

## VARIACIÓN EN LA TRANSMISIÓN DEL ESPIROPLASMA *SPIROPLASMA KUNKELII* POR POBLACIONES DE LA CHICHARRITA DEL MAÍZ *DALBULUS MAIDIS* (HOMOPTERA: CICADELLIDAE)

GUSTAVO MOYA-RAYGOZA <sup>1</sup>, LOWELL R. NAULT <sup>2</sup>, SASKIA A. HOGENHOUT <sup>2</sup> Y  
WILLIAM E. STYER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Botánica y Zoología, C.U.C.B.A., Universidad de Guadalajara, Km 15.5 Carretera Guadalajara-Nogales, Las Agujas, Zapopan, C.P. 45110, Apdo. Postal 139, Jalisco, MÉXICO.

<sup>2</sup>Department of Entomology, Ohio Agricultural Research and Development Center, Ohio State University, Wooster, OH 44691, USA.

Moya-Raygoza, G., L. R. Nault, S. A. Hogenhout y W. E. Styer. 2002. Variación en la transmisión del espiroplasma *Spiroplasma kunkelii* por poblaciones de la chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). *Folia Entomol. Mex.*, 41(2): 113-118.

RESUMEN. Se compararon cuatro poblaciones de la chicharrita del maíz *Dalbulus maidis*, la especie vectora más importante de patógenos al maíz en México y América Latina, para conocer las diferencias en transmisión del espiroplasma del maíz *Spiroplasma kunkelii*. Las poblaciones de Colima y El Grullo son de altitudes bajas (< 1,000 m snm), mientras que las poblaciones de Sayula y Zapopan son de altitudes mayores a los 1,000 m snm. El periodo medio de latencia, la capacidad vectorial total, y la capacidad vectorial a través del tiempo se determinaron en las cuatro poblaciones de *D. maidis* bajo condiciones controladas. Adultos sanos de cada una de las cuatro poblaciones, se mantuvieron durante 72 horas en plantas de maíz enfermas por el espiroplasma, para que estos pasaran por un periodo de adquisición. Después de este periodo, se dejaron las chicharritas en plantas sanas de maíz por siete días, cumpliendo así el periodo de incubación. Una vez transcurrido los siete días, los adultos de cada población se transfirieron individualmente a plantas de maíz sanas, cada 48 horas, durante los primeros 33 días después del periodo de adquisición. Los resultados muestran que las poblaciones de *D. maidis* difieren en su habilidad para transmitir el espiroplasma. Las dos poblaciones de altitudes bajas tienen un periodo medio de latencia corto, mayor capacidad vectorial total y a través del tiempo. Estos resultados ayudan a explicar por qué el espiroplasma se encuentra distribuido preferentemente en altitudes bajas a través de América Latina.

PALABRAS CLAVE: Bacteria, biología de transmisión, biotipos, distribución, vectores de patógenos.

Moya-Raygoza, G., L. R. Nault, S. A. Hogenhout and W. E. Styer. 2002. Variation in the transmission of the spiroplasma *Spiroplasma kunkelii* by populations of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). *Folia Entomol. Mex.*, 41(2): 113-118.

ABSTRACT. Four populations of the corn leafhopper *Dalbulus maidis*, the most important vector of maize pathogens in Mexico and Latin America, were compared, to determine whether the populations differed in their ability to transmit the corn stunt spiroplasma *Spiroplasma kunkelii*. Two populations (Colima and El Grullo) were collected from low altitudes (< 1,000 m), while the other two (Sayula and Zapopan) were collected from high altitudes (> 1,000 m). The mean latent period, the total vector efficiency, and the transmission efficiency through time were determined in the four *D. maidis* populations, under controlled conditions. Healthy adults from the four populations were maintained during 72 hours on maize plants infected with the spiroplasma in order to acquire the pathogen. The leafhoppers were subsequently transferred to healthy maize plants for a seven day incubation period. After seven days, the adults from each population were transferred individually to healthy maize plants each 48 hours, during the first 33 following the acquisition period. The results showed that the *D. maidis* populations differed in their abilities to transmit the corn stunt spiroplasma. The two populations from low altitudes had a short mean latent period, high total vector efficiency and high transmission efficiency through time. Moreover, these results may indicate why the corn stunt spiroplasma is distributed mainly at low altitudes throughout Latin America.

KEY WORDS: Bacteria, transmission biology, biotypes, distribution, pathogen vectors.

Las poblaciones o biotipos de insectos muestran variación en tamaño, forma, color, resistencia a insecticidas, migración, o eficiencia para transmitir patógenos a plantas (Diehl y Busch, 1984). Estas diferencias en transmisión han sido encontradas en homópteros. Por ejemplo, el delgado *Nilaparvata lugens* (Stål) (Delphacidae) muestra variación en la virulencia de sus poblaciones que se encuentran en Asia (Claridge *et al.*, 1982); poblaciones del afido *Aulocarthum solani* (Kaltenbach) (Aphididae) difieren en su habilidad para transmitir el virus enano de la soya (Damsteegt y Voegtlin, 1990); y poblaciones de la chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* (DeLong y Wolcott) (Cicadellidae) varían en su eficiencia para transmitir el fitoplasma del maíz (Moya-Raygoza y Nault, 1998). Sin embargo, no se sabe si poblaciones de la chicharrita del maíz muestran variación en su eficiencia para transmitir el espiroplasma del maíz *Spiroplasma kunkelii*. Las variaciones en transmisión por las poblaciones de *D. maidis* son de interés porque es el vector más importante del espiroplasma del maíz en América Latina (Nault, 1980; Nault *et al.*, 1981; Nault, 1990).

Aunque la chicharrita del maíz es común en cultivos de maíz sembrados en altitudes bajas, se le puede encontrar esporádicamente hasta 3,200 m snm (Nault, 1990). Este insecto se encuentra en el centro de México en maíz que se cultiva durante la estación lluviosa, generalmente a elevaciones altas (> 1,000 m snm) y también en el maíz cultivado durante todo el año, generalmente a altitudes bajas (< 1,000 m snm). Por otro lado, 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, 1983).

Es posible que la distribución altitudinal del espiroplasma se deba en parte a diferencias en la

habilidad de transmisión por poblaciones de *D. maidis*. Suponemos que las poblaciones de *D. maidis* de altitudes bajas son más eficientes en transmitir el espiroplasma que las poblaciones de elevaciones altas. Por lo tanto, nuestro objetivo fue comparar la eficiencia de transmisión (período medio de latencia, capacidad vectorial total y capacidad vectorial a través del tiempo) del espiroplasma del maíz por poblaciones de *D. maidis* provenientes de elevaciones bajas y altas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Cuatro poblaciones de *D. maidis*, cada una de diferente localidad, fueron colectadas en el centro de México para realizar este estudio. Las localidades de Colima (Colima) (495 m snm) y El Grullo (Jalisco) (880 m snm) están ubicadas en altitudes bajas y tienen una temperatura media anual de 24.6 y 24.0°C, respectivamente, mientras que las localidades de Sayula (Jalisco) (1,366 m snm) y Zapopan (Jalisco) (1,570 m snm) están ubicadas en altitudes elevadas y tienen una temperatura media anual de 21.4 y 21.3°C, respectivamente. En las primeras dos localidades el maíz se cultiva durante la estación seca (noviembre-mayo) y estación lluviosa (junio-octubre), mientras que en las otras dos localidades, ubicadas en elevaciones altas, el maíz sólo se cultiva durante la estación lluviosa. En cada una de las cuatro localidades se colectaron 10 hembras y 10 machos de *D. maidis* en junio de 1999.

Los anteriores individuos de cada una de las cuatro poblaciones fueron criados con el propósito de obtener adultos de la misma edad. A los individuos colectados se les dio un periodo de oviposición de 72 horas. Esto fue efectuado con plantas de maíz sanas y en cajas de crecimiento en condiciones naturales en Zapopan, Jalisco. Ocho días después de que aparecieron los adultos de cada una de las poblaciones, fueron transportados a la Universidad Estatal de Ohio (Ohio

Agricultural Research and Development Center), para determinar su biología de transmisión.

Los adultos transportados fueron confinados separadamente por población a seis plantas de maíz infectadas con el espiroplasma por un periodo de 72 horas. Lo anterior permitió que los individuos de diferentes poblaciones no se mezclaran. Este periodo es llamado de adquisición y fue conducido en una cámara de crecimiento (Walk-in plant growth chamber) a 25°C, humedad relativa de 50% y un ciclo de luz-oscuridad de 14:10 horas. El espiroplasma usado en este experimento fue colectado en Tlaltizapán, Morelos, México en 1994.

Una vez transcurrido el periodo de adquisición los adultos fueron alimentados con seis plantas de maíz sanas por población por un periodo de ocho días. En ese momento se tenía un número diferente de adultos por población, por ejemplo las poblaciones de Colima, El Grullo, Sayula, y Zapopan contaban con 30, 30, 21, y 26 adultos, respectivamente. Ocho días después, cada adulto fue confinado en una planta de maíz de tres hojas de edad y sin patógeno, en una caja (*butyrate tube cage*) de plástico en forma de tubo de 17 cm de alto y 4 cm de diámetro. Cada adulto fue transferido a una nueva planta de maíz sana cada 48 horas. Las condiciones ambientales y el tipo de cámara usadas durante estas transferencias, fueron las mismas que las del periodo de adquisición.

Las plantas de maíz usadas en las transferencias, fueron depositadas en el invernadero y mantenidas por cuatro semanas, para permitir la expresión de los síntomas. Una vez depositadas las plantas en el invernadero y cada 8 días fueron asperjadas con el insecticida "Resmethrin" 1%, para evitar una posible infección después de la exposición al insecto. Los síntomas fueron revisados cada día, para determinar la fecha en que las plantas con el espiroplasma muestran los

primeros síntomas. La variedad de maíz usada durante todo el experimento fue "*Seneca Chef*", debido a que no muestra resistencia a la infección del espiroplasma, por lo tanto el patógeno puede expresar sus síntomas en las plantas infectadas.

Se comparó el periodo medio de latencia (entendido como el tiempo requerido para que el vector transmita al patógeno desde que lo adquiere), entre las cuatro poblaciones con la prueba Kruskal-Wallis. La capacidad vectorial total (entendida como el porcentaje de individuos competentes), se comparó entre las cuatro poblaciones con una  $\chi^2$ , y la capacidad vectorial a través del tiempo (definida como cambios en la competencia del vector a través del tiempo) se comparó entre las poblaciones usando la prueba Kruskal-Wallis. Todas las pruebas se efectuaron con el programa Statistica (1995).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variación entre poblaciones de *D. maidis* han sido reportadas en su conducta (Heady y Nault, 1985), aloenzimas (Triplehorn *et al.*, 1990), sobrevivencia (Ebbert y Nault, 1994), secuencia de ADN mitocondrial (Dietrich *et al.*, 1998) y en habilidad para transmitir el fitoplasma del maíz (Moya-Raygoza y Nault, 1998). Aquí reportamos diferencias en la habilidad entre cuatro poblaciones de *D. maidis* para transmitir el espiroplasma del maíz *Spiroplasma kunkelii*. Las poblaciones de altitudes bajas (Colima y El Grullo) fueron más eficientes en transmitir el espiroplasma, debido a que tienen un periodo medio de latencia corto, una capacidad vectorial total alta y una capacidad vectorial a través del tiempo alta.

El periodo medio de latencia entre las cuatro poblaciones fue diferente ( $H = 37.58$ ,  $P = 0.001$ ) (Cuadro 1). Las dos poblaciones de altitudes menores a los 1,000 m snm, tienen un pe-

**Cuadro 1**

Periodo medio de latencia y capacidad vectorial total de cuatro poblaciones de *Dalbulus maidis*. Dos poblaciones (Colima y El Grullo) son de elevaciones bajas (< 1,000 m snm) y las otras dos (Sayula y Zapopan) son de elevaciones altas (> 1,000 m snm).

Población (n) de <i>Dalbulus maidis</i>	Periodo medio de latencia en días (error estándar)			Capacidad vectorial total en porcentaje
	Total	Hembras	Machos	
Colima (30)	14.4 (0.4)	14.0 (0.5)	14.7 (0.6)	100
El Grullo (30)	15.4 (0.5)	15.7 (0.8)	15.0 (0.6)	100
Sayula (21)	22.8 (1.1)	21.7 (1.7)	23.4 (1.2)	76.2
Zapopan (26)	18.0 (0.9)	15.0 (0.5)	19.7 (1.2)	65.2

n = número total de adultos por población

riodo medio de latencia entre los 14.4 y 15.4 días, mientras que las dos poblaciones (Sayula y Zapopan) de altitudes mayores a los 1,000 m snm tienen un periodo medio de latencia entre los 18.0 y 22.8 días. Además, se encontró diferencia en el período medio de latencia entre hembras ( $H = 13.26$ ,  $P = 0.004$ ) de las cuatro poblaciones y entre machos ( $H = 29.57$ ,  $P = 0.001$ ) de las cuatro poblaciones. En ambos sexos el período medio de latencia fue más corto en los individuos de Colima y más largo en los de Sayula.

La capacidad vectorial total entre las cuatro poblaciones fue diferente ( $\chi^2 = 10.9$ , g.l. = 3,  $P < 0.01$ ) (Cuadro 1). Las dos poblaciones de altitudes menores a los 1,000 m snm tuvieron una capacidad vectorial total de 100%, esto significa que todos los individuos transmiten el espiroplasma del maíz por lo menos una vez después que lo adquieren. Por otro lado, las poblaciones de Sayula y Zapopan tuvieron una capacidad vectorial total de 76.2% y 65.2%, respectivamente.

Además, la capacidad vectorial a través del tiempo fue diferente entre las cuatro poblaciones. Las dos poblaciones de altitudes bajas ad-

quirieron y transmitieron rápidamente el espiroplasma. Específicamente en el día 17 después del período de adquisición las dos poblaciones de altitudes bajas mostraron una capacidad vectorial mayor al 80%, mientras que las dos poblaciones de altitudes elevadas tenían una capacidad vectorial menor al 40% (Figura 1). Además, la anterior diferencia ( $H = 10.13$ ,  $P = 0.01$ ) entre las poblaciones se encontró entre los nueve y 19 días después de que el espiroplasma fue adquirido por *D. maidis*. Este análisis sólo se efectuó para este período, porque durante ese tiempo las cuatro poblaciones mostraron una sobrevivencia similar. La prueba de  $\chi^2$  a un nivel de significancia de  $P = 0.05$ , mostró que las medias de las poblaciones de Colima y el Grullo fueron similares ( $P = 0.52$ ) entre sí en su capacidad vectorial a través del tiempo. Resultados similares fueron encontrados entre las medias de las poblaciones de Sayula y Zapopan ( $P = 0.06$ ).

Los resultados muestran que los individuos de *D. maidis* de altitudes bajas que se alimentan de una planta de maíz infectada con el espiroplasma, se vuelven virulentos la mayoría de ellos (como lo indica la capacidad vectorial) y lo

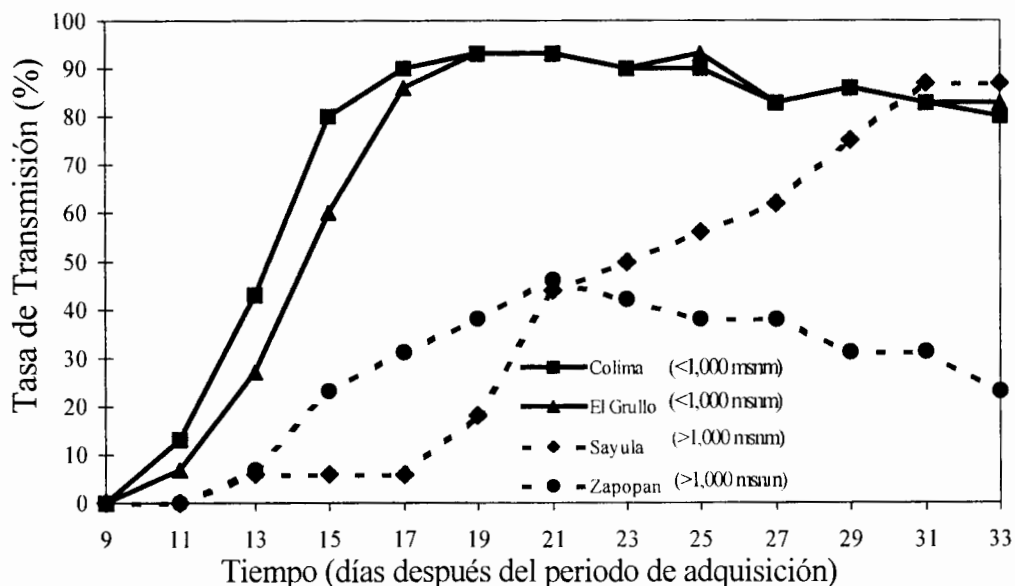


Figura 1. Capacidad vectorial a través del tiempo de cuatro poblaciones de *Dalbulus maidis* después de adquirir el espiroplasma del maíz. Dos poblaciones (Colima y El Grullo) son de elevaciones bajas (< 1,000 msnm) y las otras dos (Sayula y Zapopan) son de elevaciones altas (> 1,000 msnm).

hacen rápidamente (como lo indica el período medio de latencia), siendo capaces de propagar el espiroplasma a plantas de maíz sanas en pocos días. Esos resultados ayudan a explicar, el porqué la distribución altitudinal del espiroplasma está restringida a las altitudes bajas. Davis (1973) al estudiar la presencia del espiroplasma en tres regiones del centro de México, encontró que éste es más común en las regiones bajas como Poza Rica, Veracruz (37 m snm) y Tlaltizapán, Morelos (940 m snm), que en regiones altas como El Batán, México (2,200 m snm). Resultados similares han sido encontrados en otros estudios, debido a que el espiroplasma del maíz se ha reportado preferentemente en altitudes menores a los 1,000 m snm (Davis, 1977; Nault, 1983).

No sólo los datos aquí encontrados sobre la biología de transmisión, sino también los reportados por Ebbert y Nault (1994) explican porqué el espiroplasma de maíz se encuentra preferentemente en altitudes menores a los 1,000 m snm. Ellos reportaron que las poblaciones de *D. maidis* de altitudes bajas sobrevivieron más en condiciones ambientales adversas. Ebbert y Nault (1994) expusieron tres poblaciones de *D. maidis* al espiroplasma del maíz y encontraron que la población del Grullo (970 m snm) tuvo mayor porcentaje de sobrevivencia comparativamente con poblaciones de elevaciones altas como Las Joyas (1,950 m snm) Jalisco y Tepexpan (2,250 m snm) México, cuando fueron mantenidas bajo tres regímenes alimenticios (sin alimentarlas, alimentándolas con avena, o ali-

mentándolas con maíz) que simulan el comienzo de la estación seca.

El espiroplasma recibe el beneficio de ser dispersado más rápido y eficientemente por las poblaciones de *D. maidis* de altitudes bajas, mientras que dichas poblaciones de altitudes bajas son beneficiadas al incrementar su sobrevivencia, lo que posiblemente les permite encontrar su planta hospedera primaria (maíz), que se cultiva con irrigación durante la estación seca. Aunque *D. maidis* se encuentra desde el nivel del mar hasta los 3,200 m snm a través de América Latina, es más común encontrarla en altitudes bajas. Al respecto, Nault (1990) sugirió que la asociación entre *D. maidis* y el espiroplasma del maíz afecta la distribución de ambos, resultando en una selección entre el vector y el patógeno.

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece a C. Hoy por la asesoría en las pruebas estadísticas. La investigación recibió financiamiento del programa CONACYT-NSF y por el CONACYT proyecto número I 30003-B, este último asignado al primer autor.

#### LITERATURA CITADA

- CLARIDGE, M. F., J. DEN HOLLANDER AND I. FURET. 1982. Adaptations of brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) populations to rice varieties in Sri Lanka. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 32: 222-226.
- DAMSTEEGT, V. D. AND D. J. VOEGTLIN. 1990. Morphological and biological variation among populations of *Aulacorthum solani* (Homoptera: Aphididae), the vector of soybean dwarf virus. *Annals of the Entomological Society of America*, 83: 949-955.
- 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, pp. 92-98. In: L. E. WILLIAMS, D. T. GORDON, AND L. R. NAULT (eds.), *Proceedings Maize Virus Disease Colloquium and Workshop*. Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster, Ohio, USA.
- DIETZ, S. R. AND G. L. BUSH. 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annual Review of Entomology*, 29: 471-504.
- DIETRICH, C. H., S. J. FITZGERALD, J. L. HOLMES, W. C. BLACK IV AND L. R. NAULT. 1998. Reassessment of *Dalbulus* leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) phylogeny based on mitochondrial DNA sequences. *Annals of the Entomological Society of America*, 91: 590-597.
- EBBERT, M. A. AND L. R. NAULT. 1994. Improved overwintering ability in *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) vectors infected with *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae). *Environmental Entomology*, 23: 634-644.
- HEADY, S. E. AND L. R. NAULT. 1985. Escape behavior of *Dalbulus* and *Balbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae). *Environmental Entomology*, 14: 154-158.
- MOYA-RAYGOZA, G. AND L. R. NAULT. 1998. Transmission biology of maize bushy stunt phytoplasma by the corn leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 91: 668-676.
- 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. 1983. Origins in Mesoamerica of maize viruses and mycoplasmas and their leafhopper vectors, pp. 259-266. In: R. T. PLUMB, AND J. M. THRESH (eds.), *Plant Virus Epidemiology: The Spread and Control of Insect-Borne Viruses*. Blackwell, Oxford, England.
- NAULT, L. R. 1990. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhopper, a case study. *Maydica*, 35: 165-175.
- NAULT, L. R., D. T. GORDON AND J. CASTILLO LOAYZA. 1981. Maize virus and mycoplasma diseases in Peru. *Tropical Pest Management*, 27: 363-396.
- STATISTICA. 1995. Statistica for Windows. Tulsa (2nd Version), OK, USA, 2921 pp.
- TRIPLEHORN, B. W., G. F. SHAMBAUGH, D. F. HAMILTON AND L. R. NAULT. 1990. Isoenzyme analysis of the genus *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 83: 694-704.

Recibido: 28 de marzo del 2001

Aceptado: 12 de febrero del 2002