

ESTUDIOS SOBRE LA TRANSMISION DEL VIRUS DEL RAYADO FINO DEL MAIZ
POR EL CICADELIDO Dalbulus maidis (De L. & W.)

Por

Víctor R. [✓]González

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA
Centro de Enseñanza e Investigación
Turrialba, Costa Rica

Mayo, 1969

ESTUDIOS SOBRE LA TRANSMISION DEL VIRUS DEL RAYADO FINO DEL MAIZ
POR EL CICADELIDO Dalbulus maidis (De L. & W.)

Tesis

Presentada al Consejo de la Escuela para Graduados
como requisito parcial para optar al grado

de

Magister Scientiae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA

APROBADA:

Rodrigo Gámez, Ph.D.

Consejero

Luis Carlos González, Ph.D.

Comité

Fausto Maldonado, Ing. Agr.

Comité

Kamta P. Katiyar, Ph.D.

Comité

Mayo, 1969

A mis padres

A mi esposa

A mi hijita

AGRADECIMIENTOS

A mi Consejero Principal Sr. Rodrigo Gámez por su constante asesoramiento, sin el cual no hubiera sido posible realizar este trabajo.

A los Señores Luis Carlos González, Fausto Maldonado y Kamta P. Katiyar por sus acertadas sugerencias.

A los Señores Gilberto Páez y Saulo Soria por sus desinteresada ayuda en algunos aspectos de esta tesis.

Al Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela por haber patrocinado mis estudios en esta institución.

A la Universidad de Oriente de Venezuela por haberme estimulado durante mi estadía en el IICA.

BIOGRAFIA

El autor nació en Ciudad Bolívar, Venezuela en 1942. Realizó sus estudios primarios y secundarios en su ciudad natal. En 1961 ingresó a la Universidad de Oriente de donde egresó en 1966 con el título de Ingeniero Agrónomo. En octubre de 1967 inició sus estudios de post-grado en el Departamento de Fitotecnia y Suelos del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A., de donde egresó en mayo de 1969.

TABLA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
AGRADECIMIENTOS	iv
BIOGRAFIA	v
TABLA DE CONTENIDO	vi
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	4
MATERIALES Y METODOS	22
RESULTADOS	31
DISCUSION	49
CONCLUSIONES	55
RESUMEN	57
SUMMARY	59
LITERATURA CITADA	61

LISTA DE CUADROS

Cuadro N ^o		<u>Página</u>
1	Longevidad de insectos de la especie <u>Dalbulus maidis</u> , transmisores y no-transmisores del VRFM	31
2	Influencia del sexo de insectos de la especie <u>Dalbulus maidis</u> en su habilidad de transmisión del VRFM	34
3	Efecto de la edad de insectos de la especie <u>Dalbulus maidis</u> en su habilidad de transmisión del VRFM	37
4	Estudio sobre la transmisión del VRFM a la progenie de hembras transmisoras de <u>Dalbulus maidis</u>	39
5	Efecto de 3 temperaturas sobre la duración del período de incubación del VRFM en su vector <u>Dalbulus maidis</u>	41
6	Efecto de 3 temperaturas sobre la transmisión del VRFM por su vector <u>Dalbulus maidis</u> .	44
7	Duración de los instares ninfales de <u>Dalbulus maidis</u> criado sobre talluelos de maíz a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$	46
8	Duración del estado adulto en 11 individuos de <u>Dalbulus maidis</u> mantenidos sobre maíz a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$	47

LISTA DE FIGURAS

Figura N ^o		<u>Página</u>
1	Hoja de maíz de la línea T-3 mostrando los síntomas de la enfermedad causada por el VRFM	2
2	Talluelos de maíz colocados en tubo de ensayo con agua, y sus hojas mantenidas en una caja plástica, en la forma usada en los estudios sobre la biología del insecto vector <u>D. maidis</u> ..	29
3	Longevidad de insectos de la especie <u>Dalbulus maidis</u> transmisores y no-transmisores del VRFM.	32
4	Influencia del sexo de insectos de la especie <u>Dalbulus maidis</u> en su habilidad de transmisión del VRFM	35
5	Efecto de la edad de insectos de la especie <u>Dalbulus maidis</u> en su habilidad de transmisión del VRFM	36
6	Efecto de 3 temperaturas sobre la duración del período de incubación del VRFM en su vector <u>Dalbulus maidis</u>	42
7	Efecto de 3 temperaturas sobre la transmisión del VRFM por su vector <u>Dalbulus maidis</u>	45
8	Duración del estado adulto en 11 individuos de <u>Dalbulus maidis</u> mantenidos sobre maíz a 25 + 1°C	48

INTRODUCCION

Las enfermedades viróticas del maíz (Zea mays L.) están ampliamente distribuidas en el mundo, a tal punto que es muy difícil encontrar una región productora de maíz en donde no esté presente con carácter endémico una u otra enfermedad de este tipo (3). Al igual que otras, la importancia de dichas enfermedades radica en que reducen marcadamente la producción de las plantas, al afectar la formación de la mazorca de maíz.

En muchas de las regiones productoras de maíz de América se encuentran enfermedades de este tipo, algunas de las cuales son más importantes en una zona que en otra.

Desde hace poco tiempo se ha notado, principalmente en Costa Rica (21) y El Salvador (3,5), lo que se conoce ahora como una nueva enfermedad virosa del maíz, la cual ha sido transmitida experimentalmente por el Cicadélido Dalbulus maidis (De L. & W.) (5,21), que a su vez es un vector eficiente de la enfermedad conocida como "Achaparramiento del maíz" (38,39).

Esta nueva enfermedad fue inicialmente considerada como un tipo de achaparramiento (5). Sin embargo, estudios posteriores (21) han demostrado que no lo es y que su agente etiológico es diferente del que causa el achaparramiento, demostrándose además que su sintomatología difiere de los tipos de achaparramiento conocidos como Río Grande y Mesa Central ya caracterizados.

La nueva enfermedad ha sido denominada "Rayado Fino" porque se manifiesta como rayas cloróticas muy delgadas e interrumpidas que corren a lo largo de las hojas, no formándose nunca rayas continuas (Figura 1).

Como la caracterización de los virus de plantas se hace con base al conocimiento de sus propiedades biológicas y bioquímicas; en el presente estudio se ha tratado de obtener información adicional de algunas



Figura 1. Hoja de maíz de la línea T-3 mostrando los síntomas de la enfermedad causada por el VRFM.

de las características biológicas de este nuevo virus del maíz, a través del estudio de algunos aspectos de las relaciones entre el virus y su vector, información que a su vez podría eventualmente utilizarse para diseñar un método apropiado de control.

Se estudiaron diferentes aspectos de las relaciones entre el virus y su vector. Se investigó la influencia del sexo sobre la capacidad de transmisión del vector, la influencia de la edad del insecto a la que se adquiere el virus sobre su transmisión, los posibles efectos del virus sobre la longevidad de los saltahojas transmisores, la existencia de transmisión del virus a la progenie de hembras infectadas, y el efecto de diferentes temperaturas sobre la incubación y transmisión del virus por el insecto. Finalmente se determinó también la duración de los instares ninfales y del adulto respectivamente en el insecto vector, lo que nos permitió conocer estos valores en insectos sanos y bajo nuestras condiciones de trabajo.

Este estudio se llevó a cabo entre agosto de 1968 y marzo de 1969, en los laboratorios e invernaderos de Fitopatología y Entomología del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A., en Turrialba, Costa Rica.

REVISION DE LITERATURA

1. Algunas enfermedades virosas del maíz

1.1. Virosis transmitidas por saltahojas

1.1.1. Virus del Rayado fino del maíz (VRFM)

El Rayado fino es una enfermedad virosa transmitida por el Cicadélido Dalbulus maidis, el cual puede adquirir el virus después de alimentarse por periodos hasta de 24 horas sobre la planta enferma; así mismo 25 a 35% de los individuos de una colonia son potencialmente transmisores. Los insectos transmisores pueden retener el virus por periodos prolongados y aun por toda su vida, sin embargo, es frecuente observar una pérdida en su transmisibilidad por el vector (21).

Las hojas de plantas enfermas muestran rayas cloróticas no continuas, sino de pequeños puntos y/o rayas cloróticas muy cortas que se desarrollan sobre las venas y a lo largo de la hoja. Los síntomas aparecen con mayor intensidad en las plantas jóvenes y particularmente hacia la base de las hojas, y suelen aparecer 8 ó 10 días después de la inoculación. Sin embargo, la intensidad de los síntomas disminuye gradualmente con la edad de la planta y pueden llegar a ser casi imperceptibles en las plantas viejas. Una ligera clorosis y reducción del tamaño pueden ser apreciadas algunas veces, pero la manifestación de estos síntomas pareciera diferir con las variedades o condiciones ambientales. El período de incubación promedio del virus en el vector es de 21 días a 25 ± 1°C, aunque ocasionalmente algunos insectos lo transmiten de 7 a 9 días después de su adquisición. Las relaciones virus - vector

parecen ser similares a la de los virus conocidos como propagativos (21).

1.1.2. Achaparramiento (Corn Stunt Virus)

Desde hace mucho se aceptaba, basándose en evidencias indirectas, que el achaparramiento era una enfermedad causada por un virus (2, 38, 39). Fueron Granados y colaboradores (24) los primeros en observar en células del cerebro, ganglio ventral y tracto intestinal del saltahoja Dalbulus elimatus (Ball) infectado con achaparramiento, cuerpos parecidos a micoplasmas. En vista de lo reciente de la anterior información y en ausencia de pruebas definitivas, para los fines de este trabajo consideraremos ésta y otras enfermedades cuya naturaleza virótica está en duda, como causadas efectivamente por un virus.

El achaparramiento fue mencionado por primera vez en 1945 por Altstatt (2) quien encontró la enfermedad en el Valle del Río Grande en Texas. Luego Maramorosch (38, 39) encontró en la Mesa Central de México un tipo de achaparramiento que difería en sintomatología al descrito por Altstatt, probando más tarde que se trataba de una raza diferente del virus a la cual llamó Mesa Central (37).

Más tarde Ancalmo (3, 4, 5) describió en El Salvador los tipos Río Grande, Mesa Central, un tercero formado por la mezcla de los dos anteriores y un cuarto que llamó Rayado fino. Este último ya ha sido demostrado por Gámez (21) ser un virus completamente distinto al del achaparramiento.

El achaparramiento del maíz fue catalogado como una enfermedad causada por un virus del tipo persistente, cuyos principales vectores conocidos fueron los saltahoja Dalbulus maidis y Dalbulus elimatus, encor-

trándose posteriormente otros vectores como Graminella nigrifrons (Forbes) y Deltocephalus sonorus Ball. (8, 22, 23, 24, 25, 36, 37, 38, 39).

Las tres variantes de la enfermedad presentan los siguientes síntomas.

Tipo Río Grande: Síntomas tempranos se caracterizan por pequeñas manchas cloróticas que aparecen en la base de las hojas más jóvenes, variando desde puntos hasta largas estrías de considerables dimensiones. Las hojas siguientes son afectadas en mayor grado, hasta que todas las hojas jóvenes son totalmente cloróticas. Hay achaparramiento y proliferación de brotes axilares.

Tipo Mesa Central: Las machas cloróticas son menos conspicuas o ausentes. Aparece una coloración rojiza en las hojas más viejas la cual se desplaza en forma de V desde el ápice y bordes de las hojas. No hay decoloración de la base en las hojas jóvenes. El achaparramiento es más severo y los brotes adicionales son producidos no solamente en las axilas de las hojas, sino también y principalmente en la base del tallo achaparrado.

Tipo tercero: Este tipo sólo ha sido citado por Ancalmo y Davis (5) y lo describieron diciendo que las plantas pueden presentar los síntomas característicos del tipo Mesa Central en la parte superior, y los del tipo Río Grande en la porción inferior o viceversa.

1.1.3. Enanismo rayado del maíz (Corn Stripe Virus)

El enanismo rayado del maíz es causado por un virus del tipo persistente, el cual es transmitido por el saltahoja Peregrinus maidis Ashm. (30). Esta enfermedad está presente en varias regiones tropicales

como Cuba, Trinidad y Puerto Rico (42).

Los síntomas se expresan notablemente en las hojas que aparecen después de la infección y se caracterizan por delgadas rayas amarillas o casi blancas, centradas entre las venas, estas rayas se pueden fusionar para formar bandas anchas paralelas a las venas. Las hojas afectadas generalmente se marchitan desde el ápice hacia abajo y desde las márgenes hacia adentro. La cabeza de la planta en vez de ser recta se inclina hacia un lado. En casos extremos la planta se achaparra, formándose un penacho de hojas en su ápice, dando como resultado la ausencia de granos en la mazorca. El virus tiene un período de incubación en el insecto de 11 a 29 días, y en la planta de 9 a 21 días; no se transmite mecánicamente (6, 7, 16, 30, 33, 42).

1.1.4. Virus del bandeado de la hoja (Corn Streak Virus)

El virus causante de esta enfermedad es también del tipo persistente y es transmitido por especies de cicádulas, que son: Cicadulina mbila (Naude), Cicadulina zaeae y Cicadulina nicholsi. La enfermedad es tá presente en algunos países del Africa, y en Trinidad.

Los síntomas que se desarrollan comprenden en su inicio pequeñas manchitas circulares, coloreadas o translúcidas. Conforme la enfermedad progresa, se desarrollan vetas de varios mm. de largo, y de 0,5 a 1,0 mm. de ancho. Frecuentemente las vetas se fusionan lateralmente para formar vetas más anchas. La clorosis aumenta a medida que se van formando nuevas hojas. El virus tiene un período de incubación en el vector de 6 a 12 días, y en la planta de 3 a 7 días. No se transmite mecánicamente (30, 42, 55).

1.1.5. Enanismo rugoso del maíz (Maize Rough Dwarf Virus)

El agente causal de esta enfermedad no ha sido del todo caracterizado, de tal manera que no se sabe si es causada por un virus o se trata de una fitotoxemia. El insecto normalmente asociado con esta enfermedad es el saltón Calligypona marginata (Fabricius). Generalmente las plantas enfermas presentan pequeños hinchamientos sobre las venas, principalmente en el envés de las hojas apicales, las que adquieren una coloración acentuadamente verde. A menudo las plantas son enanas, con o sin mazorcas. Los síntomas aparecen en la planta 15 - 20 días después de la inoculación, y pueden reproducirse por inoculación mecánica (26, 27, 30).

1.1.6. Mazorca Canguro (Corn Wallaby ear)

Esta es otra enfermedad cuya naturaleza virótica no está totalmente comprobada. Se asocia con esta enfermedad al saltahojas Cicadulina bipunctella bimaculata Evans. Las plantas enfermas presentan pequeñas hinchazones alargadas o agallas sobre las venas secundarias de las hojas más jóvenes. Se presentan hojas paradas en ángulo agudo con el tallo y con los márgenes enrollados hacia adentro. Los primeros síntomas se presentan 2 ó 3 semanas después de la inoculación (1, 30, 42).

1.2. Virosis transmitidas por áfidos

1.2.1. Mosaico del maíz (Corn Mosaic Virus)

El mosaico del maíz es causado por un virus no persistente transmitido por varias especies de áfidos, siendo los más conocidos, Aphis gossypii Glover, Myzus persicae (Sulz.), y Rhopalosiphum maidis (Fitch).

Este virus se transmite mecánicamente y la enfermedad que produce está ampliamente distribuida, presentándose también en caña de azúcar.

Los síntomas que manifiesta la enfermedad comprenden la aparición de un mosaico o moteado en las hojas más jóvenes, en las cuales manchitas verde-claro o amarillentas se distribuyen irregularmente sobre un fondo verde oscuro. Estos síntomas pueden variar desde bandas amarillas con bordes irregulares, hasta manchas cloróticas fusiformes con el centro verde (manchas ojo), pudiendo las plantas ser achaparradas (15, 30, 33, 34, 42, 45, 46).

1.2.2. Mosaico del Pepino o Mosaico sureño del Apio (Cucumber Mosaic Virus)

También es provocada esta enfermedad por un virus no persistente, transmitido por varios áfidos, entre los cuales sobresalen, A. gossypii y M. persicae.

En plantas de maíz enfermas, se presentan en las hojas más jóvenes numerosas manchas elípticas de diferentes longitudes y diámetros; desde ligeramente verde hasta amarillo e intermitentes, formando bandas paralelas a las venas. Ocasionalmente puede aparecer un moteado parecido al del Mosaico del maíz. Algunas plantas se pueden achaparrar y las hojas pueden dividirse. Este virus no es transmitido por P. maidis.

El período de incubación en la planta es a menudo de 5 a 6 días, con un máximo de 30; ocurriendo las infecciones más severas entre 70 y 90°F. Es transmisible mecánicamente (30, 42, 53, 57).

1.2.3. Mosaico del Abacá (Abaca mosaic)

También en este caso un virus que afecta a otro cultivo afecta al maíz. Este virus es de naturaleza no persistente y es transmitido al maíz por los áfidos, A. gossypii, R. maidis, y Rhopalosiphum prunifoliae (Fitch) (18, 30).

Los efectos de la enfermedad son más notables en las hojas nuevas y se caracterizan por un moteado tipo mosaico, muy similar al causado por el virus del mosaico de la caña de azúcar. En maíz los primeros síntomas aparecen cerca de los 12 días después de la inoculación, cuando se mantiene la temperatura en 68° F (30).

1.2.4. Manchado de la hoja (Maize Leaf-Fleck Virus)

El manchado de la hoja del maíz, es producido por un virus del tipo persistente-circulativo, que es portado por los áfidos M. persicae, R. maidis y R. prunifoliae.

La enfermedad aparece primero sobre las hojas más viejas y se caracteriza por la pérdida de color desde el ápice hacia la base. Primero se forman pequeñas manchas amarillas, en forma circular y elípticas y de unos 2 mm. de diámetro las cuales no son interrumpidas o restringidas por las venas; estas manchas no se juntan. Cuando el tercio terminal de la hoja está manchado, el ápice y los márgenes se tornan anaranjados y luego se necrotizan, doblándose el ápice seco. Los síntomas en la planta aparecen después de 4 ó 8 semanas y son progresivos desde la hoja más vieja a la más joven (30, 54).

1.3. Virosis transmitidas por otros Artropodos

1.3.1. Mosaico y Bandeado del trigo (Wheat Streak Mosaic Virus)

Esta enfermedad virótica del maíz, al contrario de las anteriores, no es transmitida por un insecto sino por el ácaro Aceria tulipae Keifer.

Los síntomas comprenden la formación de numerosas manchas o rayas cloróticas en el ápice de las hojas. Las hojas más viejas presentan rayas alargadas, limitadas por las venas. Estas rayas son cloróticas en el ápice. A medida que avanza la enfermedad hay pérdida del color verde, comenzando en el ápice de las hojas y bajando progresivamente hacia la base. Usualmente el patrón clorótico decrece desde las hojas basales hacia las apicales. Si el ataque es severo las plantas son enanas, las mazorcas pobremente desarrolladas, con granos normales pero poco numerosos y ampliamente esparcidos. El virus también se transmite mecánicamente, y tiene un período de incubación en maíz de 6 a 22 días (30).

2. Transmisión de virus por saltahojas

Los saltahojas son insectos pertenecientes al orden Homóptera y a la familia Cicadellidae. Constituyen junto con los Afidos, los dos grupos más importantes como agentes transmisores de virus.

Según Black (14) se han reseñado 26 virus transmitidos por 69 especies de saltahojas, pertenecientes a 6 sub-familias de la Cicadellidae.

Para Bawden (9) los saltahojas en sus relaciones con los virus, siguen en forma muy general el siguiente patrón: a) La habilidad para transmitir un virus, no se incrementa con un período corto de ayuno; b) El saltahoja es incapaz de transmitir inmediatamente después de

adquirir el virus; y c) Casi siempre permanece infectivo por un largo tiempo.

Los síntomas que frecuentemente producen los virus transmitidos por saltahojas se tipifican por amarillamiento homogéneos, rayado o bandeado entre las nervaduras, enanismo, y presencia de agallas. En general estos virus no se transmiten mecánicamente, a excepción del virus del Enanismo amarillo de la Papa (Potato Yellow Dwarf Virus) (14, 56).

Los saltahojas transmiten dos tipos de virus, circulatorios y propagativos. Son circulatorios aquellos virus que necesitan pasar cierto período de tiempo en su insecto vector antes de poder infectar una planta sana; decreciendo, a medida que pasa el tiempo, tanto su habilidad para ser transmitido como su presencia en el vector. El virus propagativo es aquel que necesita pasar un tiempo relativamente largo en su vector antes de poder ser transmitido, generalmente persiste por mucho tiempo y su concentración en el insecto se incrementa ya que el virus se multiplica en el insecto vector (9, 14, 32, 41). Tanto con los virus propagativos como circulatorios, el vector requiere un período prolongado de alimentación en la planta enferma antes de poder adquirirlos.

Los saltahojas para alimentarse insertan su estilete en la planta y extraen jugos, generalmente desde el floema, aunque algunos lo hacen desde el xilema. Pese a que algunos de estos insectos pueden ser mantenidos por pocos días en soluciones nutritivas artificiales, nadie ha descubierto como criarlos en tales soluciones nutritivas (13).

3. Fenómeno de transmisión

3.1. Eficiencia de transmisión de machos y hembras

El estudio de este aspecto de las relaciones Virus-Vector es importante por cuanto puede ser de mucha ayuda en la caracterización de un virus, ya que generalmente los fenómenos de transmisión son constantes y característicos en sus manifestaciones, para un virus dado y su vector.

En estudios de transmisión de la raza Norteamericana del Virus del Mosaico Estriado del Trigo (Wheat Striate Mosaic Virus) por su vector Endria inimica (Say), Slykhuis (52) no encontró diferencias en cuanto a la habilidad de transmitir dicho virus entre machos y hembras.

Granados y colaboradores (25) tampoco encontraron diferencia en la habilidad de hembras y machos de tres especies de Cicadélidos para transmitir el virus del achaparramiento del maíz. Las tres especies estudiadas fueron D. maidis, D. elimatus y G. nigrifrons.

En cambio Gálvez (20) encontró que las hembras de Sogatodes oryzicola, eran mejores transmisores del virus que causa la enfermedad "Hoja blanca del arroz", que los machos. Esto se debe, principalmente, a que la mayoría de los machos no alcanzan a cumplir el período mínimo de incubación del virus, debido a que viven muy poco como adultos.

3.2. Transmisión transovarial

La existencia de transmisión de un virus a la progenie a través de la madre, es muy importante por cuanto de esta forma se determina no sólo un reservorio natural del virus, sino que se prueba además que el virus se multiplica en su insecto vector (10, 11).

Fukushi, citado por Black (13), comunicó en 1933 el primer caso de transmisión de un virus de planta a través del huevo del vector. Luego en 1940 publicó más detalles sobre el pasaje transovarial de ese virus, el cual causaba el achaparramiento del arroz (Rice Stunt Virus), siendo su vector Nephotettix apicalis. En un caso él obtuvo pasaje transovarial del virus hasta la sexta generación de progenie, y 82 saltahojas infectivos se originaron de una hembra virulífera.

Black (10, 11) demostró el segundo caso de un virus de planta que pasaba a la progenie de una madre infectiva. El hizo sus pruebas con la especie Agalliopsis novella (Say) que es el vector del virus de la hoja agarrotada (Club-Leaf Virus) que ataca al trébol rojo Trifolium incarnatum. Encontró que 24 de 27 insectos progenie probados resultaron transmisores, o sea un 89%. El experimento fue continuado por más de 5 años a través de 21 generaciones de insectos que crecían sobre Alfalfa Grimm la cual por ser inmune al virus no ofrecía la mayor posibilidad de que las ninfas lo adquirieran por alimentación. Como no hubo pérdida de infectividad en ningún instante, él concluyó que debía haber habido multiplicación del virus en el vector. Ninguno de los insectos infectó plantas hasta que pasaron por lo menos 3 semanas después de haber eclosionado el huevo, lo que también sugiere multiplicación del virus en el insecto. El mismo Black (12) reportó más tarde una segunda especie que transmitía transovarialmente este mismo virus, que fue Agallia constricta (Van Duzee).

Sinha (49) encontró que hembras de Delphacodes pellucida Fabricius, daba progenie infectada del virus del Mosaico Estriado del Trigo (Wheat Striate Mosaic Virus) sólo si lo habían adquirido en estado ninfal.

También en América Latina se ha estudiado la transmisión transovarial, encontrándose que el virus causante de la enfermedad "Hoja blanca del arroz" se transmite a través del ovario de hembras infectivas de la especie Sogatodes oryzicola, una de las cuales retuvo el virus hasta por 10 generaciones, y generalmente con 80-92% de progenie infectiva (20).

Uno de los virus más estudiados, el virus del tumor de herida (WTV), también se transmite transovarialmente, siendo Black (14) el primero en observar esto. Sinha y Shelley (50) probaron que dos razas de *A. constricta* una eficiente y la otra ineficiente como transmisores del WTV, a través del huevo, también eran eficientes e ineficientes respectivamente en adquirir el virus de plantas enfermas. Otro hallazgo que hicieron fue, que a pesar de ser el período mínimo de incubación del WTV. de 14-21 días; en aquellos insectos que lo heredaron fue de 6-9 días.

Carter (17) indica que Yamada y Yamamoto, encontraron transmisión transovarial del virus del Rayado del arroz (Rice Stripe Virus) a través de su vector Delphacodes striatella Fall. Igual descubrimiento hizo Grylls con el virus de la Hoja rugosa de la alfalfa (Rugose Leaf Curl of Alfalfa) el cual pasó a través de hembras infectivas de Austroa-
gallia torrida.

3.3. Efectos de los virus en sus vectores

Dado que los virus propagativos son parásitos internos de los insectos, es de suponer que deberían causar algunos efectos en sus hospederos; efectos que podrían ser nocivos pero que también podrían ser beneficiosos.

Littau y Maramorosch (35) notificaron el primer descubrimiento de un efecto citopatogénico de un virus en su saltahoja vector. Ellos observaron en células del cuerpo graso de Macrosteles fascifrons infectado con el virus del amarillamiento del Aster (Aster Yellow Virus), que el citoplasma aparecía esparcido, el núcleo estrellado, y las membranas celulares eran indistinguibles entre sí. Este efecto fue observado más frecuentemente en los machos.

Sinha (49) observó que muchos de los huevos puestos por una hembra infectiva de Delphacodes pellucida, estaban muertos, concluyendo que el virus del Mosaico estriado del trigo (Wheat Striate Mosaic Virus) es patogénico a los huevos de D. pellucida.

Una evidencia realmente notable del efecto patológico causado por un virus en su vector, fue reportado por Jensen (31) quien determinó que el promedio de vida de Colladonus montanus Van Duzee, infectado con el virus de la Amarillez del durazno (Peach Yellow Leaf Roll Virus) fue de 22 días; mientras que los insectos sanos vivieron un promedio de 55 días.

El virus del Amarillamiento enano de la cebada (Barley Yellow Dwarf Virus), afecta a su áfido vector Macrosiphum granarium (Kirby), de la siguiente manera: 1) Cumplimiento del período ninfal en un tiempo más corto; 2) Vida más larga; 3) Aumento del período reproductivo; 4) Producción de más progenie que los no virulentos (32).

La única evidencia de un efecto realmente beneficioso de un virus sobre un insecto ha sido presentada por Maramorosch (41) quien encontró que D. maidis, que normalmente no puede subsistir sobre plantas de Aster, sí lo hace cuando ha adquirido el virus del Amarillamiento del

Aster desde una planta de Aster enferma. Su supervivencia fue posible tanto sobre plantas sanas, como sobre plantas enfermas. En experimento posterior Maramorosch y colaboradores (41) marcaron plantas de Aster con fósforo radioactivo y pusieron a alimentarse a varios D. maidis; un estudio de estos insectos reveló que no hubo incremento en la cantidad de alimento normalmente ingerido por los saltahojas. Por todo lo anterior se llegó a la conclusión de que la habilidad adquirida se debía a un cambio en la capacidad de digerir el alimento extraño.

No se ha señalado todavía ningún virus de planta que dañe a su áfido vector (9).

3.4. Efectos de la temperatura sobre la transmisión o incubación de los virus

Uno de los primeros investigadores en estudiar el efecto de la temperatura sobre las relaciones insecto-virus fue Kunkel, citado por Black (13, 14). El observó que individuos de M. fascifrons infectados con el virus del Amarillamiento del aster perdían su habilidad para transmitir el virus después de haber sido mantenidos a 32°C, y el tiempo que el insecto permaneció no infectivo fue directamente proporcional al tiempo que permaneció a esa temperatura; de tal manera que una larga permanencia a 32°C inactivaba permanentemente al patógeno en el insecto transmisor.

Stegwee, citado por Maramorosch (41), evitó la transmisión del virus del enrollado de la hoja de la papa (Potato Leaf Roll Virus) manteniendo a su vector M. persicae a 35°C.

Quizás el trabajo más importante sobre este tópico sea el desarrollado por Maramorosch (40) quien estudió el efecto de la temperatura

sobre la incubación y la transmisión del WTV por su vector A. constricta. Las temperaturas que probó fueron: 16, 20, 25, 27,5, 30, 32,5 y 37°C. Encontró que a 15 y a 20°C el período de incubación se alargó notablemente, mientras a 37°C no hubo transmisión, y el óptimo estaba entre 25 y 32,5°C. Como es posible que la incubación sea buena a una temperatura dada, pero no así la transmisión; Maramorosch estudió el efecto de la temperatura sobre la transmisión, para lo cual probó la transmisión a diferentes temperaturas de grupos de insectos que ya habían completado su período de incubación a una temperatura óptima. La transmisión a 16 y 20°C fue pequeña, igualmente a 35°C, mientras a 26 y 30°C fue mejor. Cuando los insectos mantenidos a 16°C fueron pasados a 26°C, mostraron tanta infectividad como los mantenidos todo el tiempo a 26°C.

3.5. Influencia de la edad de adquisición sobre la transmisión

En experimentos con el virus del Mosaico estriado del trigo, Sinha (49) encontró que 34 de 71 ninfas de D. pellucida, transmitían el virus, mientras sólo 7 de 72 adultos hacían lo mismo. El mismo autor al trabajar con WTV y su vector A. constricta, obtuvo similares resultados (48). En ambos casos el punzar con una aguja el abdomen de un adulto, antes o después de tener acceso a una fuente de virus, incrementó sustancialmente el porcentaje de adultos transmisores. Eso sugiere que el virus debe pasar a través de la pared intestinal para poder llegar a las glándulas salivares y tornar infectivo a un insecto dado, y que presumiblemente la permeabilidad de la pared intestinal decrece con la edad.

Slykhuis (52) no encontró diferencias significativas en el porcentaje de transmisión del WSMV, adquirido por ninfas y adultos de

E. inimica.

4. Duración de los instares ninfales y del adulto de D. maidis

En un estudio sobre el insecto vector de un virus, es importante conocer la duración de sus instares ninfales si el vector tiene metamorfosis gradual, así como también la longevidad del insecto adulto. Con esta información se puede estimar con bastante exactitud en un momento dado el instar por el que está pasando la ninfa. También en algunos casos es importante conocer si la transmisión de un virus por un insecto dado se detiene con la muda. Por otra parte conociendo la longevidad promedio del adulto, más la duración de los instares ninfales, en insectos sanos, podemos determinar si la infección de un insecto por un virus altera la longitud de su ciclo de vida.

Ya en 1949 Hildebrand (28, 29) había señalado, someramente, que la duración del período adulto-adulto en D. maidis, era de 18-24 días, y que igual duración tenía en saltahojas presentes sobre plantas enfermas; desconociéndose las condiciones ambientales de trabajo.

Barnes (8) en un detallado estudio de la biología de D. maidis, encontró los siguientes valores para la duración de los 5 instares ninfales. En verano 32,4 días a 16,5°C. En invierno y en tres lugares diferentes los resultados fueron: Invernadero 36,8 días a 19,6°C sobre maíz; laboratorio 35,5 días a 17°C; insectario 55,2 días a 12,8°C. La longevidad promedio del adulto, tanto macho como hembra fue de un mes a 19,6°C, sobre maíz.

Granados y colaboradores (25) determinaron la duración de los instares ninfales y del adulto de D. maidis, criado sobre plántulas de

maíz a $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Encontraron que la duración promedio del período ninfal era de 18,5 días, y que el promedio de vida de los adultos era de 56,5 días.

5. Caracterización de los virus vegetales

Los virus al igual que cualquier patógeno vegetal, tienen que ser caracterizados e identificados para poderlos reconocer bajo cualquier condición, y además para poder idear las medidas de control.

Era lógico esperar que la primera manera de identificar un virus, fuera por los síntomas externos que produce en su hospedero. Sin embargo, pronto se supo que un mismo virus podía producir síntomas diferentes en hospederos semejantes, y aún producir síntomas diferentes en un mismo hospedero dependiente de las condiciones ambientales. También es posible que diferentes virus puedan provocar síntomas similares en una misma especie de planta (47).

El ámbito de hospederos fue otro de los criterios que se usaron para caracterizar virus, pues se observó que variaba con el virus (47). Este índice no es muy exacto debido a que razas de un mismo virus pueden tener un ámbito de hospederos distinto.

Más tarde las propiedades físicas del extracto viroso fueron utilizadas como índices para caracterizar los virus. Dentro de estas propiedades están, el punto de inactivación termal, el envejecimiento in vitro, y el punto de inactivación por dilución. Lo anterior es coadyuvado por el conocimiento de los medios de transmisión conocidos, que son: mecánica, injerto, semillas y animales (insectos, ácaros y nemátodos) (47). No todos los virus son transmitidos por todos estos medios,

y algunos virus tienen sólo un medio conocido de transmisión, como aquellos transmitidos por saltahojas.

Las pruebas de protección cruzada y serológicas son ya estudios más refinados para caracterizar un virus (56).

Al ser cristalizado el primer virus (virus del mosaico del tabaco) y al demostrarse que era una nucleoproteína, más la utilización de aparatos y métodos de alta precisión como son el microscopio electrónico, la ultracentrífuga, la utilización de los rayos X, y la electroforesis, abrieron un inmenso campo en el estudio de los virus. Así es posible determinar la forma, tamaño y peso molecular de los virus, aparte de sus propiedades bioquímicas. Todas estas son herramientas muy útiles en la caracterización de un virus, pero no son las únicas, ni pueden ser aplicadas en todos los casos con igual efectividad. Ross (47), dice que no se debe desdeñar ninguna información durante la identificación de un virus, y agrega que aún en nuestros días la identificación de un virus de planta no es una ciencia exacta. Más aún tales estudios bioquímicos y biofísicos sólo pueden hacerse con algunos virus, y en laboratorios con el equipo altamente especializado que generalmente se requiere.

Es por eso que el estudio de las relaciones insecto-virus revisten singular importancia en casos como el que nos ocupa, pues es con los virus transmitidos por saltahojas donde el problema anterior se hace más crítico por no transmitirse mecánicamente y ser normalmente muy inestables, y consecuentemente es en estos casos donde el estudio de las relaciones virus-vector aporta información de mucha importancia para poder caracterizar estos virus.

MATERIALES Y METODOS

1. Fuente del virus y colonias del insecto

Hojas de maíz que presentaban síntomas característicos de la infección causada por el virus del rayado fino del maíz (VRFM), y colonias sanas del insecto vector, Dalbulus maidis (De L. & W.), fueron obtenidas del Dr. R. Gámez. Tanto el aislamiento del virus como los insectos vectores provenían originalmente de plantaciones de maíz de la Estación Experimental de la Universidad de Costa Rica en Alajuela, y fueron los mismos descritos en estudios preliminares de esta enfermedad (21).

La identificación del insecto se hizo preliminarmente con una clave de campo, lo cual fue ratificado más tarde por el especialista J. P. Kramer del "United States Department of Agriculture, Entomology Research Division".

Un grupo de insectos, probados como libres de virus, fueron confinados en una jaula de madera y malla plástica de aproximadamente unos 108 cms. de largo por 50 cms. de ancho y 50 cms. de profundidad. Unas 3 ó 4 plantas de maíz fueron colocadas dentro de la jaula a fin de que los insectos se reprodujeran libremente y poder tomar de esta colonia los individuos necesarios para cada experimento. Esta colonia fue mantenida en un invernadero cuya temperatura oscilaba entre 19°C y 31,9°C con una media de 23,4°C.

2. Método de transmisión del virus por los insectos

Para todos los experimentos, los insectos que iban a adquirir el virus se confinaban sobre un pedazo de hoja con síntomas de la enfermedad bien marcados. El extremo basal de la hoja estaba a su vez sumergido parcialmente en el agua contenida en un Erlenmeyer de 200 ó 250 ml. y

era soportada e inmovilizada mediante un tapón de hule colocado en la boca del recipiente, éste a su vez se colocaba en un tarro y se cubría con tierra hasta la altura del tapón, de tal manera que únicamente la hoja sobresalía de la tierra. La hoja bajo estas condiciones se mantenía fresca hasta por 5 días a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Dicha hoja se cubría con una jaula de nitrato de celulosa. Esta jaula era de forma cilíndrica y medía unos 9 cm. de alto por 3 cms. de diámetro. La parte superior del cilindro estaba cubierta con una muselina fina y lateralmente tenía un pequeño orificio que servía para introducir o sacar los insectos.

Las jaulas para los pasos individuales tenían igual forma, pero poseían además dos huecos circulares lateralmente opuestos, también cubiertos con muselina para facilitar la circulación del aire y evitar la condensación del agua. Sus dimensiones eran 18 cms. de alto por 8 cms. de base.

El período de adquisición del virus por los insectos varió con el tipo de experimento, en general se usaron dos períodos de adquisición que fueron 5 días y 7 días, y los insectos en el momento de comenzar el período de adquisición eran ninfas entre el 3º y 4º instar, en otros casos eran adultos recién emergidos.

Se utilizaron dos períodos de pruebas a fin de determinar si los insectos eran transmisores o no, en unos casos se hicieron pasajes a plantas sanas cada 7 días, mientras en otros casos se hicieron cada 2 días.

Para las transferencias de los insectos se utilizó un aspirador, consistente de un delgado tubo de vidrio, uno de cuyos extremos estaba cubierto de un pedazo de muselina y llevaba adosado un trozo de manguera de hule, esto lógicamente permitía aspirar los insectos sin que pasaran más allá del tubo.

Todas las transferencias fueron hechas en una cámara de transferencias que consistía de un cajón de madera de forma aproximadamente cúbica, pintado de negro y con una pantalla de luz en el techo. Dicho cajón estaba montado encima de una mesa y todo el conjunto estaba encerrado en un cuarto, de tal manera que durante las transferencias a puerta cerrada, sólo la luz proveniente del techo del cajón era visible, esto permitía que los insectos atraídos por la luz no abandonaran el espacio del cajón, lo cual facilitaba su manejo. La cámara medía 78 cms. de alto, por 76 cm. de ancho y 50 cms. de profundidad. La cámara carecía de uno de sus lados de 78 por 76 cms., para que el operador pudiera manipular los insectos.

El maíz empleado fue, la línea T-3 que es originaria de la raza mexicana Tuxpeña, y la variedad Eto-blanco, ambas muy susceptibles al virus y sin ninguna diferencia en cuanto a susceptibilidad.

El maíz era sembrado en macetas de latón de 1 galón de capacidad, cuya altura era de 19 cms. y cuyo diámetro era de 15,5 cms. Generalmente se plantaban dos plantas por maceta, agregándosele al suelo en el momento de la siembra unos 10 grs. de triple superfosfato con 43-45% de P_2O_5 .

El período mínimo de incubación, que es de 7 días a $25^{\pm}1^{\circ}C$ (21), se cumplía sobre plantas sanas antes de comenzar las pruebas de transmisión. Este proceso al igual que el de adquisición se efectuaron a $25^{\pm}1^{\circ}C$ en un cuarto de temperatura y luz controladas. Las plantas probadas eran llevadas a un invernadero a temperatura ambiente para observar la expresión de síntomas, lo cual normalmente ocurría entre los 7 y 14 días después de quitarse los insectos.

3. Método para el estudio de transmisión transovarial del VRFM

De un grupo de ninfas entre el 3º y 4º instar que se puso a adquirir el virus, se seleccionaron luego 4 hembras transmisoras que se cruzaron individualmente con 4 machos, del mismo grupo, no transmisores. Se dejó que las hembras ovipositaran sobre plántulas de maíz y 10 días después se removieron los huevos de la vena central de las hojas. Para dicha remoción hubo necesidad de disectar las hojas, lo cual se logró colocándolas bajo un estereomicroscopio y con dos agujas de disección se procedió a abrirlas a lo largo de la vena principal, luego de lo cual los huevecillos blanco-perla quedaban expuestos, removiéndoseles con la ayuda de una de las agujas y de un pincel de pelo de camello.

Los huevos se pusieron a incubar a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ en pequeñas cajas de petri con papel de filtro negro previamente humedecido. La eclosión ocurrió entre 2-6 días después, y las pequeñas ninfas eran pasadas a plántulas de maíz con ayuda del pincel. La transmisión del virus por la progenie de cada cruce se determinó probando de 3 a 5 grupos por cruce, cada uno con 2-10 insectos, dependiendo de la cantidad de progenie producida por cada hembra. Cada grupo se transfirió a una planta sana cada 10 días; se hicieron tres transferencias.

4. Pruebas sobre el efecto de la temperatura en incubación y transmisión del VRFM

De la colonia madre se tomaron 6 grupos de ninfas entre el 3º y 4º instar, siendo desconocido el número de insectos por grupo. Dichos grupos se distribuyeron de la siguiente manera: Dos grupos fueron confinados a cada una de las siguientes temperaturas: $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$. De los dos grupos uno se ponía a adquirir el virus sobre hojas de plantas enfermas y el otro se mantenía como testigo sobre plantas sanas.

El período de adquisición fue de 7 días a las temperaturas indicadas, con 3 días adicionales de permanencia, a las mismas temperaturas, sobre plantas sanas. A partir del día 10^o se formó con cada grupo en adquisición, 5 colonias de 10 insectos cada una, y con el grupo testigo una colonia de 10 individuos. Para determinar si había diferencias en la duración del período de incubación del virus a cada temperatura, las colonias se pasaron a una nueva planta cada 2 días durante 20 días consecutivos, llevándose además un registro de transmisión de cada una de ellas.

Las colonias probadas a 20+1°C fueron confinadas en una cámara de temperatura controlada, la cual era de estructura metálica y medía 177,5 cms. de alto, por 90 cms. de ancho, y 67,5 cms. de profundidad. Mediante un mecanismo de reloj la cámara se graduó de tal manera que tuviera la temperatura de 20+1°C durante las 24 horas del día y que la iluminación dentro fuera de 12 horas diarias en forma similar a como ocurría en el exterior. Dicha cámara funcionaba con electricidad.

Las probadas a 25+1°C fueron mantenidas en un cuarto de crecimiento de 275 cms. de altura, por 275 cms. de ancho y 275 cms. de longitud. También mediante un mecanismo de reloj era posible mantener la temperatura constante durante las 24 horas del día, y la iluminación durante 12 horas que coincidían con la de la luz del día. En este caso la energía necesaria para ventilación e iluminación del cuarto provenía de un motor eléctrico situado en las inmediaciones del mismo.

Las colonias probadas a 30+1°C fueron retenidas en una cámara similar a la de 20+1°C pero sus dimensiones eran 107 cms. de alto, por 143 cms. de ancho, y 71,5 cms. de profundidad. También mediante un mecanismo de reloj se le dieron a las colonias 24 horas a 30+1°C y 12 horas diarias de iluminación. La cámara también funcionaba con electricidad.

Para estudiar el efecto de la temperatura en la transmisión del VRFM, se tomaron 2 grupos, de números desconocidos de insectos. Un grupo más grande se puso a adquirir el virus a $25^{\pm}1^{\circ}\text{C}$ mientras el otro servía como testigo a fin de probar que la colonia original estaba libre de virus. El período de adquisición fue de 7 días con 7 días de incubación sobre plantas sanas, todo a $25^{\pm}1^{\circ}\text{C}$. A partir del día 14 se formaron 15 colonias de 10 individuos cada una del grupo que tuvo acceso a una fuente de virus, y con el grupo testigo se formó una colonia de 10 individuos. Posteriormente se procedió a confinar en las cámaras de crecimiento 5 colonias a $20^{\pm}1^{\circ}\text{C}$, 5 colonias a $30^{\pm}1^{\circ}\text{C}$ y 6 colonias incluyendo el testigo se mantuvieron a $25^{\pm}1^{\circ}\text{C}$. Cada colonia se pasó a una nueva planta cada 2 días durante 16 días consecutivos.

Los resultados de todos los experimentos se analizaron estadísticamente mediante el método propuesto por Friederman y citado por Steel y Torrie (53).

5. Duración de los instares ninfales y del adulto de *D. maidis*

Los huevos procedentes de un cruce entre una hembra sana y un macho también sano se removieron en la forma descrita en la sección 3, y se pusieron a incubar a $25^{\pm}1^{\circ}\text{C}$. Inmediatamente después que una ninfa nacía era trasladada a un talluelo de maíz de uno 4 ó 5 cms. de longitud, dicho talluelo estaba sumergido parcialmente en el agua contenida en un tubo de ensayo plástico de forma cónica. Este tubo era tapado con una pieza de hule, la cual estaba atravesada a su vez por un pequeño pedazo de manguera de hule que tenía la función de sostener una pequeña caja plástica cuyas dimensiones eran 5 cms. de alto, por 5 cms. de ancho, y 3 cms. de profundidad. A través del tubito de hule se introducía el talluelo de maíz, cuya raíz había sido removida a fin de detener su

crecimiento, quedando su parte inferior dentro del agua y las hojas dentro de la cajita; el talluelo e estas condiciones se mantenía fresco por unos 5 días, luego de lo cual se procedía a cambiarlo por uno nuevo. Por un pequeño orificio hecho en la caja se introducía la ninfa objeto de observación. Toda la estructura se sostenía sobre una gradilla de madera para tubos de ensayo. Lo anterior se ilustra en la (Figura 2.)

De un total de 18 ninfas, 11 completaron su desarrollo hasta adultos; estas ninfas fueron observadas diariamente dos veces al día desde el nacimiento hasta llegar a adultos, anotándose la fecha de cada muda y el tiempo que vivieron como adultos. La variedad de maíz utilizada fue Eto-blanco. Los adultos fueron mantenidos en plantas de maíz sembradas en macetas con tierra esterilizada.

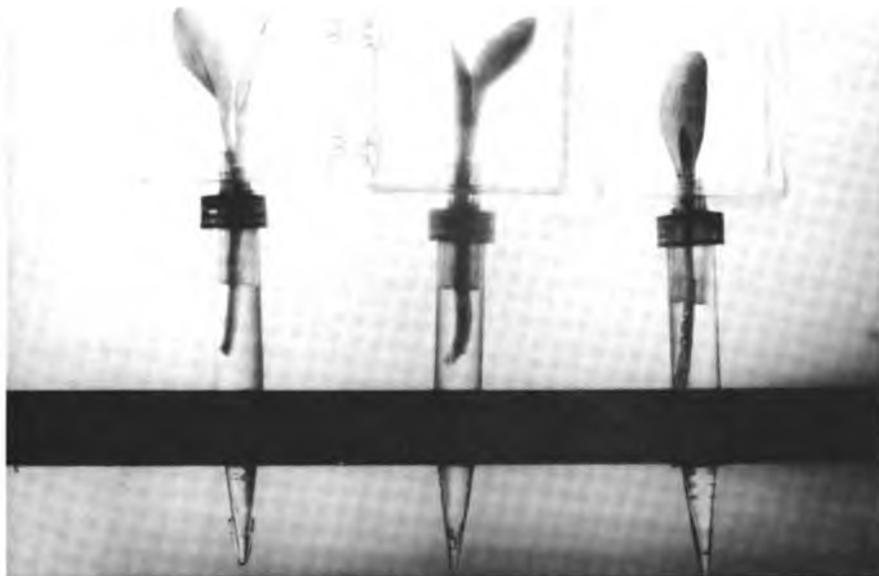


Figura 2. Talluelos de maíz colocados en tubo de ensayo con agua, y sus hojas mantenidas en una caja plástica, en la forma usada en los estudios sobre la biología del insecto vector D. maidis.

RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados experimentales, y la interpretación de los mismos.

1. Longevidad de insectos de la especie *Dalbulus maidis* transmisores y no transmisores del VRFM

Las observaciones realizadas durante todo el ciclo de vida de 27 insectos transmisores y 41 no transmisores mostraron un promedio de vida de 33,6 días para los transmisores y 29,6 días para los no transmisores, dicha diferencia no es obvia ($\chi^2 = 0,60$. $P > 0,05$), tal como se puede apreciar en el Cuadro 1, y en la Figura 3. Esto parece indicar que la longevidad de los saltahojas no fue afectada por el hecho de que ellos transmitieran o no el VRFM.

Haciendo comparaciones con base al comportamiento del vector con el otro virus que transmite al maíz, o sea el virus del achaparramiento, se encontró que nuestros resultados concuerdan con los observados por Hildebrand (28) de que tanto el saltahoja infectado como el sano tenían la misma duración del ciclo de vida. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, sí se conocen casos donde un virus disminuye la longevidad de un insecto vector (31, 35, 49).

Cuadro 1. Longevidad de insectos de la especie Dalbulus maidis transmisores y no-transmisores del VRFM¹.

Tipo de salta-hojas*	Registro de sobrevivencia													Longevidad Promedio (días)			
	Días de iniciado el experimento																
	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	91	98	105	112	
Transmisor	27**	27	25	24	22	20	17	16	11	7	3	1	1	1	0	0	33,6
No-transmisor	41**	41	36	28	21	14	14	10	5	5	4	3	3	2	1	0	29,6

1/ Virus del rayado fino del maíz.

* Insectos transmisores y no-transmisores de un grupo de 68 que tuvieron un período de adquisición de 5 días sobre plantas enfermas y 2 días de incubación sobre plantas sanas.

** Número de insectos vivos al momento de iniciarse cada período de 7 días. El día 1 fue el día que los insectos se colocaron en adquisición sobre plantas enfermas.

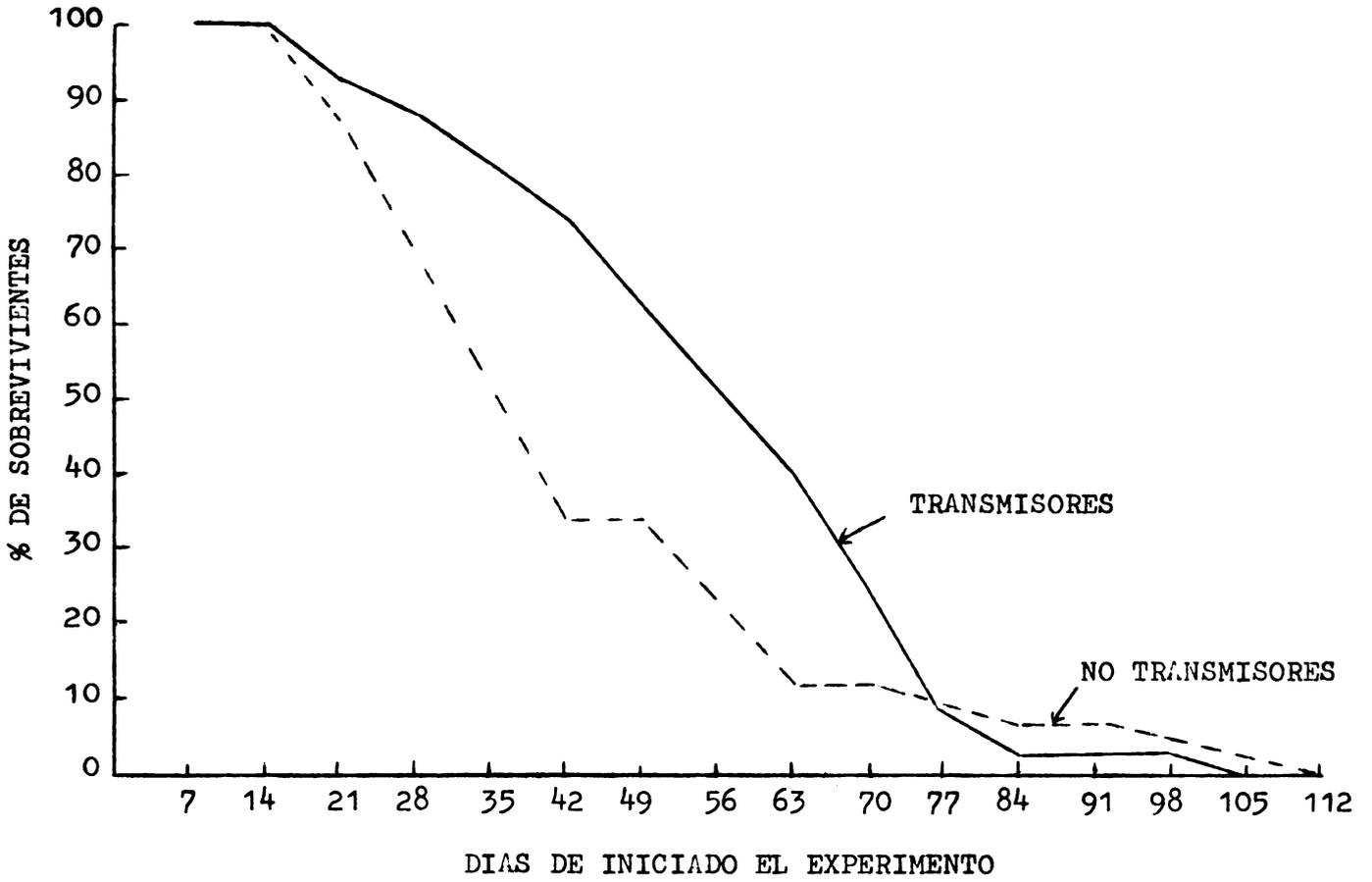


Figura 3. Longevidad de insectos de la especie Dalbulus maidis transmisores y no transmisores del VRFM.

2. Influencia del sexo de insectos de la especie *Dalbulus maidis* en su habilidad de transmisión del VRFM

Las pruebas sobre la influencia del sexo en la transmisión del VRFM, arrojaron un porcentaje de transmisión para los machos de 12,5 y de 46,9 para las hembras, aunque la diferencia parece ser amplia no fue estadísticamente detectable ($\chi^2 = 1,5$. $P > 0,05$). Se encontraron cuatro machos transmisores de 32 probados, y 23 hembras transmisoras de 49 probadas. Sin embargo, es de hacer notar que la persistencia en la transmisión es mayor con hembras que con machos, e igualmente que la longevidad de las hembras también es mayor que la de los machos. También se puede notar, en el Cuadro 2 y en la Figura 4 que para algunos días la diferencia en transmisión está a favor de las hembras aún cuando el promedio de esa diferencia no sea significativo.

En pruebas sobre transmisión del virus del achaparramiento del maíz por *D. maidis*. Granados y colaboradores (25) tampoco encontraron diferencias en la habilidad de transmisión de machos y hembras. En el caso de la raza norteamericana del virus del mosaico estriado del trigo tampoco se encontró diferencias obvias entre la transmisión de machos y hembras de *Endria inimica* (52).

3. Efecto de la edad de insectos de la especie *Dalbulus maidis* en su habilidad de transmisión del VRFM

Los resultados del experimento indican que el porcentaje de adquisición y transmisión de las ninfas estudiadas fue de 33,3 mientras el porcentaje de los adultos fue 28,5. De 51 ninfas probadas 17 resultaron

Cuadro 2. Influencia del sexo de insectos de la especie Dalbulus maidis en su habilidad de transmisión del VRFM.¹

Sexo*	Registro de transmisión Días de iniciado el experimento						Total transmi sores	% de transmi sores
	7	14	21	28	35	42		
Machos	2/32**	0/32	2/23	0/19	0/13	0/9	4/32	12,5
Hembras	1/49**	8/49	10/48	2/43	0/40	2/33	23/49	46,9

1/ Virus del rayado fino del maíz.

* Los insectos adquirieron el virus como ninfas del 3º y 4º instar y el período de adquisición fue de 5 días con 2 días de incubación sobre plantas sanas. El día 7 los insectos fueron transferidos a una planta sana, el día 14 a otra y así sucesivamente.

** Los insectos fueron probados individualmente. El numerador indica número de insectos transmisores durante ese período, y el denominador indica número de insectos probados en ese período. Para cada caso solo se indica el número de insectos que empezaron a transmitir por primera vez durante ese período.

transmisoras, mientras en adultos de 42 probados, 12 resultaron transmisores. La diferencia entre el número de insectos transmisores a lo largo del experimento no resultó estadísticamente significativa ($\chi^2 = 0,16$. $P > 0,05$), lo que nos indica que no hay diferencia en la capacidad de ninfas y adultos para transmitir el VRFM (Cuadro 3, Figura 5).

Al comparar nuestros resultados con los encontrados por otros investigadores con otros virus y vectores, notamos que los nuestros concuerdan con los encontrados por Slykhuis (52) al probar la habilidad de transmisión de ninfas y adultos de E. inimica que es el vector de la raza norteamericana del Mosaico estriado del trigo; él encontró que

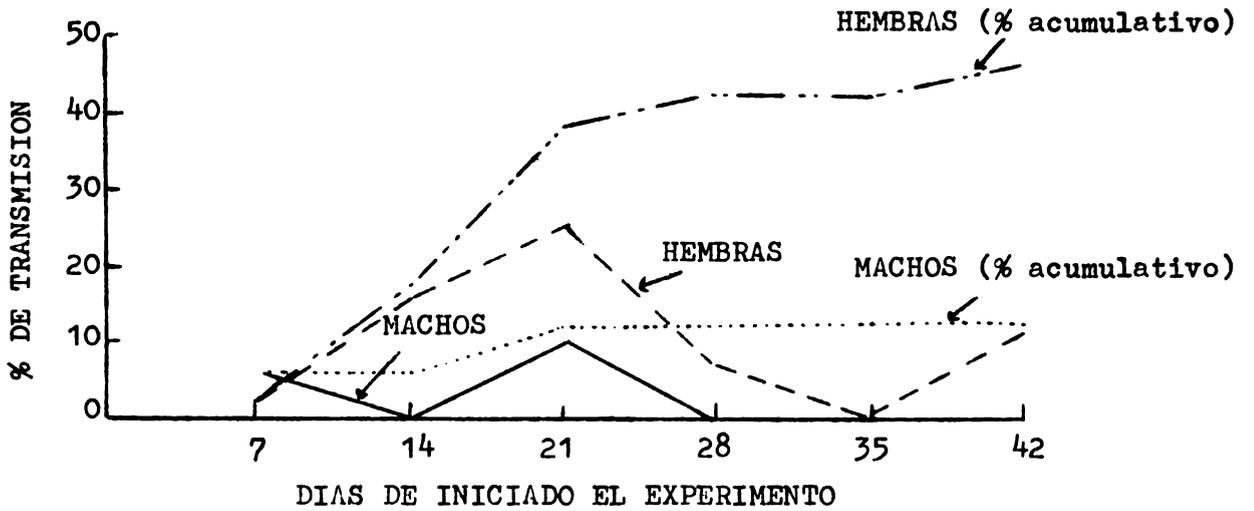
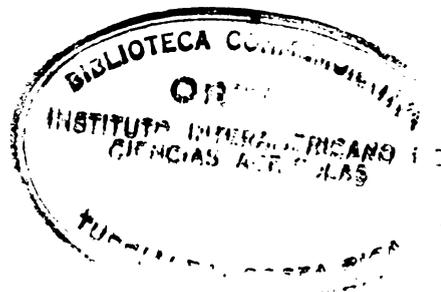


Figura 4. Influencia del sexo de insectos de la especie Dalbulus maidis en su habilidad de transmisión del VRFM.



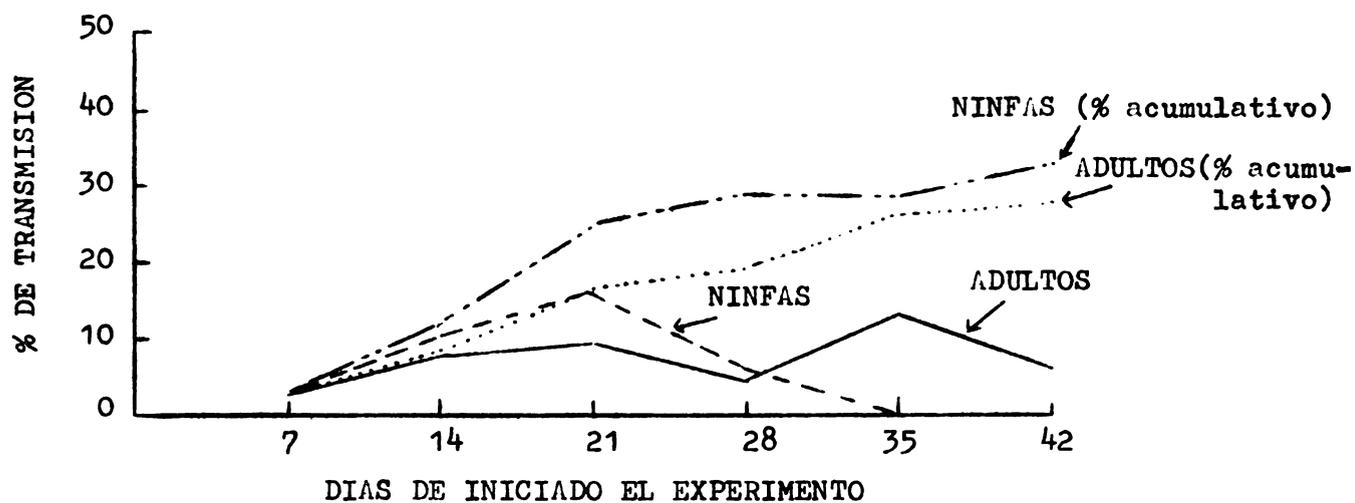


Figura 5. Efecto de la edad de insectos de la especie Dalbulus maidis en su habilidad de transmisión del VRFM.

transmitían 27 de 33 ninfas probadas (81,8%), 54 de 55 adultos hembras (97,7%) y 39 de 40 adultos machos (97,5%). En cambio Sinha (48,49) encontró que las ninfas de Agallia constricta eran mejores transmisores del virus del tumor de herida (WTV) que los adultos, y que las ninfas de Delphacodes pellucida también eran mejores transmisores del virus europeo del Mosaico Estriado del Trigo que los adultos.

Cuadro 3. Efecto de la edad de insectos de la especie Dalbulus maidis en su habilidad de transmisión del VRFM¹.

Edad de adquisición*	Registro de transmisión						Total transmisores	% de transmisores
	Días de iniciado el experimento							
	7	14	21	28	35	42		
Ninfa	1/51**	5/51	7/47	2/42	0/39	2/30	17/51	33,3
Adulto	1/42**	3/42	3/36	1/30	3/28	1/23	12/42	28,5

1/ Virus del rayado fino del maíz.

* Las ninfas probadas estaban entre el 3º y 4º instar. Tuvieron un período de adquisición de 5 días con 2 días de incubación sobre plantas sanas. Los adultos eran individuos recién emergidos y tuvieron el mismo período de adquisición que las ninfas. El número de insectos de cada sexo era aproximadamente igual.

** Numerador indica número de insectos transmisores durante ese período, y el denominador indica número de insectos probados en ese período. Para cada caso solo se indica el número de insectos que empezaron a transmitir por primera vez durante ese período.

4. Estudio sobre la transmisión del VRFM a la progenie de hembras transmisoras de Dalbulus maidis

De 110 insectos provenientes de cruces entre hembras transmisoras y machos no transmisores, reunidos en 18 colonias, ninguno resultó transmisor del VRFM, tal como se ve en el Cuadro 4. Dicha progenie fue producida por 4 hembras transmisoras que se cruzaron con 4 machos no transmisores. Del estudio anterior se deduce que el VRFM no se transmite transovarialmente a la progenie de hembras transmisoras. En general la cantidad de huevos puestos por hembras transmisoras y no transmisoras fue variable; hubo ejemplares que pusieron pocos huevos, mientras otro puso tanto como 32 en una sola hoja.

Comparando estos resultados con otros que aparecen en la literatura, encontramos que concuerdan con los de algunos investigadores y con otros virus. Así tenemos que Chiu y colaboradores (19) no encontraron transmisión transovarial del virus del Amarillamiento Transitorio del Arroz a través de su vector Nephotettix apicalis. También concuerdan con los obtenidos por Slykhuis (52) con la raza norteamericana del Mosaico Estriado del Trigo y su vector, E. inimica. En ambos casos se trataba de un virus cuyo patrón de transmisión era característico del tipo propagativo.

Cuadro 4. Estudio sobre la transmisión del VRFM¹ a la progenie de hembras transmisoras de Dalbulus maidis.

Cruce Nº*	Colonia Probadas	Registro de Transmisión		
		<u>Días de iniciado el experimento</u>		
		10	20	30
1	1	-(5)**	-(1)	-(1)
	2	-(2)	-(1)	
	3	-(8)	-(6)	-(6)
2	1	-(5)	-(1)	-(1)
	2	-(4)	-(1)	
	3	-(7)	-(3)	-(2)
	4	-(7)	-(2)	-(2)
	5	-(8)	-(7)	-(6)
3	1	-(5)	-(3)	-(3)
	2	-(5)	-(4)	-(3)
	3	-(6)	-(4)	
	4	-(10)	-(7)	-(7)
	5	-(6)	-(4)	-(4)
4	1	-(5)	-(4)	-(4)
	2	-(6)	-(5)	-(3)
	3	-(3)	-(3)	-(2)
	4	-(10)	-(4)	(4)
	5	-(8)	-(5)	-(4)
TOTAL	18	-(110)	-(65)	-(52)

1/ Virus del rayado fino del maíz.

* Los cruces se hicieron de hembras transmisoras con machos no-transmisores, ambos tipos se seleccionaron de un grupo de insectos que se puso a adquirir el virus como ninfas del 3º y 4º instar. La adquisición duró 5 días con 2 días adicionales de incubación sobre plantas sanas. A los 21 días de iniciado el experimento se hicieron los respectivos cruces.

** () indica el número de insectos hijos que formaban la colonia en cada transferencia; - indica ausencia de transmisión.

5. Efecto de tres temperaturas sobre la duración del período de incubación del VRFM en su vector *Dalbulus maidis*

Los resultados de este experimento están indicados en el Cuadro 5 y en la Figura 6. Se determinó que las temperaturas de $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ no afectaron la duración del período mínimo de incubación que fue de 10 días en los dos primeros casos, y de 12 días en el tercer caso. Sin embargo, el número de colonias que transmitieron a lo largo del experimento, si fue afectado por dichas temperaturas. Se encontró que la diferencia entre estos valores no fue significativa entre $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ($\chi^2 = 1,4$. $P > 0,05$) y tampoco entre $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ($\chi^2 = 2,27$. $P > 0,05$), pero si fue significativa entre $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ($\chi^2 = 7,36$. $P < 0,05$). El número total de colonias que transmitieron fue de 4 a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 4 a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y 1 a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Pero hay que tener presente que la transmisión de las colonias dentro de cada temperatura no fue simultánea y constante, sino que el número de colonias transmisoras variaba a través de los días, tal como se nota en la Figura 6, esto explica la ausencia de significancia en los casos anteriores.

Nuestros resultados concuerdan con los encontrados por Gámez (21) para el mismo virus. El encontró que a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ya había transmisión 8 - 10 días después de la adquisición, aunque en la mayoría de los casos el período de incubación era de 21 días en promedio. En el resto de la literatura se da cuenta de un experimento similar conducido por Maramorosch (40) con el virus del Tumor de herida; él encontró que las temperaturas mayores de $32,5^{\circ}\text{C}$ afectaban el período de incubación del virus en *A. constricta*, de tal forma que a 37°C no había transmisión; igual fenómeno notó con las temperaturas bajas.

Cuadro 5. Efecto de tres temperaturas sobre la duración del periodo de incubación del VRFM¹ en su vector Dalbulus maidis.

Temperaturas y Colonias	Registro de transmisión Días de iniciado el experimento*											
	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
20+10C	1	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	+(9)	+(9)	-(9)	-(7)	-(7)	+(7)
	2	-(10)	-(10)	-(8)	-(8)	-(7)	-(7)	-(7)	-(7)	-(7)	-(6)	-(4)
	3	-(10)	+(10)	+(10)	-(10)	-(8)	+(8)	-(8)	+(8)	+(8)	+(3)	+(3)
	4	-(10)	+(10)	+(10)	+(10)	+(10)	+(7)	+(7)	+(7)	+(6)	+(6)	+(3)
	5	+(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	+(8)	+(8)	+(8)	+(8)	+(7)	+(7)
Testigo	6	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(9)	-(8)	-(7)	-(7)	-(7)
25+10C	7	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(8)	-(7)	-(7)	-(7)	-(6)	-(5)	-(4)
	8	-(10)	+(10)	+(8)	+(8)	-(7)	-(7)	-(7)	-(7)	-(7)	-(7)	-(7)
	9	+(10)	+(9)	-(8)	-(8)	-(8)	-(6)	-(5)	-(4)	-(3)	-(3)	-(3)
	10	-(10)	-(10)	-(9)	+(8)	+(8)	+(8)	+(7)	-(7)	-(7)	-(5)	-(4)
	11	-(10)	+(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(9)	-(9)	-(9)	-(9)
Testigo	12	-(10)	-(10)	-(9)	-(9)	-(9)	-(9)	-(8)	-(8)	-(5)	-(4)	-(4)
30+10C	13	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(8)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(5)
	14	-(10)	-(7)	-(7)	-(7)	-(6)	-(5)	-(5)	-(3)	-(2)	-(1)	-(1)
	15	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(9)	-(8)	-(8)	-(8)	-(6)
	16	-(10)	-(10)	-(9)	-(8)	-(8)	-(8)	-(8)	-(7)	-(7)	-(5)	-(4)
	17	-(10)	+(10)	-(10)	+(9)	+(9)	-(9)	+(7)	-(6)	-(6)	-(5)	-(4)
Testigo	18	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(9)	-(6)	-(6)	-(4)

1/ Virus del rayado fino del maíz.

* Los insectos adquirieron como ninfas del 3º y 4º instar, y tuvieron 7 días de adquisición y 3 días de incubación sobre plantas sanas. Los insectos fueron transferidos a una planta sana el día indicado. Número de paréntesis indica los individuos por colonia al efectuarse la transferencia. - indica ausencia de transmisión, + indica transmisión a la planta.

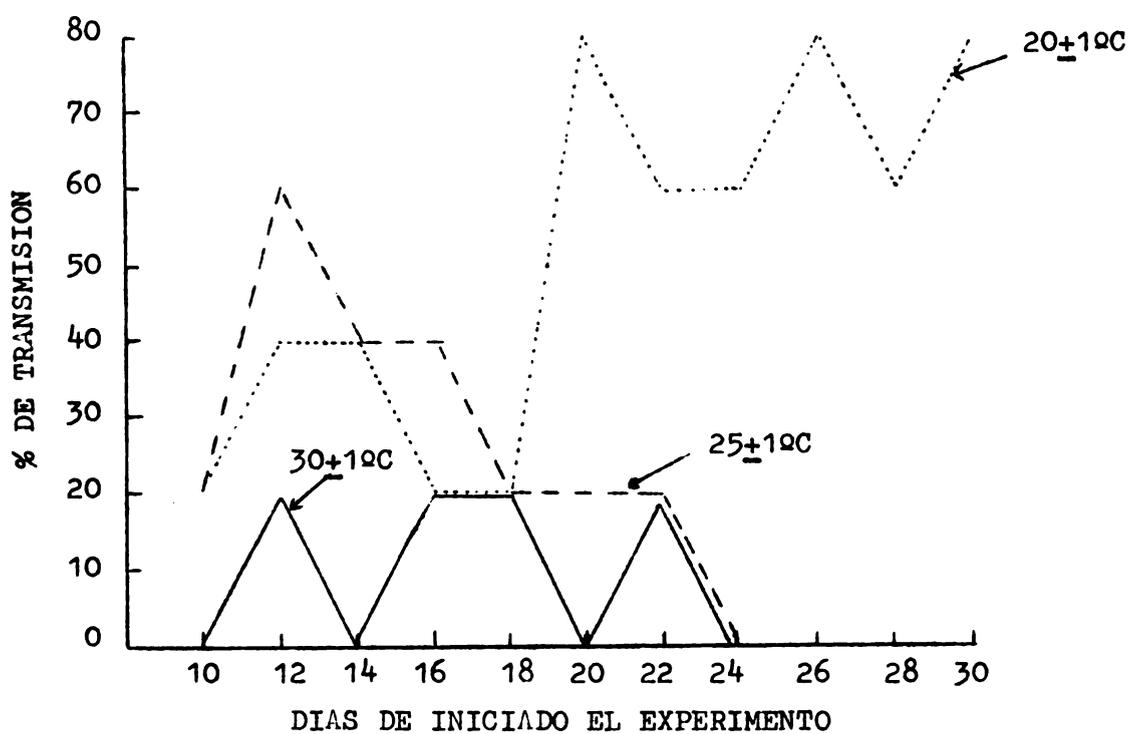


Figura 6. Efecto de tres temperaturas sobre la duración del periodo de incubación del VRFM en su vector Dalbulus maidis.

6. Efecto de tres temperaturas sobre la transmisión del VRFM por su vector *Dalbulus maidis*

Los resultados de este experimento, señalados en el Cuadro 6 y la Figura 7, indican que la transmisión a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ fue bastante similar a la transmisión a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y que en ambos casos el número de colonias transmisoras fue alto. Así a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ transmitieron las 5 colonias probadas y hubo transmisión, por una u otra colonias, desde el día 14 hasta el día 30 de iniciado el experimento, o sea durante todo el período de prueba, iguales resultados se obtuvieron con las colonias probadas a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

La temperatura de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ afectó la capacidad de transmisión de las 5 colonias probadas. Sólo 2 colonias resultaron transmisoras, una transmitió solo durante el período de prueba inicial, o sea del día 14 al 16, y la otra transmitió de los días 18 al 26.

Al analizar estadísticamente estos resultados, encontramos que no hubo diferencia significativa entre el número de colonias transmisoras a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ($\chi^2 = 0,11$. $P > 0,05$), pero la diferencia sí fue detectada entre $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ($\chi^2 = 7,11$. $P < 0,05$) y entre $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ($\chi^2 = 11$. $P < 0,05$). Esto indica que las altas temperaturas afectan la capacidad de transmisión del insecto.

Al comparar estos resultados con los obtenidos por Maramorosch (40) notamos que concuerdan en el hecho de que las temperaturas altas afectan la transmisión de un virus por un vector. Igualmente concuerdan nuestros resultados con los obtenidos por Kunkel, citado por Black (13, 14), quien inhibió la transmisión del virus del Amarillamiento del

Cuadro 6. Efecto de tres temperaturas sobre la transmisión del VRFM¹ por su vector Dalbulus maidis.

Temperaturas y Colonias	Registro de Transmisión Días de iniciado el experimento*									
	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
20 _± 10C	1	-(10)	+(10)	+(10)	+(10)	+(8)	+(5)	-(5)	-(4)	-(4)
	2	-(10)	+(9)	+(9)	+(9)	+(9)	+(8)	+(7)	-(7)	-(7)
	3	-(10)	+(10)	+(10)	+(10)	+(10)	+(10)	+(9)	+(8)	+(7)
	4	-(10)	-(10)	-(10)	+(10)	+(8)	+(8)	+(8)	-(8)	+(8)
	5	+(10)	-(10)	+(10)	+(10)	-(9)	+(8)	+(8)	+(7)	+(7)
25 _± 10C	6	-(10)	+(10)	+(10)	+(8)	+(7)	+(7)	+(6)	-(6)	-(6)
	7	-(10)	-(10)	+(10)	+(10)	+(10)	-(9)	-(9)	-(6)	+(6)
	8	-(10)	-(9)	+(8)	+(8)	+(6)	+(6)	+(5)	+(5)	-(5)
	9	+(10)	+(9)	+(9)	+(9)	+(7)	-(6)	+(6)	-(5)	-(5)
	10	+(10)	+(10)	+(10)	+(10)	+(9)	+(9)	-(8)	-(7)	-(6)
Testigo	11	-(10)	-(9)	-(9)	-(8)	-(6)	-(6)	-(4)	-(4)	-(4)
30 _± 10C	12	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)	-(6)	-(5)	-(4)	-(4)	-(4)
	13	-(10)	-(9)	+(9)	+(8)	+(6)	+(5)	+(5)	-(5)	-(5)
	14	-(10)	-(9)	-(9)	-(9)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
	15	+(10)	-(9)	-(8)	-(7)	-(6)	-(5)	-(5)	-(5)	-(5)
	16	-(10)	-(9)	-(9)	-(7)	-(7)	-(3)	-(3)	-(3)	-(2)

1/ Virus del rayado fino del maíz.

* Los insectos adquirieron como ninfas del 30 y 40 instar, y tuvieron 7 días de adquisición y 7 días de incubación sobre plantas sanas. Los insectos fueron transferidos a una planta sana el día indicado. Número en paréntesis indica los individuos por colonia al efectuarse la transferencia. - indica ausencia de transmisión, + indica transmisión a la planta.

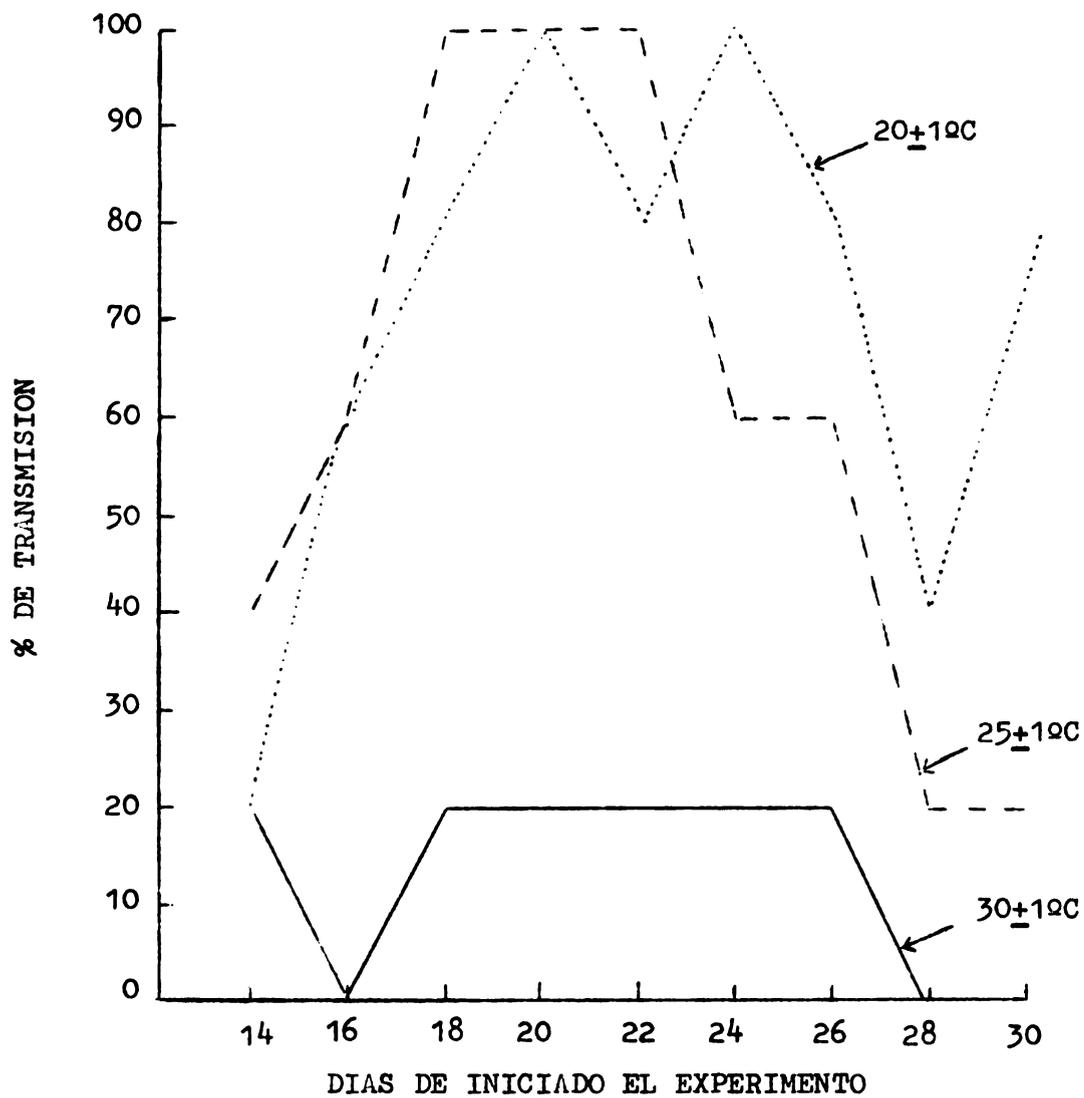


Figura 7. Efecto de tres temperaturas sobre la transmisión del VRFM por su vector Dalbulus maidis.

aster, cuando mantuvo a su vector M. fascifrons a 32°C. También resultaron idénticos a los obtenidos por Stegwee, citado por Maramorosch (41), quien al mantener a M. persicae, vector del virus del Enrollado de la hoja de la papa, a 35°C inhibió su habilidad para transmitir dicho virus.

7. Duración de los instares ninfales y del adulto de Dalbulus maidis a 25 ± 1°C.

Los resultados de este experimento se señalan en los Cuadros 7 y 8 y en la Figura 8. En ellos se observa que la duración promedio de los 5 instares ninfales fue de 15,62 días en 11 individuos observados. Los mismos 11 individuos tuvieron una longevidad promedio como adultos de 31,5 días, con un mínimo de 8 y un máximo de 63 días.

Cuadro 7. Duración de los instares ninfales de Dalbulus maidis criado sobre talluelos de maíz a 25 ± 1°C.

Insectos estudiados*	Duración en días	Instares					Promedio total del período ninfal
		1º	2º	3º	4º	5º	
	Mínima	3	2	2	2	4	
11	Máxima	4	3	3	4	6	
	Promedio	3,09	2,27	2,81	2,91	4,54	15,62

* Los insectos nacieron de huevos puestos a incubar en platos Petri a 25 ± 1°C. Se observaron dos veces al día a fin de notar el cambio de instar.

Cuadro 8. Duración del estado adulto en 11 individuos de Dalbulus maidis mantenidos sobre maíz a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Individuo Nº*	Longevidad como adulto (días)
1	20
2	57
3	57
4	10
5	63
6	15
7	21
8	56
9	8
10	9
11	31
Promedio	31,5

* Los insectos fueron mantenidos en plantas de maíz sembradas en macetas, y se observaron diariamente a fin de determinar la fecha en que morían.

Nuestros resultados no difieren mucho de los encontrados, para el mismo insecto, por Granados y colaboradores (25), ya que el valor promedio encontrado por ellos fue de 18,5 días a $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ para los cinco instares ninfales. En cambio si difieren de los encontrados por Barnes (8) que fueron de 32,4 días a $19,6^{\circ}\text{C}$ en verano, y en invierno de 36,8 a $19,6^{\circ}\text{C}$, 35,5 a 17°C , y 55,2 a $12,8^{\circ}\text{C}$, para tres lugares diferentes. Por el contrario nuestros resultados de la duración promedio del adulto, concuerdan con el valor encontrado por Barnes, pero difieren del encontrado por Granados y colaboradores, los cuales fueron un mes a $19,6^{\circ}\text{C}$ y 56,5 días a $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

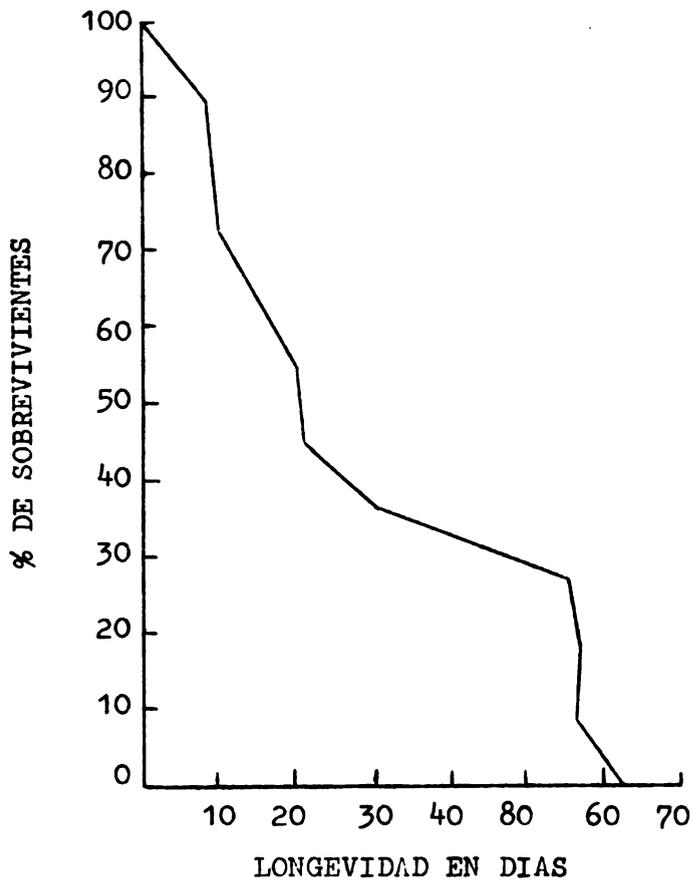


Figura 8. Duración del estado adulto en 11 individuos de Dalbulus maidis mantenidos sobre maíz a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

DISCUSION

Los resultados de este trabajo, en el que se estudiaron algunas de las relaciones virus-vector, de un nuevo virus del maíz encontrado en la Estación Experimental de la Universidad de Costa Rica, aportan indicios adicionales para sustentar la idea de que éste era un virus previamente desconocido del maíz. La información obtenida provee ade más datos de importancia para la caracterización de dicho virus.

De los datos obtenidos del estudio del efecto del VRFM sobre la longevidad de los saltahojas transmisores y no transmisores, podemos notar que no hubo diferencia apreciable en la duración de la vida de ambas clases de saltahojas (Cuadro 1, Figura 3). Cabe hacer notar que la longevidad de transmisores y no transmisores no pudo ser afectada por diferencia en la dieta, ya que esta fue idéntica para ambos grupos. Nuestras observaciones son similares a las realizadas por Hildebrand (28) quien notó que individuos de D. maidis transmisores y no transmisores del virus del Achaparramiento del maíz tenían igual longevidad. No es por lo tanto apreciable ningún efecto patológico del virus en el insecto, que cause a éste una reducción en su ciclo de vida. Esto no elimina desde luego la posibilidad de existencia de efectos patológicos de otro tipo.

Nuestro análisis estadístico de los datos de la influencia del sexo del vector en su habilidad de transmisión del VRFM no detectó diferencia entre machos y hembras al nivel del 5%, (Cuadro 2, Figura 4). Sin embargo, hay que hacer énfasis en que a través de las observa ciones individuales se notó que las hembras eran más persistentes en la transmisión del virus, y que además tenían una longevidad mayor

que los machos, lo cual puede contribuir al mejoramiento de la metodología de estudio del virus, utilizando en los experimentos solamente hembras.

En la habilidad de transmisión de ninfas y adultos no encontramos diferencia significativa, lo que nos demuestra que estos insectos pueden adquirir y transmitir el virus en cualquier etapa de su ciclo de vida, (Cuadro 3, Figura 5). Un hecho que notamos en las observaciones individuales, es la tendencia de los adultos a comenzar a transmitir más tarde, o sea a tener un período de incubación más largo. Otro dato de interés que es posible derivar de estos resultados, es que únicamente un 30% de los insectos de la colonia utilizados en estos estudios, puede adquirir y transmitir el virus. En otras palabras, y al igual que con otros virus (49), aparentemente existen para el VRFM razas o genotipos del insecto que son potencialmente transmisoras, mientras que otras no lo son. Esto nos da una base para suponer que puede presentarse una situación similar en condiciones de campo. Como el porcentaje de transmisores podría variar en una colonia, las oscilaciones en las poblaciones totales no podrían reflejarse necesariamente en el grado de incidencia de la enfermedad.

En lo que respecta al estudio sobre la transmisión del VRFM a la progenie de hembras transmisoras, nuestros resultados fueron totalmente negativos, es decir, no se observó transmisión transovarial del virus (Cuadro 4). Realmente esto indica que el mismo insecto no es uno de los reservorios naturales del virus. De hecho, el virus debe necesariamente contar con plantas hospederas naturales en las zonas productoras de maíz de Centroamérica, en las cuales permanece en las

épocas en que no se siembra este cultivo. De interés biológico, la ausencia de transmisión transovarial no significa de ningún modo ausencia de multiplicación en el vector, ya que ha sido demostrado por otros investigadores (19, 52), que hay algunos virus propagativos que no pasan a través del ovario de hembras transmisoras.

Al estudiar el efecto de tres temperaturas sobre la duración del período de incubación del VRFM en su vector, se encontró que la duración mínima de dicho período no fue afectada. En cambio, en algunos casos si parece haberse afectado la incubación como tal, o en todo caso la adquisición del virus. Se determinó que a las temperaturas de $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ transmitieron 4 colonias de las 5 probadas, mientras a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ transmitió solo una colonia, pero como las colonias no transmitieron en forma simultánea y constante, sino que por el contrario el número de colonias transmisoras varió con los días (Cuadro 5, Figura 6), al analizar estadísticamente estos resultados, se encontró que el número de colonias transmisoras a través del tiempo fue mejor a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ que a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, pero no fue mejor entre $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y entre $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ o sea que las colonias probadas a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ resultaron mejores transmisoras, quizás debido a que un mayor número de insectos por colonia adquirió o incubó el virus. Nuestros resultados no concuerdan con los encontrados por Maramorosch (40), quien sí observó aumentos en el período de incubación del virus del Tumor de Herida, al someter a su vector *A. constricta* a temperaturas de 16 y 20°C.

Como complemento al experimento anterior, se efectuó el estudio sobre el efecto de las mismas tres temperaturas sobre la habilidad

del vector para transmitir el VRFM cuando el virus tuvo un período de incubación largo (14 días) a la temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Nuevamente se observó que el número de colonias transmisoras a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, resultó muy superior al número de colonias transmisoras a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ que en este caso fue prácticamente una; es cierto que hubo otra colonia que transmitió a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ pero sólo lo hizo durante los dos primeros días de estar a esa temperatura luego de lo cual dejó de transmitir (Cuadro 6, Figura 7).

Estos resultados sí fueron estadísticamente significativos, o sea que entre el número de colonias que transmitieron a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ no hubo diferencia detectable, pero sí la hubo entre $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, y entre $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, lo cual indica que la capacidad de transmisión se mantiene a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ tanto como a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ pero en cambio a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ decrece. Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Maramorosch (40); Kunkel, citado por Black (13, 14), y Stegwee, citado por Maramorosch (41), quienes inhibieron la transmisión de tres virus diferentes por sus correspondientes vectores infectivos, sometiendo a estos últimos a temperaturas mayores de 30°C . Así concluimos que las altas temperaturas sí inhiben la transmisión del VRFM por su vector.

El estudio sobre la duración de los instares ninfales y del adulto de Dalbulus maidis demostró que la duración promedio de los cinco instares ninfales fue de 15,62 días, y la longevidad promedio del adulto de 31,5 días con un mínimo de ocho días y un máximo de 63 días, todo a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Cuadros 7 y 8, Figura 8). Los resultados de la duración de los instares ninfales se asemejan mucho a los encontrados

recientemente por Granados y colaboradores (25) quienes trabajaron a $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, pero difieren de los encontrados por Barnes (8) aunque este último autor trabajó a temperaturas mucho más bajas. Sin embargo en lo referente a la longevidad del adulto, nuestros resultados concuerdan con los de Barnes, pero difieren de los de Granados y colaboradores, probablemente la diferencia entre nuestros resultados y los de Granados y colaboradores se deben a diferencias en las condiciones de trabajo, entre las cuales podrían estar temperatura, horas de luz dada a los insectos, grado de humedad del ambiente, variedad de maíz utilizada en la cría y forma de manipular los insectos. Un hecho que refuerza los resultados referentes a la longevidad promedio del adulto, es que estos concuerdan con los encontrados en el experimento 1. La similitud de estos resultados refuerza aún más la afirmación de que el virus no afecta la longevidad de los saltahojas transmisores.

Este estudio de diferentes aspectos de las relaciones del virus con su vector también sugieren que puede tratarse de un virus propagativo, es decir de un virus de plantas que se multiplica también en su insecto vector. Dos son las razones que nos llevan a creer esto, en primer lugar su largo período de incubación, y en segundo lugar la conservación por parte del vector de su capacidad transmisora por largo tiempo. En el primer caso observamos que muchos individuos comenzaban a transmitir después de los 21 días de haber tenido acceso a una fuente del virus, observándose casos de insectos que comenzaron a transmitir 42 y 49 días después de la adquisición. También observamos que muchos insectos mantenían su capacidad de infectar plantas por 3 ó 4 semanas consecutivas, y en algunos casos hasta por 5 semanas,

luego de lo cual cesaban de transmitir sin que necesariamente esto indique ausencia de multiplicación en el vector, ya que ha sido recientemente demostrado por Sinha y Chiykowski (51) y por Paliwal (44) que el hecho de que individuos de E. inimica transmisores del virus del Mosaico estriado del trigo cesen en un momento dado de transmitirlo, no es de ninguna manera debido a ausencia de multiplicación del virus en el vector. De hecho para probar sin temor a equivocarse que el VRFM es un virus propagativo, es necesario realizar estudios adicionales que demuestren directamente la multiplicación del virus en su vector.

CONCLUSIONES

1. Longevidad de insectos de la especie *Dalbulus maidis* transmisores y no transmisores del VRFM

No se encontró diferencia obvia entre la longevidad de los insectos transmisores y los no transmisores del virus. La duración promedio de la vida fue de 33,6 y 29,6 días para los transmisores y no transmisores, respectivamente.

2. Influencia del sexo de insectos de la especie *Dalbulus maidis* en su habilidad de transmisión del VRFM

Se determinó que no había diferencia detectable con la prueba empleada, en la habilidad de transmisión de machos y hembras. El porcentaje de transmisión fue de 46,9 para las hembras y 12,5 para los machos.

3. Efecto de la edad de insectos de la especie *Dalbulus maidis* en su habilidad de transmisión del VRFM

No se detectó diferencia significativa entre el porcentaje de transmisión de ninfas y el de adultos del vector, los cuales fueron de 33,3 para las ninfas y 28,5 para los adultos.

4. Estudio sobre la transmisión del VRFM a la progenie de hembras transmisoras de *Dalbulus maidis*

Una progenie de 110 insectos provenientes de cruces de hembras transmisoras y machos sanos, se probó en colonias de 2 a 10 insectos,

ninguna resultó transmisora del virus.

5. Efecto de tres temperaturas sobre la duración del período de incubación del VRFM en su vector *Dalbulus maidis*

Se determinó que a las temperaturas de $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ el período mínimo de incubación fue de 10 días, pero aunque a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ el período de incubación fue solo de 12 días, el número de colonias que transmitieron, de un total de 5, fue de 1, mientras a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ fue de 4 y 4 respectivamente. De hecho, la duración no fue afectada por la temperatura de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, lo que afectó fue el número de colonias que pudieron transmitir el virus.

6. Efecto de tres temperaturas sobre la transmisión del VRFM por su vector *Dalbulus maidis*

Nuestros resultados indican que las temperaturas de $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ no afectan la habilidad de transmisión de *D. maidis* para el VRFM. En cambio la temperatura de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ redujo en la mayoría de los casos esta habilidad. A $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ transmitieron las 5 colonias probadas, igual cosa sucedió a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, mientras a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sólo transmitieron 2 colonias.

7. Duración de los instares ninfales y del adulto de *Dalbulus maidis* a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$

La duración promedio de los 5 instares ninfales fue de 15,62 días, mientras la longevidad del adulto fue de 31,5 días con un mínimo de 8 y un máximo de 63 días.

RESUMEN

Se estudiaron algunas fases de las relaciones virus-vector que pueden servir para caracterizar un nuevo virus del maíz, el cual es transmitido por Dalbulus maidis (De L. & W.) (Homoptera, Cicadellidae). Algunos aspectos de la biología del insecto vector también fueron estudiados.

La longevidad de insectos transmisores no fue afectada por el virus. Para los transmisores la longevidad promedio fue de 33,6 días, mientras para los no transmisores fue de 29,6.

Al estudiar la influencia del sexo del insecto en su habilidad para transmitir el virus, no se encontró diferencia estadísticamente detectable en la habilidad de hembras y machos para transmitir dicho virus, aún cuando el porcentaje de transmisión fue de 46,9 para las hembras y 12,5 para los machos.

Las pruebas para determinar si la edad a la que se adquiere el virus influye en la capacidad transmisora del insecto, indicaron que tanto ninfas como adultos podían adquirir y subsecuentemente transmitir, en proporción similar, el virus. Las ninfas tuvieron un porcentaje de transmisión de 33,3 y los adultos de 28,5.

No se encontró transmisión transovarial del virus a la prole de hembras transmisoras. Se probaron 110 insectos hijos reunidos en 18 colonias, y provenientes de 4 hembras infectadas.

Se determinó el efecto de tres temperaturas sobre la duración del período de incubación del virus en el vector y se encontró que la temperatura de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ inhibió en la mayoría de los casos la incuba-

ción del virus. A $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ el período de incubación y el número de colonias transmisoras fue de 10 días y 4 colonias de 5 probadas, mientras que a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ fue de 12 días pero transmitió solo 1 colonia de 5 probadas.

También se estudió el efecto de las mismas tres temperaturas sobre la capacidad de transmisión del virus por su vector, después de completarse el período de incubación a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y también se encontró que la temperatura de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ inhibió en muchos casos esta habilidad. A $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ transmitieron las 5 colonias probadas, igual cosa sucedió a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, mientras a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sólo transmitieron 2 colonias.

Finalmente se encontró que la duración promedio de los 5 instares ninfales de D. maidis fue de 15,62 días a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y que 11 adultos vivieron un promedio de 31,5 días con un mínimo de 8 y un máximo de 63 días.

SUMMARY

Different aspects of the relationships between a recently described corn virus and its insect vector, Dalbulus maidis (De L. & W.) (Homoptera, Cicadellidae) were studied in order to obtain further information on the identity of this virus. Certain aspects of the biology of the insect vector were also included in these investigations.

The longevity of insects was not affected by the virus. Average longevity of virus transmitters was 33.6 days, while that of the non-transmitters was 29.6.

No statistical difference in their ability to transmit the virus was found between male and female insects, even though percent transmission for both sexes were 46.9 and 12.5 respectively.

Both nymphs and adults proved to be equally efficient in their ability to acquire and transmit the virus. The percent transmission for nymphs and adults was 33.3 and 28.5 respectively.

The virus was not transmitted transovarially to the progeny of infected female. A progeny of 110 insects from 4 infected females proved to be free of virus.

The effect of 3 different temperatures on the incubation of the virus in the insect vector was determined. It was found that the incubation of the virus was inhibited at temperatures of $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, but not at $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ and $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$. The length of the incubation period, and the number of colonies out of 5 that transmitted the virus at $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ and $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ was 10 days and 4 colonies, while at

30 ± 1°C it was 12 days and 1 colony.

The effect of these same temperatures on the transmission of the virus, after the incubation period was completed at 25 ± 1°C, was also determined. It was also found that temperatures of 30 ± 1°C inhibited transmission, but not temperatures of 20 ± 1°C and 25 ± 1°C at which transmission was optimal.

The average duration of the 5 nymphal instars of D. maidis was 15.62 days at 25 ± 1°C. Eleven adults lived an average of 31.5 days, with a minimum of 8 and a maximum of 63 days.

LITERATURA CITADA

1. AGATI, J. A. y CALICA, C. A. Studies on the host-range of rice and corn leaf-gall virus. *Philippine Journal of Agriculture* 15(3-4):249-259. 1950.
2. ALTSTATT, G. E. A new corn disease in the Rio Grande Valley. U.S. Dept. Agric. *Plant Disease Reporter* 29(20):533-534. 1945.
3. ANCALMO, O. Estudios realizados con achaparramiento del maíz en El Salvador. *In Reunión Centroamericana sobre Mejoramiento del Maíz, 8a., San José, Costa Rica, Marzo 12-16, 1962. Informe. México, D. F. pp. 79-83.*
4. _____. Labor desarrollada en El Salvador en relación con el vector del achaparramiento del maíz. *In Reunión Centroamericana sobre Mejoramiento del Maíz, 8a., San José, Costa Rica, Marzo 12-16, 1962. Informe. México, D. F. pp. 83-85.*
5. _____ y DAVIS, W. C. Achaparramiento (corn stunt). *Plant Disease Reporter* 45(4):281. 1961.
6. BAKER, R. E. D. Maize stripe disease. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 10(8):221. 1933.
7. _____. Stripe disease of maize. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 10(12):352. 1933.
8. BARNES, D. Biología, ecología y distribución de las chicharritas, Dalbulus climatus (Ball) y Dalbulus maidis (De L. & W.). México. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Oficina de Estudios Especiales. Folleto Técnico no. 11. 1954. 112 p.
9. BAWDEN, F. C. Transmission by animals while feeding. *In* _____ ed. *Plant viruses and virus diseases*. New York, Ronald Press, 1964. pp. 110-147.
10. BLACK, L. M. A plant virus that multiplies in its insect vector. *Nature* 166(11):852-853. 1950.
11. _____. Transmission of clover club-leaf virus through the egg of its insect vector. *Phytopathology* 38(1):2. 1948.
12. _____. Occasional transmission of some plant viruses through the eggs of their insect vectors. *Phytopathology* 43(1):9-10. 1953.

13. BLACK, L. M. Biological cycles of plant viruses in insect vectors. In Burnet, F. M., y Stanley, W. M. ed. The viruses; biochemical, biological, and biophysical properties. London, Academic Press, 1959. v. 2. pp. 157-184.
14. _____. Transmission of plant viruses by cicadellida. In Smith, Kenneth M., y Lauffer, Max A. ed. Advances in Virus Research. New York, Academic Press, 1953. v. 1, pp. 69-89.
15. BRANDES, E. W. Mosaic disease of corn. Journal of Agricultural Research 19(10):517-522. 1920.
16. BRITON-JONES, H. R. Stripe disease of corn (*Zea mays* L.) in Trinidad. Tropical Agriculture (Trinidad) 10(5):119-122. 1933.
17. CARTER, W. Virus-vector relationships. In _____ ed. Insects in relation to plant disease. New York, Interscience Publishers, 1962. pp. 528-591.
18. CELINO, M. S. y MARTINES, A. L. Mechanical transmission of a mosaic virus from abacá to corn. Philippine Agriculturist 39(7):377-387. 1955.
19. CHIU, R. et al. Transmission of transitory yellowing virus of rice by two leafhoppers. Phytopathology 58(6):740-745. 1968.
20. 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.
21. GAMEZ, R. Un nuevo virus del maíz transmitido por Dalbulus maidis. In Reunión Centroamericana sobre Mejoramiento de Cultivos Alimenticios, 8a., San Salvador, El Salvador, 1969. Proyecto Cooperativo Centroamericano. (en prensa)
22. GRANADOS, R. R. et al. Transmission of corn stunt virus by a new leafhopper vector, Graminella nigrifrons (Forbes). Contribution from Boyce Thompson Institute 23(7):275-280. 1966.
23. _____. Transmission of corn stunt virus by the leafhopper Daltocephalus sonorus Ball. Contribution from Boyce Thompson Institute 24(3):57-60. 1968.
24. _____, MARAMOROSCH, K. y SHIKATA, E. Mycoplasma: suspected of the National Academy of Sciences of the United States of America 60(3):841-844. 1968.

25. GRANADOS, R. R. et al. Corn stunt virus; transmission by three cicadellid vectors. *Journal of Economic Entomology* 61(5): 1282-1287. 1968.
26. HARPAZ, I. Calligypona marginata, vector del virus del nanismo rugoso del maíz. *FAO. Boletín Fitosanitario* 9(8):144-147. 1961.
27. _____, MINZ, G. y NITZANI, F. Nanismo del maíz. *FAO. Boletín Fitosanitario* 7(3):46. 1958.
28. HILDEBRAND, E. M. Baldulus maidis, leafhopper vector of corn stunt virus, Texas. (Abstract). *Phytopathology* 39(6): 496-497. 1949.
29. _____. The generation time of the leafhopper Baldulus maidis, in Texas. *Plant Disease Reporter* 38(8):572-573. 1954.
30. HOLDEMAN, Q. L. y McCARTNEY, W. O. Virus diseases of corn (Zea mays L.), a plant diseases detection aid. Sacramento, California, Bureau of Plant Pathology, 1965. 24 p.
31. JENSEN, D. D. Reduction in longevity of leafhoppers carrying peach yellow leaf roll virus. *Phytopathology* 48(8):394. 1958.
32. _____. Effects of plant viruses on insects. *Annals of the New York Academy of Sciences* 105(11):685-712. 1963.
33. KUNKEL, L. O. The corn mosaic of Hawaii distinct from sugar cane mosaic. (Abstract). *Phytopathology* 17(1):41. 1927.
34. LAWAS, O. M. y FERNANDEZ, W. L. A study of the transmission of the corn mosaic and of some of the physical properties of its virus. *Philippine Agriculturist* 32(3):231-238. 1949.
35. LITTAU, V. C. y MARAMOROSCH, K. Cytopathogenic effects of the aster yellow virus on its insect vector. (Abstract). *Phytopathology* 48(5):263. 1968.
36. MARAMOROSCH, K., ORENSKI, S. W. y SUYKERBUYK, J. New corn stunt isolates from field-infected corn in Florida, Louisiana, and Mississippi. *Phytopathology* 55(2):129. 1965.
37. _____. Cross-protection studies of two types of corn stunt virus. (Abstract). *Phytopathology* 47(1):23. 1957.
38. _____. The occurrence of two distinct types of corn stunt in Mexico. *Plant Disease Reporter* 39(12):896-898. 1955.

39. MARAMOROSCH, K. Two distinct types of corn stunt disease in Mexico. (Abstract). *Phytopathology* 46(4):241. 1956.
40. _____. Influence of temperature on incubation and transmission of the wound-tumor virus. *Phytopathology* 40(12):1071-1093. 1950.
41. _____. Arthropod transmission of plant viruses. *Annual Review of Entomology* 8:369-414. 1963.
42. MCKINNEY, H. H. Virus diseases of cereal crops. In U. S. Department of Agriculture. *Plant Diseases, Yearbook of Agriculture, 1953*. Washington, D. C., U. S. Government Printing Office, 1953. pp. 350-360.
43. NIEDERHAUSER, JOHN S. y CERVANTES, J. Transmission of corn stunt in Mexico by a new insect vector, Baldulus climatin. (Abstract). *Phytopathology* 40(1):20-21. 1950.
44. PALIWAL, Y. C. Changes in relative virus concentration in Endria inimica in relation to its ability to transmit wheat striate mosaic virus. *Phytopathology* 58(3):386-387. 1968.
45. ROSEN, H. R. Corn mosaic in Arkansas. (Abstract). *Phytopathology* 12(5):250. 1922.
46. _____. "Mosaic" disease of corn in Arkansas. (Abstract). *Phytopathology* 12(5):252. 1922.
47. ROSS, A. F. Identification of plant viruses. In Corbett, M. K. y Sisler, H. D. eds. *Plant Virology*. Gainesville, University of Florida Press, 1964. pp. 68-91.
48. SINHA, R. C. Effect of age of vector and of abdomen punctures on virus transmission. *Phytopathology* 53(10):1170-1173. 1963.
49. _____. Comparison of the ability of nymph and adult Delphacodes pellucida Fabricius, to transmit European wheat striate mosaic virus. *Virology* 10(3):344-352. 1960.
50. _____ y SHELLEY, SUE. The transovarial transmission of wound-tumor virus. *Phytopathology* 55(3):324-327. 1965.
51. _____ y CHIYKOWSKI, L. N. Multiplication of wheat striate mosaic virus in its leafhopper vector Endria inimica. *Virology* 32(3):402-405. 1967.

52. SLYKHUIS, J. T. Vector and host relations of North American wheat striate mosaic virus. *Canadian Journal of Botany* 41(8):1171-1185. 1963.
53. STEEL, R. G. D. y TORRIE, J. H. Nonparametric statistic. In _____ ed. Principles and procedures of statistics. New York, McGraw-Hill, 1960. pp. 400-411.
54. STONER, W. N. Leaf fleck, an aphid borne persistent virus disease of maize. *Phytopathology* 42(12):683-689. 1952.
55. _____. Insect transmission of maize streak virus. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 16(2):45. 1939.
56. WALKER, J. C. Enfermedades provocadas por virus. In _____ ed. Patología vegetal. Traducción de la 2a. ed. americana por Antonio Aguirre Azpeitia. Barcelona, Omega, 1965. pp. 551-632.
57. WELLMAN, F. L. Infection of Zea mayz and various other gramineae by the celery virus in Florida. *Phytopathology* 24(9):1035-1037. 1934.