ Parte de una tesis presentada por el autor principal a la Universidad de Costa Rica para optar al título de Ingeniero Agrónomo

\*\* Laboratorio de Virus, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica.

### *Materiales y métodos*

#### *Transmisión del virus*

La raza del virus empleada en este trabajo fue la misma utilizada en estudios anteriores (7, 8, 9). Igualmente el desarrollo de las colonias del vector y las pruebas de transmisión se realizaron en la forma previamente descrita (7, 8, 9).

Brevemente, los insectos no expuestos a plantas enfermas se denominaron "sanos", y los que se alimentaron en plantas enfermas se denominaron "expuestos". Como no todos los insectos expuestos transmitieron el virus, los que sí lo hicieron se llamaron "transmisores o virulíferos". Las pruebas de transmisión se efectuaron en una cámara de crecimiento, a una temperatura de  $22,5 \pm 1^\circ\text{C}$ , que es adecuada para la adquisición y transmisión del virus (8, 9). El día en que se inició cada experimento se denominó día "1", día "2", el siguiente, y así consecutivamente. A menos que se indique de otra manera, para la adquisición del virus los insectos sanos, ninfas de 3<sup>o</sup> ó 4<sup>o</sup> instar, fueron expuestos a plantas enfermas por períodos de 5 días, (período de adquisición) siendo luego transferidos a plantas sanas, sobre las cuales permanecían hasta el día 15 ó 23 de iniciado el experimento (9) (período de incubación). Cumplido el período de incubación los insectos se probaron sobre plantas sanas, individualmente o en grupos, por 1 ó 2 períodos consecutivos de 7 días de duración para determinar si eran o no transmisores (período de prueba). Un grupo de insectos no expuestos, provenientes directamente de las colonias sanas, se probó regularmente para determinar si dichas colonias se hallaban libres del VRFM, con resultados consistentemente negativos.

Al igual que en estudios anteriores (7, 8, 9) una línea homocigota de maíz (T-3) sirvió como planta de prueba y fuente de inóculo; las plantas se inocularon cuando tenían 1-2 hojas, de 8 a 10 días después de la siembra. Las plantas inoculadas se mantuvieron en invernaderos con temperaturas fluctuantes de  $22 \pm 4^\circ\text{C}$ .

#### *Desarrollo de razas altamente transmisoras*

Para el desarrollo de razas altamente transmisoras se utilizó un grupo de ninfas expuestas que habían completado los períodos de adquisición e incubación del virus. Durante el período de incubación y conforme las ninfas iban transformándose en adultos, se separaban en grupos diferentes de acuerdo al sexo, a fin de evitar el apareamiento. A partir del día 16 estos insectos se probaban individualmente por 2 períodos consecutivos de 7 días de duración, a fin de determinar si eran o no virulíferos. Concluido el período de prueba se formaban parejas que se mantenían separadamente en una planta de maíz. Después de la cópula y la oviposición, que usualmente ocurría durante un lapso de 8-15 días, los insectos adultos se eliminaban. A partir de este momento y al acercarse la época de eclosión de los huevos, las plantas se observaban frecuentemente, a fin de separar inmediatamente las ninfas (F<sub>1</sub>) que emergían, para evitar su posible contaminación con el virus, al alimen-

tarse dichas ninfas de la planta que podría haber sido infectada por los insectos padres. Las ninfas recién emergidas se transfirieron a plantas sanas, sobre las cuales se mantuvieron hasta su utilización en pruebas individuales para determinar su capacidad de transmitir el VRFM en la forma antes descrita. De estos insectos se seleccionaron parejas de transmisores y no transmisores que se aparearon para la obtención de una nueva generación (F<sub>2</sub>), en la cual la capacidad de transmitir el VRFM fue igualmente determinada.

#### *Punción abdominal de los saltahojas*

Las punciones abdominales se hicieron en la forma descrita por Sinha (16, 17). Las ninfas de 3<sup>o</sup> ó 4<sup>o</sup> instar del vector se anestesiaron exponiéndolas a una corriente de CO<sub>2</sub> durante 30 segundos. Luego se utilizó un alfiler entomológico, previamente desinfectado en alcohol, para punzar la parte anterior del abdomen de las ninfas. Un primer grupo de ninfas recibió la punción y fue inmediatamente expuesto a plantas enfermas por un día; un segundo grupo sufrió la punción después de completado el período de adquisición de un día. Un tercer grupo, que no recibió punción y tuvo un período similar de adquisición, fue mantenido como testigo. Posteriormente los insectos se probaron individualmente, a fin de determinar si eran o no virulíferos.

#### *Pruebas de plantas silvestres como hospedantes del VRFM y su vector*

Se colectaron 8 especies de plantas gramíneas y ciperáceas, que crecían como hierbas silvestres en los alrededores de campos cultivados de maíz, en la Estación Experimental de la Universidad de Costa Rica, en Alajuela; seis de ellas eran gramíneas: *Setaria geniculata* (Lam) Beauv; *Paspalum conjugatum* Bergius; *Digitaria sanguinalis* (L) Scop; *Cenchrus* sp. y *Axonopus scoparius* (Flugge) Hitchc. Dos especies eran ciperáceas: *Cyperus tenuifolius* (Steud) Dandy, y *Cyperus* sp. En las pruebas se utilizaron cuatro plantas de cada una de las especies. La cepa de cada planta colectada se dividió en varias partes iguales, que fueron sembradas y mantenidas en invernadero bajo condiciones antes descritas. Cuando las nuevas yemas axilares iniciaron su crecimiento, grupos de 5 saltahojas expuestos se confinaron sobre las plantas, por períodos de 24 a 36 horas de acuerdo a técnicas antes señaladas. Las plantas se mantuvieron en invernadero, para observar la posible aparición de síntomas del VRFM. Un mes después de la inoculación se intentó recuperar el virus de las plantas probadas, utilizando insectos sanos que se expusieron a estas plantas por períodos de 1 día. Después de transcurrido un lapso de tiempo equivalente al período de incubación promedio del VRFM en su vector, los insectos se probaron en plantas sanas para determinar si habían adquirido el virus de las plantas silvestres.

#### *Pruebas de transmisión con *Peregrinus maidis* (Asch)*

Un saltahoja identificado como *P. maidis* se colectó en plantas de maíz en la Estación Experimental en Alajuela. Con esta especie se estableció una colonia en

invernadero, y fue utilizado en pruebas de transmisión del VRFM, en forma similar a la descrita para *D. maidis*.

### Resultados

#### Transmisión del VRFM después de periodos de adquisición y prueba de diferente duración

El efecto en la transmisión del VRFM de periodos de adquisición de diferente duración fue determinado con grupos de 20 a 28 insectos que tuvieron separadamente periodos de adquisición de 6, 12, 24, 48 ó 96 h de duración. Cumplido el período de incubación los insectos de cada grupo se probaron individualmente. El porcentaje de insectos transmisores correspondiente a cada uno de los periodos de adquisición fue de 10,7, 12,4, 12,4, 10,0 y 16,0 respectivamente.

Para la determinación del período mínimo de alimentación o prueba, requerido para la transmisión del VRFM, un número de insectos expuestos que había cumplido el período de incubación fue dividido en grupos de 5 individuos. Se utilizaron 7 grupos de insectos para cada uno de los periodos de prueba, que fueron de 2, 4, 8 y 12 h de duración respectivamente. Ninguno de los grupos probados en periodos de transmisión de 2 y 4 h transmitió el virus, mientras que con periodos de transmisión de 8 y 12 h de duración, 2 de los 7 grupos en cada uno de estos periodos transmitió el virus. El período mínimo de transmisión del VRFM por *D. maidis* fue así de 8 h de duración.

#### Razas altamente transmisoras

En un primer experimento, de un número de 15 machos y 15 hembras expuestas, únicamente 2 hembras resultaron transmisoras. Una de estas hembras fue apareada con un macho no transmisor, denominándose éste el "Cruce A-1". Otra hembra no transmisora del mismo grupo fue apareada con un macho no transmisor en el "Cruce B-1". Grupos de ninfas provenientes de cada uno de los 2 cruces ( $F_1$ ) tuvieron separadamente, periodos de adquisición del virus de 5 días de duración y se mantuvieron en incubación hasta el día 15. De esta manera, 15 hembras y 15 machos fueron probados individualmente. Los resultados obtenidos aparecen en el Cuadro 1. Del número total de insectos probados en cada cruce, el 23 por ciento transmitió el virus en el cruce A-1, y 17 por ciento en el cruce B-1. Un 40 por ciento de las hembras del cruce A-1 transmitió el virus, mientras que solamente 7 por ciento de los machos lo hicieron. En el cruce B-1, 13 por ciento de las hembras y 20 por ciento de los machos resultaron transmisores.

En un segundo experimento, se seleccionaron de la  $F_1$  del cruce A-1, una hembra y un macho transmisores, que se aparearon. Este segundo cruce se denominó "Cruce A-2". De la  $F_1$  del cruce B-1 se seleccionó y apareó una hembra y un macho no transmisores, denominándose este cruce como "Cruce B-2". La progenie de estos dos cruces ( $F_2$ ) se probó en la forma descrita para la  $F_1$ . Los resultados obtenidos aparecen en el Cuadro 2. El 40 por ciento de los insectos del cruce A-2 trans-

Cuadro 1.—Transmisión del virus del rayado fino del maíz por la progenie ( $F_1$ ) de insectos transmisores y no transmisores del vector *Dalbulus maidis*.

Cruce*	Sexo**	Insectos transmisores Insectos probados	Porcentaje de transmisores por sexo	Porcentaje de transmisores por cruce
A-1	♀	$\frac{6}{15}$	40	23
	♂	$\frac{1}{15}$	7	
B-1	♀	$\frac{2}{15}$	13	17
	♂	$\frac{3}{15}$	20	

\* La progenie probada fue el producto de los cruces: A-1 hembra transmisora por macho no transmisor; B-1 hembra no transmisora por macho no transmisor.

\*\* Durante el período de incubación y conforme los insectos se transformaban en adultos eran separados por sexos y probados individualmente.

mitió el virus. De acuerdo al sexo el porcentaje de transmisores fue de 75 por ciento para las hembras y 4 por ciento para los machos. En el cruce B-2 el 28 por ciento de los insectos resultaron virulíferos y el porcentaje de transmisores de acuerdo al sexo fue de 43 por ciento y 13 por ciento para hembras y machos, respectivamente. Pudo observarse así una tendencia similar, tanto en la  $F_1$  como en la  $F_2$ , a obtener un mayor número de insectos transmisores de padres transmisores que de los no transmisores. Por otra parte, pudo notarse que el porcentaje de transmisores en el cruce B-2 fue muy similar al del cruce A-1, a pesar de que los primeros se originaron de progenitores no transmisores y los segundos de progenitores transmisores.

Observaciones posteriores mostraron que la raza altamente transmisora perdía gradualmente dicha capacidad, después de pocas generaciones de cruces libres, volviendo al nivel de transmisión usual en las poblaciones del vector, y que oscilan entre 11 y 28 por ciento aproximadamente.

#### Efecto de punciones abdominales en la capacidad de *D. maidis* de transmitir el VRFM

El efecto de las punciones abdominales en la capacidad del vector de transmitir el virus se determinó, efectuando las punciones en la manera anteriormente descrita, en ninfas de 3° y 4° instar, antes y después de la adquisición del virus. Del grupo de ninfas que recibió

Cuadro 2.—Transmisión del virus del rayado fino del maíz por la progenie ( $F_2$ ) de insectos transmisores y no transmisores del vector *Dalbulus maidis*.

Cruce*	Sexo**	Insectos transmisores Insectos probados	Porcentaje de transmisores por sexo	Porcentaje de transmisores por cruce
A-2	♀	$\frac{18}{24}$	75	40
	♂	$\frac{1}{24}$	4	
B-2	♀	$\frac{9}{21}$	43	28
	♂	$\frac{3}{23}$	13	

\* La progenie probada fue el producto de los cruces: A-2 hembra transmisora por macho transmisor ambos originados del cruce A-1 anterior. y B-2 hembra no transmisora por macho no transmisor originados del cruce B-1 anterior.

\*\* Durante el período de incubación y conforme los insectos se transformaban en adultos eran separados por sexos y probados individualmente.

la punción antes de la adquisición, 6 ninfas de 38 transmitieron el virus (16%); 5 de 27 (19%) cuando la punción fue después de la adquisición, y 3 de 25 (12%) cuando no recibieron punción.

#### Plantas silvestres como hospedantes del VRFM y *D. maidis*

Ninguna de las 8 especies silvestres probadas mostró síntomas del VRFM y el virus no se recuperó tampoco de ninguna de ellas. Fue evidente el hecho de que las especies probadas no constituían hospedantes naturales de *D. maidis*, ya que estos difícilmente se alimentaban de ellas, permaneciendo la mayor parte del tiempo posados sobre los costados de las jaulas. Los insectos morían si se mantenían sobre estas plantas por períodos mayores de 36 h.

#### Incapacidad de *Peregrinus maidis* de transmitir el VRFM

Las pruebas de transmisión del VRFM con *P. maidis* se realizaron de una manera similar a la descrita para *D. maidis*. De 12 grupos de 5 insectos expuestos y probados, ninguno transmitió el VRFM. Fue posible observar un decrecimiento rápido de la población de los insectos en prueba, ya que de los 60 con que se iniciaron las pruebas únicamente 7 vivían al terminar el experimento.

#### Discusión

El efecto de la duración del período de adquisición en el grado de transmisión del VRFM, medido en base al número total de insectos transmisores, fue aparentemente el de un ligero incremento en el número de insectos transmisores cuando el tiempo de exposición de los insectos a plantas enfermas aumentó de 6 a 96 h. Efectos similares han sido observados con otros virus propagativos en su vector (5, 6, 10, 19). Los resultados obtenidos sugieren así que en períodos de adquisición de 6 h o más, los insectos potencialmente transmisores de una colonia de *D. maidis* tienen aparentemente las mismas probabilidades de alcanzar el floema de las hojas y adquirir el virus resultando así eventualmente infectados. El período mínimo de adquisición no se determinó en este estudio ya que en el período de menor duración probado (6 h), algunos insectos adquirieron el virus. Consecuentemente su determinación requeriría de pruebas de menor duración a las aquí probadas. Otros autores, en trabajos con otros virus propagativos, han hallado este período en pruebas de duración semejante o menor a las empleadas en este estudio (5, 6, 10, 12, 19).

El período mínimo de transmisión del VRFM por *D. maidis* fue de 8 h y es mayor que el observado para otros virus y micoplasmas de gramíneas (5, 6, 12, 19). Los resultados de este estudio muestran también que el número de colonias transmisoras fue similar en períodos de transmisión de 8 a 12 h de duración. Es posible que un incremento en número de insectos transmisores pudiera haber sido detectado si los insectos hubieran sido probados individualmente y no en grupo como fue hecho.

Nuestros estudios sobre la herencia de la capacidad de transmisión del VRFM, mostraron que un número considerablemente mayor de insectos virulíferos se obtuvo de progenitores virulíferos que de no virulíferos; en la  $F_2$  de insectos transmisores se registró un 40 por ciento de insectos virulíferos en comparación con un 28 por ciento mostrado por la progenie de padres no transmisores. Resultados similares se han obtenido con otros virus propagativos en saltahojas (2, 6, 11, 13, 18, 23). El alto porcentaje de insectos virulíferos en la progenie de insectos transmisores se debió a que en la  $F_2$  un 75 por ciento de las hembras eran transmisoras. Estos resultados confirman observaciones anteriores de una mayor eficiencia de las hembras de *D. maidis* como vectores del VRFM (8, 9). El tipo de herencia de la capacidad de *D. maidis* de transmitir del VRFM es muy similar al observado por otros autores (2, 6, 11, 13, 18, 20, 21), para otros virus.

La presencia de una barrera física que impide el paso del virus del tracto digestivo del insecto a la hemolinfa no parece ser la razón que explique la existencia de razas del insecto con grados diferentes de capacidad de transmitir el virus (2, 3, 16, 17, 23). Nuestros resultados muestran apenas un ligero incremento, en el número de insectos virulíferos, cuando las ninfas de *D. maidis* sufrieron punción abdominal inmediatamente antes o después de adquirir el virus. Resultados similares fueron obtenidos por Sinha (17) con el virus del tumor de heridas transmitido en forma propagativa por

*Agallia constricta* Utilizando punciones abdominales con la especie *Cicadulina mbila*, y el virus del estriado del maíz, Storey (22) logró convertir razas no transmisoras en transmisoras. A diferencia de nuestro caso, este virus no es propagativo en su vector.

Las plantas probadas en nuestro trabajo como posibles hospedantes del virus y su vector, fueron seleccionadas con base en su abundancia en las cercanías de plantaciones de maíz, y no por que existiera alguna relación taxonómica cercana al maíz. Ninguna de ellas se comportó como hospedante del VRFM o de *D. maidis*. Otros autores han hallado en México y los Estados Unidos únicamente dos especies, además del maíz, en las que *D. maidis* puede alimentarse, *Euchlaena mexicana* Schrad (teosintle), y *Tripsacum dactyloides* (L.) L. (1, 14, 15). La relación biológica entre el VRFM, su insecto vector y la planta hospedante parece ser sumamente específica y estrecha ya que hasta el presente las únicas plantas conocidas en que virus y vector pueden multiplicarse son maíz y teosintle (8). No se ha determinado si *T. dactyloides*, es susceptible al VRFM. Tampoco ha sido posible encontrar otro vector del virus; nuestros estudios demuestran que *P. maidis* no transmite el VRFM, no habiendo sido posible hasta el presente en nuestros estudios colectar otro saltahojas que se alimente en maíz y pueda constituir un vector potencial del virus.

#### Agradecimientos

La identificación de las especies de plantas silvestres fue gentilmente realizada por el Dr. I. A. Fournier, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, y la de *P. maidis* por el Ing. Luis A. Salas, Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica.

#### Literatura citada

- BARNES, D. Biología, ecología y distribución de las chicharritas, *Dalbulus eliminatus* (Ball) y *Dalbulus maidis* (De L. & W.). México Secretaría de Agricultura y Ganadería. Oficina de Estudios Especiales, Folleto Técnico N° 11. 1951. 112 p.
- BLACK, I. M. Genetic variation in the clover leafhopper's ability to transmit potato yellow-dwarf virus. *Genetics* 28:200-209. 1943.
- . Transmission of plant viruses by cicadellids. In Smith, K. M. y Lauffer, M. A. *Advances in Virus Research*. New York, Academic Press, 1953. Vol. 1, pp. 69-89.
- . Biological cycles of plant viruses in insect vectors. In Burnet, F. M. and Standley, W. M. eds. *The Viruses*. New York, Academic Press, 1959. Vol. 2, pp. 157-184.
- CHIU, R. J., JEAN, J. H., CHEN, M. H. y LO, T. H. Transmission of transitory yellowing virus of rice by two leafhoppers. *Phytopathology* 58(6):740-745. 1968.
- GALVEZ, G. E. Transmission studies of the hoja blanca virus with highly active, virus-free colonies of *Sogatodes oryzicola*. *Phytopathology* 58(6):818-821. 1968.
- GAMEZ, R. A new leafhopper-borne virus of corn in Central America. *Plant Disease Reporter* 53(12):929-932. 1969.
- . Transmission of rayado fino virus of maize (*Zea mays*) by *Dalbulus maidis*. *Annals of Applied Biology* 73(3):285-292. 1973.
- GONZALEZ, V. y GAMEZ, R. Algunos factores que afectan la transmisión del virus del rayado fino del maíz por *Dalbulus maidis* DeLong & Wolcott. *Turrialba* 24(1):51-57. 1974.
- JENSEN, D. D. Reduction in longevity of leafhoppers carrying peach yellow leaf roll virus. *Phytopathology* 48(8):394. 1958.
- KISIMOTO, R. Genetic variation in the ability of a planthopper vector; *Laodelphax striatellus* (Fallén) to acquire the rice stripe virus. *Virology* 32(1):144-152. 1967.
- McMILLIAM, W. W., MacGUIRRE, J. V. y LAMEY, H. A. Hoja blanca transmission studies on rice. *Journal of Economic Entomology* 55(5):796-797. 1962.
- NAGARAJ, A. N. y BLACK, I. M. Hereditary variation in the ability of a leafhopper to transmit two unrelated plant viruses. *Virology* 16(2):152-162. 1962.
- PITRE, H. N. Greenhouse studies of the host range of *Dalbulus maidis*, a vector of the corn stunt virus. *Journal of Economic Entomology* 60(2):417-421. 1967.
- PITRE, H. N., COMBS, R. L. y DOUGLAS, W. A. Gamagrass, *Tripsacum dactyloides*, a new host of *Dalbulus maidis*, vector of corn stunt virus. *Plant Disease Reporter* 50(8):570-571. 1966.
- SINHA, R. C. Comparison of the ability of nymph and adult *Delphacodes pellucida* Fabricius, to transmit European wheat striate mosaic virus. *Virology* 10(3):314-352. 1960.
- . Effect of age of vector and of abdomen punctures on virus transmission. *Phytopathology* 53(10):1170-1173. 1963.
- . Recent work on leafhopper-transmitted viruses. In Smith, K. M. y Lauffer, M. A. *Advances in Virus Research*. New York, Academic Press, 1968. Vol. 13, pp. 181-221.
- , y WATSON, M. A. Striate mosaic of cereals in Europe and its transmission by *Delphacodes pellucida* (Fab.). *Annals of Applied Biology* 46(4):542-553. 1958.
- STOREY, H. H. The inheritance by an insect vector of the ability to transmit a plant virus. *Proceedings of the Royal Society. Serie B* 112:46-60. 1932.
- . Investigations of the mechanism of the transmission of plant virus by insect vectors, 1. *Proceedings of the Royal Society. Serie B* 113:463-485. 1933.
- . Investigations of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors; 11. The part played by puncture in transmission. *Proceedings of the Royal Society. Serie B* 125(841):455-477. 1938.
- WATSON, M. A. y SINHA, R. C. Studies on the transmission of European wheat striate mosaic virus by *Delphacodes pellucida* Fabricius. *Virology* 8(2):139-163. 1959.