

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTAL



**“ INTERACCION ENTRE EL PERIODO DE LATENCIA DE *Spiroplasma kunkelii*
EN SU VECTOR LA CHICHARRITA *Dalbulus maidis* (Homoptera:Cicadellidae)
Y UNA ESPECIE PARASITOIDE DE LA CHICHARRITA”**

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

ISKRA MARIANA BECERRA CHIRON

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO, JULIO 2004



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

COMITÉ DE TITULACIÓN

**C. ISKRA MARIANA BECERRA CHIRÓN
PRESENTE.**

Manifetamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción Tesis con el título "Interacción entre el periodo de latencia de *Spiroplasma kunkelii* en su vector la chicharrita *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) y una especie parasitoide de la chicharrita", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado/a como Director de dicho trabajo el/la **DR. GUSTAVO MOYA RAYGOZA**.

**A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, 12 de mayo del 2003

**DRA. MÓNICA ELIZABETH RIOJAS LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**



COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE
TÉCNICO SUPERIOR UNIVERSITARIO
EN CONTROL DE PLAGAS URBANAS
Y MANEJO DE ÁREAS VERDES

Handwritten initials: WBC, YJKA, etc.

Handwritten signature of M.C. Leticia Hernández López

**M.C. LETICIA HERNÁNDEZ LÓPEZ
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

c.c.p. **DR. GUSTAVO MOYA RAYGOZA**.-Director del Trabajo
c.c.p. Expediente del alumno

MERL/LHL/mam

C.DR. CARLOS ALVAREZ MOYA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACION
DE LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E

Forma C

Por medio de la presente nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Titulación modalidad Tesis e Informes, opción Tesis con el título: INTERACCION ENTRE EL PERIODO DE LATENCIA DE *Spiroplasma kunkelii* EN SU VECTOR LA CHICHARRITA *Dalbulus maidis* (HOMOPTERA:CICADELLIDAE) Y UNA ESPECIE PARASITOIDE DE LA CHICHARRITA, que realizo la pasante: ISKRA MARIANA BECERRA CHIRON con numero de código 395254519 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y, en su caso, programación de fecha de examen respectivo.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

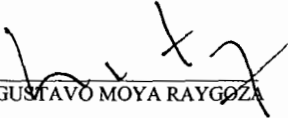
ATENTAMENTE

Las Agujas, Zapopan, Jal., a 21 de Junio del 2004

EL DIRECTOR DEL TRABAJO



EL ASESOR


Dr. GUSTAVO MOYA RAYGOZA


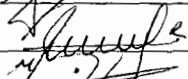
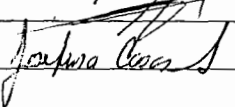
COORDINACION DE LA CARRERA DE
TECNICO SUPERIOR UNIVERSITARIO
EN CONTROL DE PLAGAS, HORMIGAS
Y MANEJO DE APAROS Y MAQUINAS
SINODALES

Dr. Gil Virgen Calleros

J. Jesus Ruiz Moreno

Hilda Cuevas Contreras

Josefina Casas Solis

Un agradecimiento muy especial a CONACYT por apoyar el proyecto con clave 38689-B titulado, "INTERACCION ENTRE INSECTOS VECTORES DE ENFERMEDADES A PLANTAS, PATÓGENOS Y ENEMIGOS NATURALES: UN ESTUDIO PIONERO" por otorgarme una beca para participar en este proyecto.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Gustavo Moya Raygoza, por darme la oportunidad de participar en este proyecto con él, por darme su confianza, paciencia y por hacerme ver que con dedicación y esfuerzo puedo alcanzar una meta importante como la realización de mi Tesis.

A mis padres porque gracias a ellos existo, y en todo lo que llevo recorrido de mi vida siempre han estado conmigo, apoyándome con amor y sabiduría. Les doy gracias también por siempre darme un buen ejemplo de responsabilidad, confianza y entrega. Y finalmente gracias por estar conmigo en este momento y enfrentar conmigo momentos difíciles de mi vida. Los quiero mucho.

Gracias a mi hermana porque me fue de gran ayuda por el simple hecho de ser ella y hacerme ver que cuando te propones algo puedes lograrlo.

A mi amigo y pareja Arturo porque siempre se preocupó por recordarme que tenía que hacer mi tesis con ganas y esfuerzo, por ayudarme en muchas ocasiones a traducir textos que me eran de gran ayuda y porque de una manera incondicional estuvo a mi lado todo el tiempo con su confianza y cariño. Gracias.

A mis amigas porque gracias a ellas no me sentí sola ni derrotada en muchos momentos, porque me ayudaron a salir adelante con cosas que no entendía o que no podía realizar, gracias amigas Nora Preciado y Fabiola Bobadilla principalmente, sin olvidarme de Fernanda Nuñez y Miriam De la Cruz personas que también apreció mucho. Y un agradecimiento muy especial a mi mejor amiga Nubia Chacon que siempre me apoyó y estuvo conmigo toda mi carrera profesional y en este proyecto. Gracias amiga por siempre ser un ejemplo y por darme tu cariño y amistad todo este tiempo, por estar junto a mí en las buenas y en las malas.

Y finalmente a todas las personas que me ayudaron en la realización de este trabajo, como mis sinodales, y compañeros del trabajo que sin ellos no hubiera sido posible la elaboración de este trabajo.

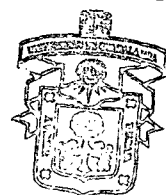
DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, a mi familia (primos, tios, etc.) porque me uno a la fila de personas exitosas. Pero principalmente le dedico este trabajo a mi propia persona y a Dios.

INDICE DEL CONTENIDO

| | |
|---|-----|
| AGRADECIMIENTOS..... | I |
| DEDICATORIA..... | II |
| INDICE DEL CONTENIDO..... | III |
| RESUMEN..... | IV |
| INTRODUCCION..... | 1 |
| ANTECEDENTES..... | 3 |
| Chicharrita (<i>Dalbulus maidis</i>)..... | 3 |
| Bacteria (<i>Spiroplasma kunkelii</i>)..... | 6 |
| Parasitoide (<i>Gonatopus bartletti</i>)..... | 8 |
| Periodo de latencia de patogenos e insectos vectores..... | 10 |
| JUSTIFICACION..... | 12 |
| HIPOTESIS..... | 13 |
| OBJETIVO..... | 13 |
| MATERIALES Y METODOS..... | 14 |
| RESULTADOS Y DISCUSION..... | 18 |
| CONCLUSIONES..... | 25 |
| LITERATURA CITADA..... | 26 |

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la interacción entre el periodo de latencia de la bacteria *Spiroplasma kunkelii* en su insecto vector la chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* y una especie parasitoide-depredadora (*Gonatopus bartletti*) de la chicharrita. *Dalbulus maidis* fue afectada negativamente en su sobrevivencia cuando *S. Kunkelii* tenía largo (18 días) e intermedio (10 días) periodo de latencia en *D. maidis* y la chicharrita fue parasitada por *G. bartletti*. Además, el periodo de latencia de *S. Kunkelii* en *D. maidis* no afecto positiva ni negativamente el desarrollo larval de *G. bartletti* dentro de *D. maidis*. Por otro lado, el mayor porcentaje de depredación por *G. bartletti* se encontró en adultos de *D. maidis* que tenían un periodo largo (18 días) de haber adquirido a *S. Kunkelii*.

**“ INTERACCION ENTRE EL PERIODO DE LATENCIA DE *Spiroplasma kunkelii*
EN SU VECTOR LA CHICHARRITA *Dalbulus maidis* (Homoptera:Cicadellidae)
Y UNA ESPECIE PARASITOIDE DE LA CHICHARRITA”**

Iskra Mariana Becerra Chiron

INTRODUCCION

La chicharrita *Dalbulus maidis* (DeLong y Wolcott) es un importante vector de tres patógenos que causan achaparramiento del maíz: el virus rayado fino del maíz, el espiroplasma del maíz (*Spiroplasma kunkelii* Kunkel) y el fitoplasma del maíz. En conjunto, estos patógenos son considerados como los factores limitantes mas importantes para la producción de maíz en América Latina (Nault 1990).

Spiroplasma kunkelii y *D. maidis* han desarrollado una asociación de mutualismo (Nault 1990). Se sabe que la infección del *S. kunkelii* protege a *D. maidis* de las temperaturas bajo cero. También las chicharritas infectadas pueden sobrevivir mas tiempo en hospederos que les proporcionan una calidad de vida pobre. Esto nos indica que en ciertas condiciones, la infección por *S. kunkelii* puede ser benéfica para su vector y es importante en las estrategias de sobrevivencia de *D. maidis*. Por otro lado, la chicharrita le proporciona hábitat al espiroplasma (Ebber y Nault 1994).

Los espiroplasmas son transmitidos de insectos a insectos vía plantas. Dichos espiroplasmas circulan y se multiplican internamente tanto en insectos como en plantas. Existe un tiempo de retraso, en el que se requieren semanas antes de que la siguiente planta pueda ser infectada. A este retraso de tiempo se le nombra periodo de latencia (tiempo necesario para que el vector transmita al patógeno desde que lo adquiere) (Purcell y Nault 1991).

Los insectos vectores pueden transmitirse a los patógenos después de alimentarse en plantas infectadas y una vez completando el periodo de latencia. El vector no puede transmitir el espiroplasma inmediatamente después de interactuar con la planta, pero comienza a transmitirse después de un periodo de 10 a 45 días, dependiendo de la temperatura (Agrios 1997). El periodo de latencia de *S. kunkelii* en *D. maidis* adultos es de 21 días a 25°C (Moya-Raygoza *et al.* 2002). El periodo de latencia se requiere para la multiplicación y distribución del espiroplasma dentro del vector (Agrios 1997).

Por otro lado, *Gonatopus bartletti* Olmi (Hymenoptera:Drynidae) es considerado como agente de control biológico debido a que es depredador y parasitoide de ninfas y adultos de *D. maidis*. Sin embargo no se sabe si este parasitoide se desarrolla dentro de *D. maidis* cuando recién el vector adquiere a *S. kunkelii* o cuando *S. kunkelii* completa su periodo de latencia. Por lo tanto, el propósito de este estudio es saber si a un mayor periodo de latencia *S. kunkelii* no permite el desarrollo del parasitoide dentro del vector *D. maidis*.

ANTECEDENTES

Chicharrita *Dalbulus maidis*

Las chicharritas del genero *Dalbulus* tienen como plantas hospederas al maíz y sus parientes cercanos; teosintes y *Tripsacum* (Nault 1990; Nault y DeLong 1980).

El maíz fue domesticado en México aproximadamente 10,000 años y con ello ocurrió la coevolución de *Dalbulus* sp. (Wilkes 1972;1979). Es en México y Guatemala que los parientes vivientes mas cercanos del maíz existen. Estos son los teosintes, de los cuales hay varias especies perennes y anuales. El hábitat de la teosintes es caracterizado por inviernos secos y veranos húmedos (Wilkes 1972;1979). Aparecen como hierba a los lados de los caminos y es común que se hibridizen con el maíz. Otro genero cercano al maíz es *Tripsacum*, que se encuentra casi en el mismo hábitat de los teosintes y es perenne (De Wet *et al.* 1976).

Dalbulus maidis es el insecto mas importante del maíz en América Latina. Esta especie de chicharrita transmite el patógeno "espiroplasma" del maíz (*S. kunkelii*) que impide el crecimiento de este cereal (Nault 1990).

Dalbulus maidis se encuentra en el sur de Estados Unidos, todo México y en las Islas del Caribe y en general en todas las regiones en las que se cultiva maíz y desde el nivel del mar hasta los 3,200m (Nault 1990).

Dalbulus maidis ha sido colectada en *Tripsacum*, después de la maduración de los campos de maíz, cuando el follaje se seca y temporalmente se pueden congregan en las hojas verdes de *Tripsacum* (Nault y DeLong 1980).

Las especies del genero *Dalbulus* lo forman chicharritas de tamaño pequeño. Las chicharritas adultas miden 3.0 – 4.4 mm de largo; los machos son de tamaño menor que las hembras y regularmente de color más oscuro. Las especies que se especializan en el maíz van del color amarillo claro hasta amarillo paja (Nault 1990).

Las tasas de desarrollo de *D. maidis* son rápidas durante el estado ninfal y la primera generación de adultos, estos utilizan la vena media del maíz para poner sus huevecillos, dichos adultos ovipositan en la vena media, dado que los tejidos del meristemo de la planta del maíz tienen una gran abundancia de nutrimentos y estos sirven de alimento a los huevecillos para que tengan un buen crecimiento. En estudios realizados con este organismo se ha descubierto que *D. maidis* infectados por la bacteria *S. kunkelii* forman una asociación mutualista (Nault 1990).

Los individuos de *D. maidis* de altitudes bajas (<750 m) que se alimentan de una planta de maíz infectada con el espiroplasma, la mayoría de ellos se vuelven virulentos y lo hacen rápidamente (como lo indica el periodo de latencia corto), siendo capaces de propagar el espiroplasma a plantas de maíz sanas en pocos días (Moya-Raygoza *et al.* 2002).

El periodo de latencia (tiempo necesario para que el vector transmita el patógeno desde que lo adquiere) puede verse afectado por la altitud del lugar en donde se encuentre la población de *D. maidis*. Tomando este factor en cuenta, se ha podido observar que las poblaciones de altitudes bajas son más eficientes en la transmisión del espiroplasma, debido a que su periodo de latencia es mas corto (Moya-Raygoza *et al.* 2002).

Mientras el maíz esta en periodo de crecimiento, *D. maidis* completa dos generaciones, con un incremento poblacional desde la primera a la segunda generación. La chicharrita del maíz es la única especie que en la primera generación de adultos se mueve dentro del maíz en espiral para depositar huevos, esta característica de las hembras es utilizada para buscar los nutrimentos necesarios para el desarrollo de sus huevos (Nault 1990). Los adultos de *D. maidis* que son abundantes a finales del verano desaparecieron de los campos de maíz, en senectud y se movieron a lugares de hibernación o migraron a elevaciones más bajas. A finales de abril y principios de mayo en la estación lluviosa se encuentran pequeñas poblaciones de *D. maidis* en maíz irrigado (Gordon *et al.* 1985; Nault 1985).

Cuando *D. maidis* ha sido infectada por la, *S. kunkelii* cruza la capa de la célula epitelial de *D. maidis*. La hemolinfa de la chicharrita se considera que es el principal lugar de replicación del espiroplasma (Alibizatos y Markham 1986).

Bacteria *Spiroplasma kunkellii*

El *S. kunkellii* provoca severas pérdidas de maíz en América Latina y ocasionalmente en el Sur Este de Estados Unidos (Nault y Bradfute 1979; Ozbek *et al* 2003) y es transmitido por las chicharritas del género *Dalbulus* (Ozbek *et al* 2003). El espiroplasma del maíz se distribuye preferentemente en altitudes bajas, debido a que es común encontrar plantas de maíz con síntomas por el espiroplasma desde el nivel del mar hasta los 1,000 m (Davis 1973; 1977; Nault 1983).

Spiroplasma kunkellii se encuentra en toda América Latina. Son células que varían en forma, miden de 100 a 240 nm de largo. Los espiroplasmas se pueden obtener de sus plantas hospedadoras o de sus vectores. Ellos producen sobre todo formas helicoidales en medios líquidos que se multiplican por la fisión, carecen de una pared celular verdadera y son limitados por una membrana de unidad. Los filamentos helicoidales son móviles, moviéndose por una ondulación lenta del filamento y probablemente por un movimiento rotatorio o en forma de hélice. No hay flagelo. Las colonias de espiroplasmas en agar tienen un diámetro de cerca de 0.2 milímetros, algunas tienen un aspecto típico de huevo frito, pero otras son granulares, tienen un periodo largo de latencia, se desarrollan muy bien a bajas y altas temperaturas (Purcell y Nault 1991; Agrios 1997).

Spiroplasma kunkelii pertenece a la clase mollicutes, en la que sus miembros carecen de pared celular y se originaron de un bajo DNA G/C ancestro de una gram positiva (Ozbek *et al* 2003). Los mollicutes son comúnmente patógenos de humanos y animales, pero los espiroplasmas y fitoplasmas habitan en insectos y plantas (Ozbek *et al* 2003). Solo tres especies de espiroplasma y todos los fitoplasmas son transmitidos a plantas por insectos, el cual es el sitio de alimentación de los homópteros incluyendo las chicharritas del maíz (Nault 1994).

El periodo de latencia del espiroplasma dentro de la planta hospedera es mas largo a temperaturas bajas de 18 °C y por arriba de los 32°C. Mientras que el periodo de latencia en el vector es mas largo entre los 25° a los 30 °C (Purcell y Nault 1991). El periodo de latencia del espiroplasma depende primeramente de la multiplicación de los espiroplasmas en sus vectores y el desarrollo de esto depende directamente de la temperatura (Whitcomb *et al.* 1985). Además, se ha encontrado que la transmisión del espiroplasma se reduce cuando el hospedero esta expuesto a temperaturas de 30 °C (Kunkel 1937; Lee 1961; Granados y Chapman 1968). A 25 °C aumenta la proporción de que el hospedero adquiera el espiroplasma como ninfa que como adulto (Murrall *et al.* 1996).

Los espiroplasmas pasan por el epitelio de la chicharrita y sobreviven en la hemolinfa, cruzan las capas de la células salivares y son introducidos en el floema de la planta con la saliva durante la alimentación de la chicharrita. Para cruzar esta barrera los espiroplasmas se deben adaptar continuamente a diferentes ambientes del insecto hospedero. Además se replican en varios órganos y tejidos del insecto (Nault 1997).

El espiroplasma es resistente a la penicilina y sensible a la tetraciclina. Los espiroplasmas cultivados de la planta pueden ser inyectados en sus insectos vectores, que entonces, al alimentarse en plantas sanas le transmiten el espiroplasma (Agrios 1997).

Parasitoide (*Gonatopus bartletti*)

Gonatopus bartletti fue reportado por primera vez en Puerto Rico, ahora se le ha encontrado también en nuestro país (Bartlett 1939; Olmi 1984; Vega y Barbosa 1990). El parasitismo por dryinidos ha sido observado en el estado de Jalisco, en la costa del pacífico y hacia el este del Estado de Veracruz en la costa del Golfo (Vega y Barbosa 1990).

Las hembras y los machos tienen diferentes características notables. La coloración más común de las hembras es la tonalidad amarilla rojiza, no posee alas, y da la impresión de ser una hormiga, sus antenas son filiformes y los ojos son de color verde-azulados. En cambio el macho parece una avispa, posee alas con venación regular, su coloración externa es oscura y carece de pinzas tarsales como la hembra (Quezada 1979).

Las larvas de *Gonatopus* pasan por cinco estadios. Las larvas del primer estadio son blanquecinas y curvadas, se encuentran parcialmente cubiertas por el corion, en cada muda la vieja cutícula queda atrapada entre el cuerpo del hospedero y el de la larva, cubriendo al nuevo estadio a manera de protección.

En el segundo estadio, hay un crecimiento sustancial de los individuos, se observan dos semianillos de color castaño pálido, uno dorsal y otro ventral. En las larvas del tercer estadio, el extremo posterior de las larvas se curvan levemente, pero no se observan cambios significativos en la morfología externa. En las larvas del cuarto estadio la parte posterior de las larvas siguen curvándose, apareciendo plegadas sobre si mismas, el gran tamaño de la larvas es característica de este estadio, los restos del corion en la región donde el cuerpo plegado de la larva hace intimo contacto con el tegumento del hospedador y en el quinto estadio son maduras, son apodas y prognatadas, de coloración blanquecina o levemente amarillenta, poseen una cabeza bien definida, tres segmentos torácicos y 10 abdominales, tienen dos antenas, sus mandíbulas son subtriangulares y esclerosadas (Virla y Mangione 1993).

Antes de transformarse en pupa, los individuos pasan por una etapa de prepupa que, en su aspecto exterior, es similar a larva madura. La pupa durante su transcurso muestra evidentes cambios a nivel del desarrollo de las estructuras apendiculares, las piezas bucales y el incremento de la pigmentación general (Virla y Manguione 1993).

Gonatopus bartletii necesita un promedio de 11.9 días desde su estado de huevo hasta su ultimo estadio larval. El saco larval que se desarrolla dentro de *D. maidis* se abre cuando la larva esta madura. Cuando la larva sale consume el contenido interno del huésped, dejando solo el exoesqueleto, causándole la muerte. La larva una vez que emerge comienza a elaborar su capullo y pupa.

Desde que se forma la pupa hasta que emerge la hembra, se requiere en promedio 13.3 días y para los machos 13.9 días. Las hembras de *G. bartletii* tienen una mayor longevidad que los machos, ya que duran aproximadamente 21.6 días mientras que los machos viven solo un día (Rios Reyes 2003).

El ciclo biológico de las hembras de *G. bartletti* dura en promedio 46.6 días a 25° +- 2°C, desde su oviposición hasta la muerte, mientras que para los machos es de 26.6 días en promedio a la misma temperatura (Rios-Reyes 2003).

PERIODO DE LATENCIA DE PATOGENOS EN INSECTOS VECTORES

Spiroplasma kunkelii tiene un tipo de transmisión persistente-propagativa análogo a los virus transmitidos bajo ese mecanismo. Los virus con transmisión persistente-propagativa se multiplican dentro de su vector. Se congregan en tres tipos de membranas en células del vector, incluyendo las que están mas adentro y algunas veces las que están mas afuera, como en el retículo endoplasmico o las glándulas salivares. Un largo periodo de latencia es considerado como fuerte indicador que estos virus son propagativos (Nault 1994). Los virus propagativos usualmente requieren mas tiempo para ser transmitidos, lo cual significa periodos de latencia mayores o iguales a una semana (Nault 1997).

El periodo de latencia es el tiempo que toma el virus para completar el ciclo en el vector, esto es desde su adquisición de la planta hasta su descarga en la saliva del vector. Esto es el periodo desde la primera exposición de un vector a

una planta infectada hasta que el vector puede inocular una planta sana. En estudios realizados con cicadélidos y delafácidos se ha visto que el virus es mas eficientemente transmitido cuando los insectos son ninfas que cuando son adultos. El tiempo de latencia es diferente según el virus y su vector (Cuadro 1), el periodo de latencia de los virus propagativos esta registrado con una duración de tiempo mas largo, en comparación de los virus circulativos (Nault 1994).

CUADRO 1. VIRUS TRANSMITIDOS BAJO UN MECANISMO PERSISTENTE CON PERIODO DE LATENCIA LARGO

| VIRUS | GRUPO DE VIRUS | VECTORES | PERIODO DE LATENCIA (HORAS) |
|------------------------|----------------|---------------------------|-----------------------------|
| "Mosaico del Maiz" | Rhabdoviridae | <i>Peregrinus maidis</i> | 440 |
| "Estriado del Maiz" | Tenuivirus | <i>Peregrinus maidis</i> | 374 |
| "Tumor de la herida" | Reoviridae | <i>Agallia constricta</i> | 473 |
| "Rayado fino del Maiz" | Marafivirus | <i>Dalbulus maidis</i> | 384 |

Tomado de Nault (1994)

Los homópteros son los vectores principales de los virus persistentes propagativos. El aparato bucal de estos insectos es chupadora y perforadora, causa un mínimo daño si ello se alimentan de plantas. Dicho comportamiento alimenticio es bien adaptado a virus de plantas, que requieren células vivas para reproducirse. Además muchos homópteros se alimentan de tejidos específicos.

El floema es el lugar preferido de los homópteros y es en donde muchos virus de plantas residen (Nault 1997).

Cuando las chicharritas adquieren al virus oralmente de la planta, la adquisición mínima toma algunos minutos, lo cual es el tiempo para que los vectores alcancen el floema. Los vectores de virus de un género de virus de plantas son restringidos a un insecto en particular (Nault y Ammar 1989).

Para los géneros de virus transmitidos por los homópteros, los vectores frecuentemente son restringidos a miembros de la misma familia o familias relacionadas, aunque puede haber excepciones (Nault 1997).

JUSTIFICACIÓN

La enfermedad del achaparramiento del maíz, es un problema grave para toda América Latina y causa pérdidas económicas a un gran número de agricultores dedicados a producir maíz. Por esta razón es necesario realizar investigación sobre los organismos causantes de esta enfermedad entre los que se encuentran *S. kunkelii* y su vector, la chicharrita *D. maidis*. Con este estudio se dará a conocer la interacción del periodo de latencia de *S. kunkelii* dentro de su vector *D. maidis* y el parasitoide *G. bartletti*. Los resultados de este estudio tendrán un efecto positivo para agricultores de maíz en México y América Latina, los cuales podrían servir como referencia para otros casos de estudio donde es involucrado un insecto vector, el patógeno es transmitido por el vector y el parasitoide del vector.

HIPOTESIS

La hipótesis sugiere que a mayor periodo de latencia de *Spiroplasma kunkelii* dentro de su vector *Dalbulus maidis* existe mayor cantidad de la bacteria y esta no permite el desarrollo del parasitoide *Gonatopus bartletti*.

OBJETIVO

Determinar el efecto del periodo de latencia de *Spiroplasma kunkelii* en su vector *Dalbulus maidis* sobre el parasitoide *Gonatopus bartletti*.



BIBLIOTECA CENTRAL

MATERIALES Y METODOS

Se realizaron seis tratamientos, cada uno de ellos con 70 individuos. Cada tratamiento tuvo siete replicas y cada replica estuvo formada por 10 individuos adultos de *D. maidis*. Los individuos de cada replica fueron confinados a una caja tipo hoja. Los individuos de *G. bartletii* fueron colectados en el Grullo, Jalisco. Mientras que los individuos de *D. maidis* y las plantas de maíz enfermas por *S. kunkelii* fueron obtenidas de Colima, Colima y pasadas de planta a planta por *D. maidis*. Las plantas con síntomas tenían clorosis en la base de las hojas. Finalmente la variedad de maíz utilizada en los experimentos fue la tuxpeño.

Tratamiento 1 (*Dalbulus maidis* + *Spiroplasma kunkelii* (18 días) + *Gonatopus bartletii*)

Se determinó si el parasitoide se desarrolló dentro de *D. maidis* cuando primero la chicharrita adquirió la bacteria y esta última se encontró en grandes niveles dentro del vector y luego es parasitada. Para lograr lo anterior, se utilizaron adultos de una semana de edad para que adquieran el espiroplasma por 72 horas en plantas de maíz enfermas, luego los adultos fueron transferidos a plantas de maíz sanas, a los 18 días después de la adquisición cuando la mayoría de los individuos son transmisores y la bacteria se encuentra en grandes niveles, las chicharritas fueron expuestas al parasitoide *G. bartletti*. A los dos días después de haber expuesto las

chicharritas con el parasitoide se les determino cada 24 horas su sobrevivencia y si el parasitoide se desarrolla dentro de ellas. Se expuso una hembra de *G. bartletii* durante dos días en cada una de las cajas tipo hoja con 10 individuos de *D. maidis*.

Tratamiento 2 (*Dalbulus maidis* + *Spiroplasma kunkelii* (10 días) + *Gonatopus bartletii*)

Se determino si el parasitoide se desarrollo dentro de *D. maidis* cuando primero la chicharrita adquiere la bacteria y esta última se encontró en medianos niveles dentro del vector y luego es parasitada. Para lograr lo anterior, se utilizaron adultos de una semana de edad para que adquieran el espiroplasma por 72 horas en plantas de maíz enfermas, luego los adultos fueron transferidos a plantas de maíz sanas. A los diez días después de la adquisición las chicharritas fueron expuestas al parasitoide *G. bartletti*. A los dos días después de haber expuesto las chicharritas con el parasitoide, se les determino cada 24 horas su sobrevivencia y si el parasitoide se desarrolla dentro de ellas. Se expuso una hembra de *G. bartletii* durante dos días en cada una de las cajas tipo hoja con 10 individuos de *D. maidis*.

Tratamiento 3 (*Dalbulus maidis* + *Spiroplasma kunkelii* (2 días) + *Gonatopus bartletti*)

Se determino la sobrevivencia *D. maidis* cuando primero la chicharrita adquiere la bacteria y esta última se encuentra en bajos niveles dentro del vector y luego es parasitada. Para lograr lo anterior, se utilizaron adultos de una semana de edad para que adquirieran el espiroplasma por 72 horas en plantas de maíz enfermas, luego los adultos fueron transferidos a plantas de maíz sanas. A los dos días después de la adquisición, las chicharritas fueron expuestas al parasitoide *G. bartletti*. A los dos días después de haber expuesto las chicharritas con el parasitoide, se les determinara cada 24 horas su sobrevivencia. Se expuso una hembra de *G. bartletii* durante dos días en cada una de las cajas tipo hoja con 10 individuos de *D. maidis*.

Tratamiento 4 (*Dalbulus maidis* + *Spiroplasma kunkelii*)

Se determino la sobrevivencia de *D. maidis*, cuando la chicharrita es sólo infectada por la bacteria. Para lograr lo anterior, se utilizaron adultos de una semana de edad para que adquirieran la bacteria por 72 horas en plantas de maíz enfermas. Después del anterior periodo, las chicharritas fueron transferidas a plantas de maíz sanas. A los 18 días después de haber sido transferidas se les determino su sobrevivencia cada 24 horas.

Tratamiento 5 (*Dalbulus maidis* + *Gonatopus bartletti*)

Se determino la sobrevivencia de *D. maidis* cuando la chicharrita es sólo parasitada por *G. bartletti*. Para lograr lo anterior se utilizaran adultos de 21 días de edad. Dichos adultos fueron expuestos al parasitoide. A los dos días después de ser parasitados, se les determinó cada 24 horas su sobrevivencia y si el parasitoide, se desarrolla dentro de ellos. Se expuso una hembra de *G. bartletii* durante dos días en cada una de las cajas tipo hoja con 10 individuos de *D. maidis*.

Tratamiento 6 (*Dalbulus maidis*)

Se determino la sobrevivencia de *D. maidis* sanas (sin ser parasitadas ni adquieren la bacteria). Para lograr lo anterior se utilizaron adultos de cuatro semanas de edad. Estos fueron confinados en plantas de maíz sanas y cada 24 horas se les determino el número de individuos vivos.

Estos tratamientos se realizaron a temperatura de 25°C y 50 % de humedad relativa en una cámara de crecimiento. La comparación entre mas de dos tratamientos se efectuó con la prueba de Kruskal-Wallis a un nivel de $P=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las hembras de *G. bartletti* además de ser parasitoides son depredadoras y esta conducta fue investigada sobre los adultos de *D. maidis* que tenían diferente periodo de latencia (tiempo de haber adquirido la bacteria *S. kunkelii*). El porcentaje de depredación fue significativamente diferente ($H= 11,78$; $P= 0.008$) entre tres tratamientos (Cuadro 2). El menor porcentaje de depredación se encontró en adultos de *D. maidis* que tenían poco tiempo de haber adquirido la bacteria (tratamiento tres), con un promedio de depredación de 12.8%, mientras que el mayor porcentaje de depredación fue encontrado en adultos de *D. maidis* que tenían mucho tiempo de haber adquirido la bacteria (tratamiento uno) con un promedio de depredación de 51.4%.

Los individuos de *D. maidis* con un mayor periodo de latencia se observaron más lentos, dentro de las cajas experimentales y responder muy poco a los estímulos externos (ejemplo al tratarlos de atrapar con un aspirador). Por lo tanto, estos individuos posiblemente fueron mas depredados por las hembras de *G. bartletti* por ser mas fácil de atrapar. En términos de control esto es positivo, debido a que el periodo de latencia de *S. kunkelii* en *D. maidis* a 25 °C es de 21 días (Moya-Raygoza et al. 2002) y aquí se encontró que a 18 días después de haber adquirido a la bacteria, el vector es fácilmente atrapado y depredado, disminuyendo así los individuos vectores patogénicos.

Cuadro 2. Porcentaje promedio de depredación por *Gonatopus bartletti* sobre adultos de *Dalbulus maidis*. Los números en paréntesis indican el error estándar.

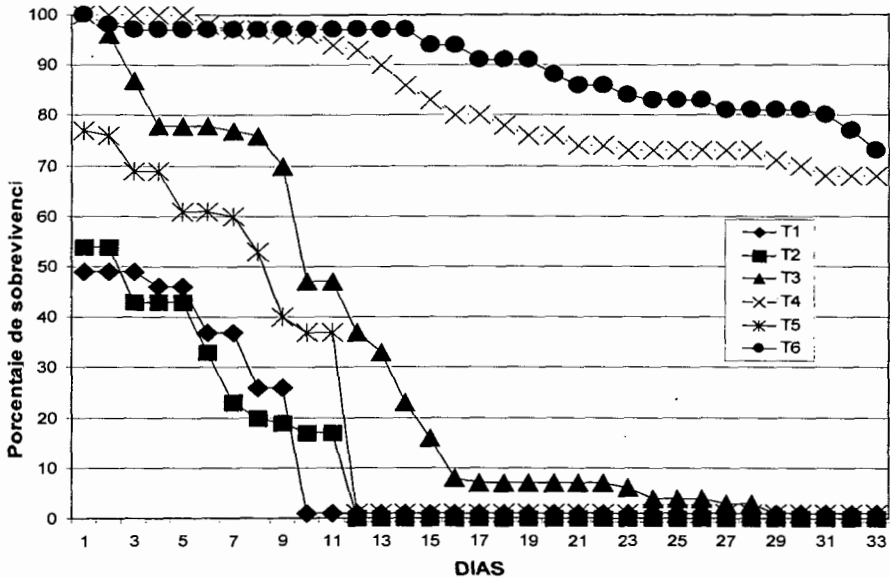
| Tratamiento 1 (<i>D.m</i> + <i>S.k</i> (18 días) + <i>G.b</i>) | Tratamiento 2 (<i>D.m</i> + <i>S.k</i> (10 días) + <i>G.b</i>) | Tratamiento 3 (<i>D.m</i> + <i>S.k</i> (2 días) + <i>G.b</i>) |
|---|---|--|
| 51.4 (11.8) | 45.7 (9.2) | 12.8 (5.2) |

La prueba Kruskal-Wallis indica que si existe diferencia significativa entre los tratamientos ($H = 11.78$, $P = 0.008$).

Este es el primer estudio que reporta la interacción entre el periodo de latencia de una bacteria en su insecto huésped y una especie de parasitoide que ataca al insecto huésped. Al investigar la sobrevivencia de *D. maidis* adultos en seis tratamientos, se encontraron los mayores porcentajes de sobrevivencia durante 33 días del estudio, cuando los adultos estuvieron sanos (tratamiento seis) y cuando fueron expuestos a la bacteria (tratamiento 4) (Figura 1). Estos resultados confirman lo reportado por Ebbert y Nault (1994), debido a que la bacteria no afecta negativamente al vector *D. maidis*. Por otro lado, los menores porcentajes de sobrevivencia de los adultos de *D. maidis* se encontraron cuando la bacteria tenía un periodo largo de latencia de 18 días (tratamiento uno) y un periodo de latencia intermedio de 10 días (tratamiento dos). Comparativamente a estos dos tratamientos, se encontró un mayor porcentaje de sobrevivencia de los adultos cuando estos contaban con un periodo de latencia corto (dos días). Por lo tanto, estos resultados sugieren la hipótesis que cuando el huésped es parasitado por *G. bartletti* y la bacteria tiene un mayor periodo de latencia en el huésped, el porcentaje de sobrevivencia del huésped disminuye.

A los cuatro días después de exponer los adultos de *D. maidis* con la hembra parasitoide *G. bartletti*, la larva originada de la oviposición de la hembra se encuentra en el segundo estadio. Mientras que a los ocho días de exponer los adultos con *G. bartletti*, la larva se encuentra dentro de la chicharrita en el cuarto estadio de desarrollo (Rios-Reyes 2003). A los cuatro días (segundo estadio larval) de exposición, se encontró una diferencia significativa ($H= 9.99$; $P= 0.01$) en el porcentaje promedio de sobrevivencia del huésped *D. maidis* entre cuatro

Figura 1. Supervivencia de *Dalbulus maidis* adultos bajo seis tratamientos.



1. *Dalbulus maidis* expuesta con la bacteria *S. kunkelii* por 18 días y después al parasitoide *G. bartletti*.
2. *Dalbulus maidis* expuesta con la bacteria *S. kunkelii* por 10 días y después al parasitoide *G. bartletti*.
3. *Dalbulus maidis* expuesta con la bacteria *S. kunkelii* por 2 días y después al parasitoide *G. bartletti*.
4. *Dalbulus maidis* expuesta con la bacteria *S. kunkelii*.
5. *Dalbulus maidis* expuesta a el parasitoide *G. bartletti*.
6. *Dalbulus maidis* (sanos) sin exponer al parasitoide y la bacteria.

Cuadro 3. Porcentaje promedio de sobrevivencia en adultos de *Dalbulus maidis* a los 4 y 8 días después de ser expuestos al parasitoide. Los números en paréntesis indican el error estándar.

| Tratamiento 1 (<i>D.m</i> + <i>S.k</i> (18 días) + <i>G.b</i>) | | Tratamiento 2 (<i>D.m</i> + <i>S.k</i> (10 días) + <i>G.b</i>) | |
|---|------------|---|-------------|
| Día 4 | Día 8 | Día 4 | Día 8 |
| 45.7 (11.3) | 25.7 (7.5) | 42.8 (8.9) | 20.0 (10.0) |
| Tratamiento 3 (<i>D.m</i> + <i>S.k</i> (2 días) + <i>G.b</i>) | | Tratamiento 5 (<i>D.m</i> + <i>G.b</i>) | |
| Día 4 | Día 8 | Día 4 | Día 8 |
| 78.5 (7.3) | 47.1 (9.6) | 68.5 (4.0) | 52.8 (10.4) |

Día 4 (H = 9.99, P = 0.01) Según la prueba de Kruskal-Wallis si existe diferencia.

Día 8 (H = 7.25, P = 0.05) Según la prueba de Kruskal- Wallis si existe diferencia.

tratamientos (Cuadro 3). Además, una diferencia significativa ($H= 7.25$; $P= 0.05$) en el promedio de sobrevivencia del huésped entre los cuatro tratamientos fue presente a los ocho días después de la exposición. En ambas fechas (cuatro y ocho días) el menor porcentaje de sobrevivencia se encontró en los tratamientos uno y dos, cuando la bacteria tenía 18 y 10 días de periodo de latencia, respectivamente. Los resultados anteriores muestran que a dos instantes de tiempo, el huésped es afectado negativamente en su sobrevivencia sólo cuando la bacteria tiene un mayor periodo de latencia y es parasitada, pero no cuando es parasitada y tiene poco periodo de latencia (dos días) o no tiene la bacteria (Cuadro 3).

A mayor periodo de latencia es esperado encontrar mayor multiplicación y concentración del patógeno dentro del huésped (Agrios 1997). En este caso la hipótesis del estudio fue que a mayor periodo de latencia (mayor cantidad de bacteria) el parasitoide es afectado negativamente. Sin embargo, los resultados del experimento no sostienen dicha hipótesis. Debido a que el periodo de latencia de la bacteria *S. kunkellii* no afecta significativamente ($H= 3.9$; $P=0.14$) el desarrollo de la larva del parasitoide *G. bartletti* dentro del huésped *D. maidis* (Cuadro 4). En el tratamiento uno, cuando el periodo de latencia por *S. kunkellii* en *D. maidis* fue de 18 días, el parasitismo fue de 31.4%, en el tratamiento dos, cuando el periodo de latencia por la bacteria en la chicharrita fue de 10 días, el parasitismo fue de 21.4%, y en el tratamiento cinco, cuando la chicharrita sólo fue parasitada por *G. bartletti*, el parasitismo fue de 47.7%. Los resultados anteriores sugieren que la presencia de *S. kunkellii* en el vector y el periodo de latencia que

Cuadro 4 .Porcentaje promedio de parasitismo por *Gonatopus bartletti* sobre *Dalbulus maidis*. Los números en paréntesis indican el error estándar.

| Tratamiento 1 (<i>D.m</i> + <i>S.k</i> (18 días) + <i>G.b</i>) | Tratamiento 2 (<i>D.m</i> + <i>S.k</i> (10 días) + <i>G.b</i>) | Tratamiento 5 (<i>D.m</i> + <i>G.b</i>) |
|---|---|--|
| 31.4 (7.9) | 21.4 (10.1) | 47.1 (7.7) |

La prueba Kruskal-Wallis indica que no existe diferencia significativa entre los tratamientos ($H = 3.9$, $P = 0.14$).

tiene *S. kunkelii* en el vector no afecta positivamente o negativamente al desarrollo del parasitoide dentro del vector *D. maidis*.

CONCLUSIONES

1. El mayor porcentaje de depredación por las hembras de *G. bartletti* se encontró en adultos de *D. maidis* que tenían mucho tiempo (18 días) de haber adquirido la bacteria *S. kunkelii*.
2. El huésped *D. maidis* es afectado negativamente en su sobrevivencia cuando es parasitado por *G. bartletti* y *S. kunkelii* tiene un mayor periodo de latencia en *D. maidis*.
3. El huésped *D. maidis* es afectado negativamente en su sobrevivencia cuando la larva del parasitoide se encuentra en segundo y cuarto estadio y *S. kunkelii* tiene un mayor periodo de latencia en *D. maidis*.
4. El periodo de latencia que tiene *S. kunkelii* en el huésped *D. maidis* no afecta positiva o negativamente el desarrollo larval del parasitoide en *D. maidis*.

Literatura Citada

- Agrios, G.N. 1997. Plant pathology. Editorial: Academic Press. Cuarta edición. San Diego California. USA. p 407 – 470.
- Alvizatos, A. S., y P. G. Markham. 1986. Acquisition and transmission of corn stunt spiroplasma by its leafhopper vector *Dalbulus maidis*. Ann. Appl. Biol. 108: 535 – 544.
- Bartlett, K.A. 1939. A drynid parasite attacking *Dalbulus maidis* in Puerto Rico. J. Agric. Univ. Puerto Rico 22: 497 – 498.
- Davis, R.E. 1973. Occurrence of a spiroplasma in corn stunt infected plants in Mexico. Plant Dis. Rev. 57: 333 – 337.
- Davis, R.E. 1977. Spiroplasma: Role in the diagnosis of corn stunt disease. Folia Entomol. Mex. 41: 113 –118.
- De Wet, J. M.J., J.R. Gray, y H. J. Harland. 1976. Systematics of *Tripsacum* (Gramineae). Phitologia 33: 203 – 227.
- Ebbert, M.A., y L. R. Nault. 1994. Improved overwintering ability in *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) vectors infected whit *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae). Environ. Entomol. 23: 634 – 644.
- Gordon, D.T., L.R. Nault, N.H. Gordon, S.E. Heady, 1985. Serological detection of corn stunt spiroplasma and maize rayado fino virus in field – collected *Dalbulus* spp. from Mexico. Plant Dis. 69: 108 – 111.

- Granados, R.R, y R.K. Chapman. 1968. Heat inactivation and interactions of four aster yellows virus strains in their vector, *Macrostelus fascifrons*. *Virology* 36: 333-342.
- Kunkel, L.O. 1937. Effect of heat on ability of *Cicadula sexnotata* (Fall) to transmit aster yellows. *Am. J. Bot.* 24: 316 – 372.
- Lee, P.E. 1961. Some studies on the aster – yellows virus and transmission by the six – spotted leafhopper *Macrostelus fascifrons*. Ph. D. dissertation, University of Wisconsin, Madison.
- Moya-Raygoza, G., L.R. Nault, S.A Hagenhut, y W.E. Styer. 2002. Variación en la transmisión del espiroplasma *Spiroplasma kunkelii* por poblaciones de la chicharrita del maiz *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). *Folia Entomol. Mex.* 41: 113-118.
- Murrall, D.J., L.R. Nault, C.W. Hoy, L.V. Madden, y S.A. Miller. 1996. Effects of temperature and vector age on transmission of two Ohio strains of aster yellows phytoplasma by the Aster Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *J. Econ. Entomol.* 89: 1224 – 1231.
- Nault, L.R., y O.E. Bradfute. 1979. Corn stunt: Involvement of a complex of Leaf hopper–born pathogens. Int: Harris, K, F., Maramorosch, K. (Eds.), leafhoppers and plant disease agents. Academic press, New York, pp 561 – 586.
- Nault, L.R., y D.M. DeLong. 1980. Evidence for co-evolution of leafhoppers in the genus *Dalbulus* (Cicadellidae: Homoptera) with maize and its ancestors. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 73: 349 – 353.

- Nault, L.R. 1983. Origins in Mesoamerica of maize viruses and mycoplasmas and their leafhopper vectors, pp. 259 – 266. In R.T. Plumb and J.M. Thresh, plant virus epidemiology: the spread and control of insect – borne viruses. Blackwell, Oxford, England.
- Nault, L.R. 1985. Evolutionary relationships between maize leafhoppers and their host plants. pp. 309 – 330. In L.R. Nault and J.G. Rodriguez. Eds. *The leafhoppers and planthoppers*. John Wiley & Sons. Inc., New York.
- Nault, R., y E.D. Ammar. 1989. Leafhopper and planthopper transmission of plant viruses. *Ann. Rev. Entomol.* 34: 503 – 529.
- Nault, L.R. 1990. Evolución de una plaga de insectos: el maíz y las chicharritas. Un estudio caso. *Biología, Ecología y conservación del genero Zea*. Benz. B.F. Copilador. Universidad de Guadalajara, pp 179 – 202.
- Nault, L.R. 1994. Transmission biology, vector specificity and evolution of planthopper – transmitted plant viruses, pp. 429 – 448. In R.F. Denno and T.J. Perfect, *Planthoppers., their ecology and management*. Chapman & Hall, New York.
- Nault, L.R. 1997. Arthropod Transmission of Plant Viruses: A New Synthesis. *Ann. Entomol. Soc. Am* 90: 521 – 541.
- Olmi, M. 1984. Revision of the Drynidae (Hymenoptera). *Mem. Amer. Entomol. Inst.* p 37: 1913.
- Ozbek, E., S.A. Miller, T. Meulia y S.A. Hogenhout. 2003. Infection and replication sites of *Spiroplasma kunkelii* (Class: Mollicutes) in midgut and

- Malpighian tubules of the leafhopper *Dalbulus maidis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 82: 167 - 175
- Purcell, A.H., y L.R. Nault. 1991. Interactions among plant pathogenic prokariotes, plants, and insect vectors. *Microbial Mediation of plant – herbivore interactions*. Edited by Pedro Barbosa. Vera. A. Krischik. and Clive. G. Jones. John Wiley and sons. Inc. New York, USA. p 384 – 405.
- Quezada J.R. 1979. Hallazgo de *Agonatopus sp.* (Hymenoptera: Drynidae) parasito del *Dalbulus maidis* (Homoptera:Cicadellidae) en el Salvador. *Ceiba* 23: 1 – 12.
- Rios Reyes, A.V. 2003. Control biológico de *Dalbulus maidis* (Homoptera:Cicadellidae) en su estado ninfal y adulto por su parasitoide *Gonatopus bartletti* (Hymenoptera:Drynidae). Tesis de licenciatura. Universidad de Guadalajara, pp 32.
- Vega, E.F., y P. Barbosa. 1990. *Gonatopus bartletti* Olmi (Hymenoptera: Drynidae) in Mexico: a previously unreported parasitoid of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong y Wolcott) and the Mexican leafhopper *Dalbulus elimatus* (Ball) (Homoptera: Cicadellidae). *Proc.Entomol.Soc.Washington* 92: 461 –464.
- Virla E.G., y S. Manguione. 1993. Morfología de los estados preimaginales de *Gonatopus chilensis* y consideraciones sobre las estructuras relacionadas a la nutrición de sus larvas inmaduras (Insecta: Hymenoptera: Drynidae). *Neotropica* 46:37 – 49.

- Whitcomb C.T., R.F. Tully, J.G. Mouches, C. Saillard, C. Bove, J.M. Wroblenski, H, Carle P., Rose, D.L., Henegar, R.B., y Williason, D.L. 1985. *Spiroplasma melliferum*, a new species from the honeybee (*Apis mellifera*). Int. J. Syst. Bacteriol. 35: 296- 308.
- Wilkes, H.G., 1972. Maize and its wild relatives. Science 177: 1071 – 1077.
- Wilkes, H.G., 1979. Mexico and Central America as a center for the evolution of maize. Crop Improvement 6: 1 – 18.