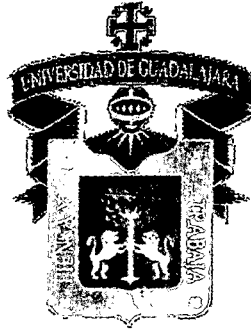


**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y  
AGROPECUARIAS  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**Efecto de la avispa *Gonatopus bartletti* (Hymenoptera: Dryinidae) en la sobrevivencia de *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) antes y después de adquirir la bacteria *Spiroplasma kunkelii*.**

**TESIS PROFESIONAL**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**NUBIA MIRLENE CHACÓN TORRES.**

**LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO, ABRIL DEL 2004**



**C. NUBIA MIRLENE CHACÓN TORRES  
PRESENTE.**

Manifestamos 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: **"EFECTO DE LA AVISPA *Gonatopus bartletti* (Hymenoptera: Dryinidae) EN LA SOBREVIVENCIA DE *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) ANTES Y DESPUÉS DE ADQUIRIR LA BACTERIA *Spiroplasma kunkelii*"**, 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**.

**ATENTAMENTE  
"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Zapopan, Jal., 13 de marzo del 2004



**DRA. MÓNICA EUIZABETH RÍOJAS LÓPEZ  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

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

c.c.p. **DR. GUSTAVO MOYA**.-Director del Trabajo  
c.c.p. Archivo

MERL/LHL/mam

C. DRA. MÓNICA ELIZABETH RIOJAS LÓPEZ  
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

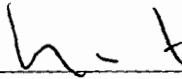
Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Titulación modalidad TESIS que realizó la pasante: NUBIA MIRLENE CHACÓN TORRES, código 395218121 con el título: EFECTO DE LA AVISPA *Gonatopus bartletti* (Hymenoptera: Dryinidae) EN LA SOBREVIVENCIA DE *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) ANTES Y DESPUÉS DE ADQUIRIR LA BACTERIA *Spiroplasma kunkelii*, consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión, en su caso, programación de fecha de examen respectivo.

A T E N T A M E N T E

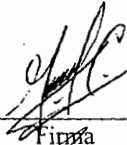
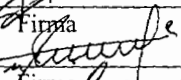
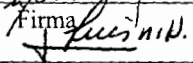
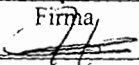
Las Agujas, Zapopan, Jalisco, a 23 de Marzo 2004.

EL DIRECTOR DEL TRABAJO



Dr. Gustavo Moya Ray   
SECRETARÍA DE LA CARRERA DE  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

SINODALES

- 1.- Dr. Gil Virgen Calleros. \_\_\_\_\_  
Firma 
- 2.- MC. J. Jesús Ruiz Moreno \_\_\_\_\_  
Firma 
- 3.- MC. J. Luis Navarrete Heredia \_\_\_\_\_  
Firma 
- 4.- MC. Hilda Cuevas Contreras \_\_\_\_\_  
Firma 

Se agradece enormemente el apoyo recibido por parte de CONACYT que ayudo a la realización del proyecto con clave 38689-B, titulado: "Interacciones entre insectos vectores de enfermedades a plantas, patógenos y enemigos naturales: un estudio pionero".

## AGRADECIMIENTOS

Le agradezco al Dr. Gustavo Moya Raygoza por el apoyo que me brindo al ser mi director de tesis.

Las aportaciones y colaboración de los profesores sinodales : Dr. Gil Virgen Calleros, MC. J. Jesús Ruiz Moreno, MC. J. Luis Navarrete Hereida, y la MC. Hilda Cuevas Contreras.

Un agradecimiento muy especial a mis padres por el apoyo moral y económico durante todos estos años.

## DEDICATORIA

Le dedico este trabajo al ente creador de la ambigüedad, y responsable de mi existencia.

A mi director de tesis Gustavo Moya Raygoza.

A mis padres.

Especial dedicación a mis mejores amigas Iskra Becerra y Nora Preciado.

## INDICE DEL CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	II
DEDICATORIA.....	III
INDICE DEL CONTENIDO.....	IV
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTECEDENTES.....	3
BACTERIA CAUSANTE DEL ACHAPARRAMIENTO DEL MAÍZ.....	3
LA CHICHARRITA DEL MAÍZ <i>Dalbulus maidis</i> .....	4
LA AVISPA <i>Gonatopus bartletti</i> , PARASITOIDE DE LA CHICHARRITA DEL MAÍZ.....	6
INTERACCION ENTRE HUESPED, PARASITOIDE Y PATOGENO (VIRUS O BACTERIA).....	7
JUSTIFICACIÓN.....	11
HIPÓTESIS Y OBJETIVO.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
CONCLUSIONES.....	25
BIBLIOGRAFÍA.....	26

## RESUMEN

En este trabajo se investigo la interacción entre un insecto vector de patógenos *Dalbulus maidis*, la bacteria *Spiroplasma kunkelii* y el parasitoide *Gonatopus bartletti*. Los resultados del estudio muestran que los adultos de *D. maidis* tienen un porcentaje mayor de sobrevivencia cuando son parasitados y luego adquieren la bacteria y cuando adquieren la bacteria y luego son parasitados. Además se encontró que la bacteria no impide el desarrollo larval del parasitoide cuando ambos habitan en *D. maidis*. Dicho desarrollo también no es impedido cuando el parasitoide necesita llegar a estado adulto. Por otro lado, la transmisión de la bacteria por *D. maidis* es afectada negativamente por el parasitoide. Los resultados anteriores sugieren que en este caso de estudio el parasitoide es favorecido cuando compete con la bacteria dentro del huésped *D. maidis*.



## INTRODUCCIÓN

A pesar de que puede haber más de un millón de especies de insectos, relativamente pocas llegan a convertirse en una plaga importante. La chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* (Delong & Wolcott), es una de las plagas más importantes en Latinoamérica (Nault 1990). Esta especie transmite tres patógenos: el espiroplasma del achaparramiento del maíz *Spiroplasma kunkelii* Kunkel, el fitoplasma del achaparramiento del maíz y el virus rayado fino del maíz (Nault 1980). La distribución de estos patógenos coincide con la distribución de la chicharra del maíz, la cual va desde el sur de los Estados Unidos (California, Florida, y Texas), hasta Argentina, incluyendo las Islas del Caribe (Nault 1983a).

Varias especies de insectos parasitan a la chicharrita del maíz, pero la más importante es la avispa *Gonatopus bartletti* Olmi (Hymenoptera: Drynidae) (Moya-Raygoza y Trujillo Arriaga 1993; Kathirithamby y Moya-Raygoza 2000). *Gonatopus bartletti* es la que tiene mayor distribución geográfica y mayor tasa de parasitismo en condiciones naturales, lo que sugiere que puede ser un agente de control biológico para disminuir las pérdidas producidas por los patógenos transmitidos por la chicharrita del maíz (Moya-Raygoza *et al.* 2004). A pesar de que *G. bartletti* es un agente de control biológico por matar al vector de *D. maidis*, poco se sabe sobre el efecto o la interacción entre esta especie de parasitoide y el espiroplasma del achaparramiento del maíz.

Por lo tanto, se realizó este estudio con el propósito de conocer la interacción que tiene el insecto vector *D. maidis* con su parasitoide *G. bartletti* y el patógeno *Spiroplasma kunkelii* transmitido por *D. maidis*.

## ANTECEDENTES

### BACTERIA CAUSANTE DEL ACHAPARRAMIENTO DEL MAÍZ.

*Spiroplasma kunkelii*, es un procarionte helicoidal, móvil, sin pared celular y representa un nuevo grupo de organismos patógenos, por lo cual el término espiroplasma fue conocido. Su forma helicoidal de las células es única de los miembros de la familia *Spiroplasmataceae* (Trachtenberg 1998; Trachtenberg y Gilad 2001).

Los espiroplasmas se multiplican por fisión y carecen de verdadera pared celular; teniendo tan sólo una membrana celular. Los espiroplasmas son filamentos móviles, se mueven por una ondulación lenta del filamento y probablemente por una rotación rápida de la hélice. No son flagelados y son resistentes a la penicilina, pero son inhibidos por la tetraciclina (Agrios 1997).

El patógeno *S. kunkelii* se multiplica y circula dentro de su vector *D. maidis* y la planta huésped. La ventaja de esta estrategia radica en que la densidad, dispersión y persistencia de la población del espiroplasma se incrementa dentro del insecto hospedero (Purcell 1982). Para poder ser transmitido por la chicharrita a otra planta hospedera, el espiroplasma tiene que cruzar el epitelio de la chicharrita, sobrevivir en la hemolinfa, cruzar la pared celular de la glándula salival e introducirse en la planta por medio de la saliva mientras la chicharrita se alimenta. Para cruzar estas barreras el espiroplasma se tiene que adaptar constantemente a diferentes ambientes en el insecto hospedero y además de replicarse en varios órganos y tejidos (Özbek *et al.* 2003). *S. kunkelii* infecta los tubulos de Malpighian de las células de sus insectos huéspedes (Granados 1969), y son los que presentan mayor infección con el espiroplasma en las chicharritas (Özbek *et al.* 2003).

Las chicharritas del maíz necesitan alimentarse varios días en plantas enfermas antes de que puedan adquirir a *S. kunkelii*, y un periodo de dos a tres semanas tiene que transcurrir antes de que el insecto pueda infectar a plantas sanas. Las plantas enfermas comienzan a presentar síntomas cuatro o seis semanas después de ser inoculadas por las chicharritas (Agrios 1997). Por otro lado, se registró que *D. maidis* sobrevive periodos largos y de forma saludable cuando adquiere *S. kunkelii* comparativamente con individuos sanos (Purcell 1988).

*Spiroplasma kunkelii* causa severos daños en el maíz en América Latina y América Central, y ocasionalmente en el sur de los Estados Unidos de América (Bradfute *et al.* 1977; Nault y Bradfute 1979; Hruska y Gómez Peralta 1997). 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 snm (Davis 1973, 1977; Nault 1983b).

#### LA CHICHARRITA DEL MAÍZ *Dalbulus maidis*.

La mayoría de las plagas de insectos que atacan al maíz tienen una amplia gama de hospederas, y adoptaron esta hospedera en la época precolombina. Una excepción es la chicharrita del maíz, *Dalbulus maidis*, cuyos orígenes se pueden remontar hasta los teosintes parientes del maíz. Todos los miembros del género *Dalbulus* usan como sus hospederas primarias al maíz, a los teosintes (*Zea*), o a los pastos del género *Tripsacum*. La mayoría de las especies de *Dalbulus* que se especializan en los *Tripsacum* son morfológicamente más primitivas que *D. maidis* y una segunda especie del maíz, *D. elimatus* (Ball), lo que sugiere

que *Tripsacum* es el género que ha servido como hospedero ancestral para el género *Dalbulus* (Nault 1990).

Algunas gramíneas pueden ser plantas hospederas de *D. maidis*. Dentro de ese grupo el maíz *Zea mays* L, y su pariente cercano, el teosinte *Euchlaena mexicana* Schrad, que crece silvestre, han indicado ser las más satisfactorias además de que *D. maidis* prosperó sobre maíz y teosinte, y no sobre cereales como trigo, cebada, avena, arroz, caña de azúcar y sorgo (Barnes 1954).

El género *Dalbulus* lo forman chicharritas pequeñas, cuyas adultas miden de 3.0 – 4.4 mm de largo. Los machos son ligeramente más pequeños que las hembras y por lo general de color más oscuro. Las especies que se especializan en el maíz son de color amarillo claro o color paja (Triplehorn y Nault 1985).

*Dalbulus maidis* se encuentra en el norte en los estados de la Costa del Golfo de Estados Unidos y en California, en todo México, en las islas del Caribe, América Central y en Sudamérica, hasta el norte de Argentina. En estas regiones la chicharrita del maíz se encuentra en todas las altitudes donde se siembre maíz. Sin embargo es más abundante en altitudes medias y bajas (<750 msnm) que en elevadas (Barnes 1954). En la estación lluviosa se encuentra en toda área donde se siembre maíz, mientras que en la estación seca su distribución se restringe a menos de los 2,000 msnm, en maíz irrigado, o bien en *Tripsacum*. Una gramínea nativa que por ser una planta perenne le da la oportunidad a la chicharrita de entrar en un estado de latencia o alimentarse hasta que sea nuevamente la temporada de maíz (Nault 1990).

Las hembras de *D. maidis* necesitan ser fertilizadas sólo una vez para producir huevos fértiles a través de su vida. El periodo de preoviposición para *D. maidis* varía de uno

a siete días. Las hembras depositan de tres a seis huevos por día. Bajo las condiciones de invernadero los machos y las hembras viven alrededor de un mes, cuando son criados sobre maíz. Se requiere de 60 días para completar una generación de la chicharrita del maíz. Esto permite sólo dos generaciones para completar su desarrollo en maíz durante la estación de crecimiento en la estación lluviosa (Barnes 1954).

Los individuos de *D. maidis* necesitan 23 días a una temperatura de 26° C y 50% de humedad relativa para llegar a estado adulto desde la oviposición; previo a esto requieren pasar por cinco estadios ninfales (Todd *et al.* 1991). Los adultos pueden sobrevivir hasta 91 días bajo las mismas condiciones ambientales que los estados inmaduros y ninfas como adultos de esta especie son eficientes transmisores de patógenos (Madden *et al.* 1986).

#### LA AVISPA *Gonatopus bartletti*. PARASITOIDE DE LA CHICHARRITA DEL MAÍZ.

El primer registro de este parasitoide fue en Puerto Rico, después en Nicaragua, Venezuela, Las Bahamas y Belice. En México se le ha encontrado principalmente durante la estación lluviosa en los estados de Jalisco, Colima Morelos, Nayarit, Veracruz, Sinaloa y Puebla (Vega y Barbosa 1990; Moya-Raygoza y Trujillo-Arriaga 1993).

Las hembras de *G. bartletti*, después de emergidas, reaccionan a ninfas y adultos de *D. maidis*, capturándoles con sus pinzas tarsales. Al tenerles atrapadas, proceden a pincharles con su aguijón, con lo que las chicharritas se paralizan. Después el aguijón es introducido en la zona pleural, cerca de la base del abdomen; en tres minutos la fase de oviposición interna se completa. Cinco minutos después *D. maidis* se recupera para realizar sus actividades normales en la planta hospedera (Quezada 1978).

Las chicharritas parasitadas seis días después comienzan a presentar protuberancias oscuras (hernias), aun cuando éstas crecen las chicharritas se mantienen vivas pero sus movimientos son mas lentos. Por último quedan muertas adheridas a las hojas. Las hernias se abren y de ellas salen dos o tres larvas de unos 5 mm de longitud, color blanco amarillento. Las larvas buscan un sitio adecuado para protegerse, como el doblar de una hoja o la vena principal de la planta. Pasando 10 minutos, tejen su capullo y emergen de 15 a 18 días después, apareciendo primero las hembras. Con el apareo se da comienzo a otro ciclo, que tendrá una duración de 34 a 40 días (Quezada 1978).

*Gonatopus bartletti* necesita de un promedio de 11.9 días desde su estado de huevo hasta su último estadio larval. La pupas que dan origen a machos y hembras requieren en promedio 13.9 y 13.3 días, respectivamente. El promedio de longevidad de las hembras es de 21.6 días, mientras que la de los machos es sólo de un día. *Gonatopus bartletti* presenta partenogénesis, ya que las hembras sólo dan origen a machos cuando no son fecundadas. Las hembras de *G. bartletti* parasitan por igual a hembras y machos de las chicharritas de *D. maidis*. Las hembras de *G. bartletti* parasitan desde el día que emergen de su estado de pupa (Rios Reyes 2003).

#### INTERACCIÓN ENTRE HUÉSPED, PARASITOIDE Y PATÓGENO (VIRUS O BACTERIA).

Existen muy pocos casos en los que se ha estudiado la interacción entre un artrópodo huésped, su parasitoide y sus patógenos. En uno de esos pocos casos de estudio se encontró que los virus como *Polidnavirus* presentan un mutualismo obligatorio con avispas parasitoides de las familias Braconidae o Ichneumonidae. El *Polidnavirus* es requerido

para la sobrevivencia del parasitoide, después de haber sido inyectado en el huésped (lepidóptero o díptero). Esta sobrevivencia se da porque el virus impide la respuesta inmune del artrópodo huésped hacia el huevo del parasitoide. La respuesta inmune que genera el virus se debe a una proteína que este produce, y que se acumula en el plasma, donde envuelve a los hemocitos para inhibir la encapsulación de los huevos inyectados en el artrópodo por el parasitoide. (Li y Webb 1994; Webb y Luckhart 1994; 1996; Luckhart y Webb 1996).

Para desarrollarse dentro de su insecto huésped, las avispas endoparasitas deben de evadir el sistema inmunológico del huésped. Muchas avispas de icneumonidos y braconidos inyectan *Polydnavirus*, los que tienen efectos supresores del sistema inmune. En cambio es poco sabido sobre las estrategias de inmuno evasión utilizadas por otras familias de parasitoides. La avispa parasitoide *Leptopilina boulardi* (Barbotin, Cartón & Kelner-Pillaut) utiliza un mecanismo activo para suprimir la respuesta inmune del huésped *Drosophila melanogaster* Mergen y la encapsulación de los huevos del parasitoide. Los factores de inmuno supresión están localizados a lo largo de la glándula y reservorio del tracto genital de las hembras de *D. melanogaster*, donde han sido observadas partículas de virus. Experimentos de parasitismo realizados, utilizando tumores del huésped, indican que estos factores no destruyen los lamelocitos del huésped, pero ellos promueven la melanización. Los mecanismos que previenen la encapsulación de los huevos de *L. boulardi* sugieren que diferentes estrategias fisiológicas de inmuno supresión deben ser utilizadas por los parasitoides (Labrosse *et al.* 2003).

Por otro lado, en estudios donde se han utilizado virus y parasitoides como agentes de control biológico contra artrópodos huésped, se han encontrado diferentes resultados en la

cual los tres tipos de organismos son afectados. Por ejemplo, los nucleopolihedrovirus de la familia Baculoviridae son patógenos virulentos de insectos y son reconocidos como insecticidas biológicos. Además, algunas especies de insectos infectados por el virus también son parasitados por himenópteros o dípteros, por lo tanto la competencia interespecífica por el huésped puede ocurrir. En el caso del parasitismo por *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) y la infección por el nucleopolihedrovirus produjo una reducción en el crecimiento del huésped *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Nuctuidae). Cuando larvas del tercer estadio fueron parasitadas e infectadas por el virus, su valor de crecimiento fue severamente afectado comparado con larvas que sólo fueron parasitadas. Además, la competencia interespecífica dió como resultado un decrecimiento sustancial en la producción de virus en las larvas parasitadas e infectadas en el cuarto estadio larval, pero no en larvas parasitadas en los primeros estadios larvales. Por lo tanto, este caso de estudio proporciona evidencias claras de la competencia interespecífica, la que depende del tiempo de la inoculación del virus, observándose efectos adversos entre el parasitoide y el virus (Escribano *et al.* 2001).

Otro caso de estudio sobre relaciones interespecíficas lo encontramos en el mutualismo que presentan los afidos (Aphididae) y su principal bacteria endosimbionte, *Buchnera aphidicola*. Esta bacteria vive sólo en células de afidos especializadas, y confiere resistencia contra himenópteros parasitoides de la familia Braconidae, causando una alta mortalidad de las larvas de los parasitoides a los cuatro días después de la oviposición (Oliver *et al.* 2003).

El momento en que el virus es adquirido por el huésped es importante para que el parasitoide se pueda o no desarrollar dentro del huésped. Esto se ha estudiado entre el



luteovirus del achaparramiento y amarillamiento de la cebada. el parasitoide *Aphidus ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphididae) y el vector huésped *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: Aphidae). En este caso el desarrollo de la larva de *A. ervi* dentro de *S. avenae* fue significativamente retrasada cuando la adquisición del virus fue antes o poco después de que el parasitoide se incubara, pero no cuando el parasitoide estuvo en el segundo estadio larval durante la adquisición del virus. Además, hembras del parasitoide depositaron pocos huevos en afidos infectados con el virus. Por otro lado, la transmisión del virus no se redujo por el parasitismo y en algunos experimentos en donde los afidos fueron sometidos al parasitoide transmitieron el virus más eficientemente que los afidos que no fueron expuestos al parasitoide (Christiansen–Weniger *et al.* 1998).

En otro caso de estudio se encontró que el virus afecta al desarrollo del parasitoide cuando ambos comparten el mismo huésped. Por ejemplo, larvas de *S. frugiperda* que ingirieron dosis letales del nucleopolihedrovirus fueron no aptas para el desarrollo del parasitoide *Chelonus insularis* (Braconidae). Además, el tiempo de desarrollo del parasitoide *Campoletis sonorensis* (Cameron) (Ichneumonidae) fue reducido significativamente en larvas de *S. frugiperda* infectadas por el virus comparativamente con larvas sanas. Por otro lado, *C. insularis* al tratar de parasitar no discriminó entre huevos de *S. frugiperda* infectados o no por el nucleopolihedrovirus. Resultados similares fueron encontrados en *C. sonorensis* que no discriminó entre larvas de *S. frugiperda* infectadas o no por el virus (Escribano *et al.* 2000).

En otro estudio se encontró que las pupas de *Pseudaletia separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) infectadas con un entomopoxivirus afectaron el desarrollo de *Brachymeria lasus* Walker (Hymenoptera: Chalcididae). Pocos parasitoides emergieron de

las pupas infectadas y estos parasitoides requirieron de uno a dos días adicionales como pupa, teniendo una fase pupal más larga. Además, un gran número de parasitoides murieron cuando el virus infectó a las pupas. Por lo tanto, se presentó una fase pupal muy larga con muy poco crecimiento de los parasitoides o nada, en presencia del virus (Kyei-Poku y Kunimi 1999).

### JUSTIFICACIÓN

Existe una gran cantidad de estudios que han mostrado como es la interacción entre el insecto vector *D. maidis* y el patógeno *S. kunkelii*. Por ejemplo, se sabe como el patógeno incrementa la sobrevivencia del vector y como es la biología de transmisión. Además, es conocida la interacción del vector con su principal parasitoide *G. bartletti*, específicamente se sabe sobre la sobrevivencia del vector cuando es parasitado y el porcentaje de parasitismo sobre el vector. Sin embargo no existen estudios en la cual se incluya la interacción entre el insecto vector de patógenos, los patógenos que este transmite y los parasitoides del vector. Por lo tanto no ha sido investigado si el parasitoide se desarrolla dentro del vector aunque este presente el patógeno dentro del vector. En caso de que si se desarrolle el parasitoide, este sería buen agente de control biológico no importando la presencia del patógeno, ya que la avispa parasitoide tiene una gran distribución geográfica.

## HIPÓTESIS

La bacteria *Spiroplasma kunkelii* no causa un efecto negativo al parasitoide *Gonatopus bartletti* cuando ambos habitan en el huésped *Dalbulus maidis*.

## OBJETIVO

Comparar la sobrevivencia de *Dalbulus maidis* adultos cuando primero son parasitados por el drínido *Gonatopus bartletti*, y luego adquieren la bacteria *Spiroplasma kunkelii*, y cuando primero adquieren la bacteria y luego son parasitados por el drínido.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales utilizados para los tratamientos

Los individuos de *G. bartletti* utilizados en los tratamientos fueron colectados en las zonas de cultivo de maíz en las localidades de El Grullo (Altitud 880 msnm) Jalisco.

Mientras que los individuos de *D. maidis* y la bacteria *S. kunkelii* fueron colectados de Colima (495 msnm) Colima. Las colectas fueron en los meses de mayo y noviembre del 2003. Los individuos colectados de *G. bartletti* fueron alimentados con chicharritas, y *D. maidis* con plantas de maíz sanas. La variedad de maíz utilizada en los experimentos fue Tuxpeño. En esta variedad los síntomas del *S. kunkelii* son muy evidentes.

### Condiciones de los experimentos

Se tuvieron cinco tratamientos; cada uno de los cuales tuvo siete réplicas y cada réplica fué de 10 individuos. Estos tratamientos se realizaron en una cámara de crecimiento mantenida a 25° C y 50% de humedad relativa, con un fotoperiodo de 12h. luz-12 h. oscuridad. La prueba de Kruskal-Wallis fue utilizada para comparar más de dos tratamientos.

### Tratamientos

1.- *G. bartletti* dentro de *D. maidis*, cuando la chicharrita es primero parasitada y luego adquiere la bacteria *S. kunkelii*.

Se colocaron adultos de *D. maidis* de una semana de edad a ser parasitados por hembras de *G. bartletti*, tres días después de ser paraistados los adultos, se pusieron en plantas de maíz infectadas con *S. kunkelii* para que lo adquieran durante 72 horas. Después de las 72 horas los adultos fueron transferidos a plantas sanas de maíz. Cada 24 horas desde



que las chicharritas fueron expuestas a *G. bartletti*, se les determinó la sobrevivencia y si el parasitoide se desarrolló dentro de él. Diecisiete días después de adquirir la bacteria, los adultos sobrevivientes se pusieron por 72 horas en plantas de maíz sanas para transmitir la bacteria. Cuarenta días después se observaron las plantas de maíz para determinar si presentaban síntomas y así obtener el porcentaje de transmisión.

2.- *G. bartletti* dentro de *D. maidis* cuando la chicharrita primero adquiere la bacteria *S. kunkelii* y luego es parasitada.

Adultos de chicharritas de una semana de edad, se pusieron a adquirir el espiroplasma de plantas de maíz infectadas por *S. kunkelii*, esto fue por 72 horas. Después de ese periodo los adultos se transfirieron a plantas de maíz sanas. Dos días después de ser transferidos los adultos, se expusieron a hembras de *G. bartletti* para que fueran parasitados. Después de ser expuestos al parasitoide, los adultos de *D. maidis* fueron colocados en plantas de maíz sanas. Cada 24 horas desde que las chicharritas fueron expuestas al parasitoide se les determinó la sobrevivencia y si el parasitoide se desarrolló o no dentro de las chicharritas.

3.- *G. bartletti* dentro de *D. maidis*.

Para determinar lo anterior, se expusieron chicharritas adultos de una semana de edad a hembras del parasitoide *G. bartletti* en plantas de maíz sanas por un periodo de 48 horas. Cada 24 horas después; a los adultos expuestos se les determinó su sobrevivencia y si el parasitoides se desarrolló o no dentro de ellos.

4.- *S. kunkelii* dentro de *D. maidis*.

Se pusieron adultos de *D. maidis* de una semana de edad a adquirir el espiroplasma en plantas de maíz infectadas por esta bacteria, esto fue por 72 horas. Después de haber puesto los adultos a adquirir la bacteria, se transfirieron a plantas de maíz sanas. Cada 24 horas después de haber sido transferidos a plantas de maíz sanas, se les determinó su sobrevivencia. A los 17 días después de adquirir la bacteria, los adultos sobrevivientes se pusieron por 72 horas en plantas de maíz sanas para transmitir la bacteria. Cuarenta días después se observaron las plantas de maíz para determinar si presentaban síntomas por la bacteria.

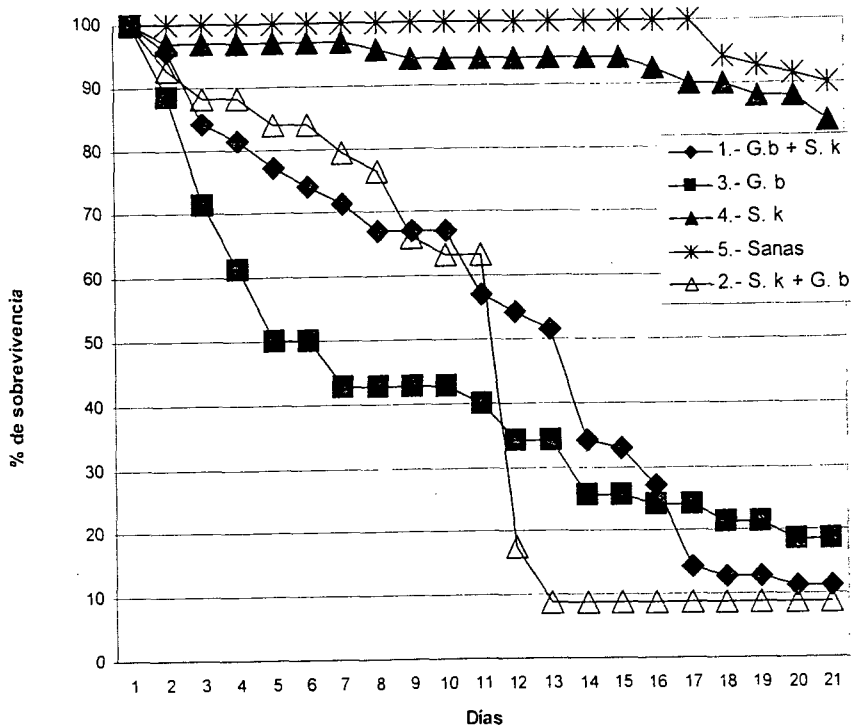
5.- *D. maidis* cuando no son parasitados ni adquieren la bacteria.

Para lograr lo anterior se colocaron adultos de *D. maidis* de una semana de edad en plantas de maíz sanas. A estos adultos se les determinó la sobrevivencia cada 24 horas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los adultos de *Dalbulus maidis* que se alimentaron de plantas sanas (tratamiento cinco) y los adultos que solo adquirieron la bacteria *Spiroplasma kunkelii* (tratamiento cuatro) presentaron una sobrevivencia similar (Figura 1). Lo anterior confirma los resultados encontrados por Ebbert y Nault (1994), en los cuales encontraron que la bacteria no causa un efecto negativo en la sobrevivencia de *D. maidis*. Por otro lado, los adultos de *D. maidis* tuvieron mayor porcentaje de sobrevivencia cuando fueron parasitados por *Gonatopus bartletti* y luego adquirieron la bacteria (tratamiento uno) y cuando adquirieron la bacteria y luego fueron parasitados (tratamiento dos) comparativamente con los adultos

Figura 1. Sobrevivencia de *D. maidis* en cinco tratamientos diferentes.



- 1.- G. b + S. k = *D. maidis* expuesta al parasitoide *G. bartletti* primero y después a la bacteria *S. kunkelii*.
- 2.- S. k + G. b = *D. maidis* expuestas primero a la bacteria *S. kunkelii* y después al parasitoide *G. bartletti*
- 3.- G. b = *D. maidis* expuesta solamente al parasitoide *G. bartletti*.
- 4.- S. k = *D. maidis* expuesta solamente a la bacteria *S. kunkelii*.
- 5.- Sanas = *D. maidis* en plantas sanas.

que sólo fueron parasitados (tratamiento tres). La anterior diferencia ocurrió durante los primeros 10 días del estudio, periodo que la larva del parasitoide requiere para desarrollarse dentro de las chicharritas (figura 1). Diferentes resultados fueron encontrados por Escribano *et al.* (2001) cuando usaron un caso de estudio análogo. Ellos encontraron que el parasitismo por *Chelonus insularis* y la infección por un nucleopolihedrovirus produjo una reducción en el crecimiento del huésped *Spodoptera frugiperda*. Debido a que larvas de tercer estadio de *S. frugiperda* que fueron parasitadas e infectadas tuvieron un valor de crecimiento menor comparado con larvas que sólo fueron parasitadas.

Aunque se encontró mayor sobrevivencia en los tratamientos uno y dos, éstos tuvieron mayor porcentaje de parasitismo comparativamente con el tratamiento tres ( $H = 5.9$ , g.l. = 2,  $P = 0.05$ ). En el tratamiento uno y dos el promedio de parasitismo fue de 55.7 % y 51.4 %, respectivamente, mientras que en el tratamiento tres fue de 31.4 % (cuadro 1). Estos resultados indican que la bacteria no impide el desarrollo larval del parasitoide. Al contrario el desarrollo larval es mayor cuando la bacteria está presente, que cuando no lo está. En este caso, la bacteria no le da resistencia al vector contra enemigos naturales, como se ha encontrado en una bacteria que es simbionte secundario. Por ejemplo. Oliver *et al.* (2003) reportaron que la bacteria (*Bruchnera aphidicola*), le da resistencia a su huésped el pulgón *Acyrtosiphon pisum* (Harris), contra el himenóptero parasitoide *Aphidus ervi*. Es posible que en este caso de estudio la bacteria *S. kunkelii* actúe dándole beneficio al parasitoide *G. bartletti*, como lo encontrado en otros trabajos con virus. Webb y Luckhart (1996) reportaron que el virus *Polidnavirus* impide la respuesta inmune del huésped lepidóptero *Heliothis virescens* (Fabricius) hacia los huevos de los himenópteros



**Cuadro 1.** Porcentaje promedio de parasitismo de *G. bartletti* sobre adultos de *D. maidis*.

Los números en paréntesis indican el error estándar. Promedios con letras iguales son significativamente similares.

---

<i>G. bartletti</i> + <i>S. kunkelii</i>	<i>G. bartletti</i>	<i>S. kunkelii</i> + <i>G. bartletti</i>
<hr/> 55.7 (6.5)	<hr/> 31.4 (6.8)	<hr/> 51.4 (5.9)
A	B	A

---

parasitoides (Braconidae e Ichneumonidae), permitiendo el desarrollo del parasitoide dentro del huésped. Además, Labrosse *et al.* (2003) encontraron que el parasitoide *Leptopilina bouvardi* tiene un mecanismo activo para suprimir la respuesta inmune del huésped *Drosophila melanogaster* y la encapsulación de los huevos del parasitoide. Los factores de inmuno supresión están ubicados en el tracto genital de las hembras del huésped y estos factores no destruyen los lamelocitos del huésped, promoviendo la mecanización.

El parasitoide afecta negativamente la transmisión de la bacteria, debido a que sólo el 25.0% de los adultos de *D. maidis* que fueron parasitados y adquirieron la bacteria (tratamiento uno), fueron transmisores. Mientras que el 44.0% de los adultos que sólo adquirieron la bacteria (tratamiento cuatro) fueron transmisores (cuadro 2). Esto es nuevo en ciencia, hasta nuestro conocimiento, debido a que existen muchos estudios que muestran el efecto de cómo un parasitoide afecta a un vector de patógenos a plantas, pero no se sabía como el parasitoide puede ser afectado positiva o negativamente por un patógeno. Aquí se encontró que el parasitoide disminuye la transmisión del patógeno. Resultados diferentes se reportaron entre un luteovirus, el parasitoide *A. ervi* y el afido vector *Sitobion avenae*. En este caso la transmisión del virus se redujo por el parasitoide e incluso en algunos casos los afidos que fueron parasitados transmitieron al virus más eficientemente que los afidos que no fueron parasitados (Christiansen-Weniger *et al.* 1998).

Además, la bacteria no impide el desarrollo del parasitoide una vez que la larva del parasitoide emerge del huésped. Se encontró que un 18.0 % de las larvas llegaron a estado adulto cuando las chicharritas fueron parasitadas y luego adquirieron la bacteria (tratamiento uno). Resultados similares ( $H = 0.1$ , g.l. = 1,  $P = 0.74$ ) fueron encontrados

**Cuadro 2.** Porcentaje promedio de transmisión que tiene *D. maidis* para infectar plantas sanas con la bacteria *S. kunkelii*, cuando la charrita está parasitada por *G. bartletti* y cuando no lo está.

---

<i>G. bartletti</i> + <i>S. kunkelii</i>	<i>S. kunkelii</i>
25.0	44.4

---

**Cuadro 3.** Porcentaje promedio de *G. bartletti* que llegaron a adultos (machos) después de parasitar a adultos de *D. maidis* los números en paréntesis indican el error estándar.

---

<i>G. bartletti</i> + <i>S. kunkelii</i>	<i>G. bartletti</i>
<hr/> 18.0 (7.3)	<hr/> 14.0 (5.1)

---

cuando las chicharritas sólo fueron parasitadas (tratamiento tres), ya que un 14.0 % de las larvas llegó a estado adulto (cuadro 3). En un huésped que no es vector de patógenos a plantas se encontraron resultados diferentes. En ese estudio se reportó que las pupas de *Pseudaletia separata* que fueron infectadas por un virus afectaron negativamente el desarrollo del parasitoide *Brachymyia lasus*. Debido a que pocos parasitoides emergieron de las pupas infectadas y los que emergieron mostraron una fase pupal más larga (Kyei-Poku y Kumini 1999).

El único efecto negativo observado de la bacteria hacia el parasitoide es cuando la chicharrita es parasitada y luego adquiere la bacteria. Aquí se encontró que 14.9 % de las larvas del parasitoide no se desarrollan ni eclosionan del huésped. Diferentes resultados ( $H = 5.0$ , g.l. = 1,  $P = 0.02$ ) fueron encontrados cuando las chicharritas sólo son parasitadas, ya que todas las larvas eclosionaron (cuadro 4). El desarrollo de las larvas es detenido por la presencia de la bacteria dentro del huésped. La bolsa externa que normalmente se presenta en el desarrollo de la larva en la zona pleural cerca de la base del abdomen, no se presentó. En lugar de esta bolsa externa se formó una bolsa interna (Figura 2). En otros estudios se han reportados resultados similares. Por ejemplo, Christiansen-Weniger *et al.* (1998) encontraron que la larva del parasitoide *A. ervi* en el afido *S. avenae* fue retrasada significativamente cuando el virus fue adquirido antes o poco después de que el parasitoide se incubó, pero no cuando el parasitoide se encontraba en el segundo estadio larval y adquirió el virus. Además, se encontró que larvas de *S. frugiperda* que ingirieron dosis letales de un nucleopolihedrovirus no desarrollaron el parasitoide *Ch. insularis* (Escribano *et al.* 2000).

**Cuadro 4.** Porcentaje promedio de parasitismo interno por *G. bartletti* en adultos de *D. maidis*. Los números en paréntesis indican el error estándar.

---

<i>G. bartletti</i> + <i>S. kunkelii</i>	<i>G. bartletti</i>
<hr/>	<hr/>
14.9 (6.1)	0 (0)

---

**Figura 2.** Adulto de *Dalbulus maidis* con bolsa interna formada por la larva del parasitoide *Gonatopus bartletti* a los 21 días después de ser parasitada.



## CONCLUSIONES

- Los adultos de *D. maidis* tuvieron mayor porcentaje de sobrevivencia cuando fueron parasitados por *G. bartletti* y luego adquirieron la bacteria y cuando adquirieron la bacteria y luego fueron parasitados comparativamente con los adultos que sólo fueron parasitados.
- La bacteria no impide el desarrollo larval del parasitoide, al contrario, el desarrollo larval es mayor cuando la bacteria está presente que cuando está ausente. En este caso, la bacteria no le da resistencia al vector contra enemigos naturales.
- El parasitoide afecta negativamente la transmisión de la bacteria.
- La bacteria no impide el desarrollo del parasitoide una vez que la larva del parasitoide emerge del huésped.
- Un efecto negativo no significativo de la bacteria hacia el parasitoide fue cuando la chicharrita es parasitada y luego adquiere la bacteria; el desarrollo de las larvas es detenido por la presencia de la bacteria dentro del huésped. La bolsa externa que normalmente se presenta en el desarrollo de la larva en la zona pleural cerca de la base del abdomen, no se presentó. En lugar de esta bolsa externa se formó una bolsa interna.



## BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology. Editorial: Academic Press. Cuarta Edición. San Diego California. USA. p 407 – 470.
- Barnes, D. 1954. Biología, ecología, y distribución de las chicharritas. *Dalbulus elimatus* (Ball) y *Dalbulus maidis* (DeLong y Wolcott). Folleto Técnico II, Secretaria de Agricultura y Ganadería de México, D. F., Oficina de Estudios Especiales y la Fundación Rockefeller, 112 pp.
- Bradfute, O. E., L.R. Nault, D.C. Robertson, y R.W. Toler. 1977. Maize bushy stunt- A disease associated with a nonhelical mycoplasma- like pathogen. *Proc. Am. Phytopatol. Soc.* 4:171.
- Christiansen–Weniger, P., C. Powell, y J. Hardie. 1998. Plant virus and parasitoid interactions a shared insect vector/host. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86: 205 – 213.
- Davis, R. E. 1973. Occurrence of a spiroplasma in corn stunt infected plants in Mexico. *Plant Disease Reporter* 57: 333 - 337.
- Davis, R. E. 1977. Spiroplasma: Role in the diagnosis of corn stunt disease. In: L. E. William, D. T Gordon, y L. R. Nault (eds.). Proceeding Maize Virus Colloquium Workshop. Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster, Ohio. USA. pp. 92-98.
- Ebbert, M. A., y L. R. Nault. 1994. Improved overwintering ability in *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) vectors infected with *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae). *Environmental Entomology* 23: 634-644.

- Escribano, A., T. Williams, D. Goulson, R.D. Cave, y P. Caballero. 2000. Parasitoid-pathogen-pest interactions of *Chelonus insularis*, *Campoletis sonorensis*, and a nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera frugiperda* larvae. *Biological Control* 19: 265–273.
- Escribano, A., T. Williams, D. Goulson, R.D. Cave, J.W. Chapman, y P. Caballero. 2001. Consecuente of interspecific competition on the virulence and genetic composition of a nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera frugiperda* larvae parasitized by *Chelonus insularis*. *Biocontrol Science and Technology* 11: 649 – 662.
- Granados, R. R., 1969. Electron microscopy of plants and insect vectors infected with the corn stunt disease agent. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 24: 173-187.
- Hruska, A. J., y M. Gomez Peralta. 1997. Maize response to corn leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) infestation and Achaparramiento disease. *J. Econ. Entomol.* 90: 604-610.
- Kathirithamby, J., G. Moya-Raygoza. 2000. *Halictophagus naulti* sp. n. (Strepsiptera: Halictophagidae), a new species parasitic in the corn leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) from Mexico. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 1039-1044.
- Kyei-Poku, G.K., y Y. Kunimi. 1999. Effects of entomopoxvirus infection in *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) on the development of a pupal parasitoid, *Brachymeria lasus* (Hymenoptera: Chalcidae). *Applied Entomology and Zoology* 34: 49 – 56.
- Labrosse, C., Y. Carton, A. Dubuffete, J.M. Drezen, y M. Poirie. 2003. Active suppression of *D. melanogaster* immune response by long gland products of the parasitic wasp *Leptopilina boulardi*. *Journal of Insect Physiology* 49: 513–522.

- Li, X., y B.A. Webb. 1994 Aparent functional role of cystein-rich polydnavirus protein in suppression of insect cellular immune response. *Journal of Virology* 86: 7482- 7489.
- Luckart, S., y B. A. Webb 1996. Interaction of wasp ovarian protein and polydnavirus in host immune suppression. *Development and Comparative Immunology* 20: 1-21.
- Madden, L. V., L. R., Nault, S. E. Heady, y W. E. Styer. 1986. Effect of temperature on the population dynamics three *Dalbulus* leafhoppers species. *Ann. Appl. Biol.* 108: 475-485.
- Moya-Raygoza, G., y J. Trujillo-Arriaga. 1993. Drynid (Hym: Drynidae) parasitods of *Dalbulus* leafhopper (Hom: Cicadellidae) in Mexico. *Entomophaga* 38: 41-49.
- Moya-Raygoza, G., J. Kathiritamby, y K.J. Larsen. 2004. Dry season parasitoids of adult corn leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae) on irrigated maize in Mexico. *The Canadian Entomologist* 139: 1-9.
- Nault, L. R., y O.E. Bradfute. 1979. Corn stunt: Involvement of a complex of leafhopper-born pathogens. In: Harris, K. F., Maramorosch, K. (Eds.), *Leafhoppers and Plant Disease Agents*. Academic Press, New York, pp. 561-586.
- Nault, L. R. 1980. Maize bushy stunt and corn stunt: A comparison of disease symptoms, pathogen host ranges and vectors. *Phytopathology* 70: 659-662.
- Nault, L. R. 1983a. More on the association of *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae) with Mexican *Tripsacum* (Poaceae) including the description of two new species of leafhoppers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76: 305-309.
- Nault, L. R. 1983b. Origins in Mesoamerica of maize viruses and mycoplasmas and their leafhoppers vectors. In: R. T. Plumb, and J. M Thresh (eds.). *Plant Virus*

Epidemiology: The spread and control of Insect- Borne Viruses. Blackwell, Oxford, England. pp. 259-266.

- Nault, L. R. 1990. Evolución de una plaga de insectos: el maíz y las chicharritas. Un estudio caso. Biología, Ecología y conservación del género *Zea*. Benz, B. F. Copilador. Universidad de Guadalajara. pp 179 - 202.
- Oliver, K. M., J. A. Russell, N. A. Moran, y M. S. Hunter. 2003. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. *PNAS* 100: 1803-1807.
- Özbek, 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 leafhoppers *Dalbulus maidis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 82: 167-175.
- Purcell, A. H. 1982. Evolution of the vector relationship. In *Phytopathogenic Prokaryotes*. Vol. 1. Mount. M. S. and Lacy, G. H. (editors). Academic Press. New York, NY, U.S.A. pp 121-156.
- Purcell, A. H. 1988. Increased survival of *Dalbulus maidis* Delong & Wolcott, a specialist on maize, on nonhost plants infected with mollicute plant pathogens. *Entomology Experimental and Applied* 46: 187-196.
- Quezada, J. R. 1978. Hallazgo de *Agonotopus* sp. (Hymenoptera: Dryinidae), parasito de *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) en el Salvador. *CEIBA* 23: 1-13.
- 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.

- Todd, J. L., L. V. Madden, y L. R. Nault. 1991. Comparative growth and spatial distribution of *Dalbulus* leafhopper populations (Homoptera: Cicadellidae) in relation to maize phenology. *Environ. Entomol.* 20:556-564.
- Trachtenberg, S., 1998. Mollicutes- aall-less bacteria with internal cytoskeletons. *J. Struct. Biol.* 124: 244-256.
- Trachtenberg, S., Gilad, R., 2001. A bacterial linear motor: cellular and molecular organization of the contractile cytoskeleton of the helical bacterium *Spiroplasma milliferum* BC3. *Mol. Microbiol.* 41, 827-848.
- Triplehorn, B. W. y L. R. Nault. 1985. Phylogenetic classification of the genus *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae), and notes on the phylogeny of the Macrostellini. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78: 291-315.
- 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 & Wolcott) and the Mexican leafhopper *Dalbulus elimatus* (Ball) (Homoptera: Cicadellidae). *Proc. Entomol. Soc. Washington* 92: 461- 464.
- Webb, B.A., y S. Luckhart. 1994. Evidence for an early immunosuppressive role for related *Campoletis sonorensis* venom and ovarian proteins in *Heliothis virescens*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 26: 147-163.
- Webb, B.A., y S. Luckhart. 1996. Factors mediating short and long-term immune suppression in a parasitized insect. *Journal of Insect Physiology* 42: 33-40.