OBSERVACIONES PRELIMINARES SOBRE LA TRANSMISION DE VIRUS CON Peregrinus maidis¹

Francia Varón de Agudelo y Gerardo Martínez López²

- SUMMARY -

Studies on the identification of insect vectors of complex symptoms caused by virus in corn (Zea mays L.) showed that Peregrinus maidis (Asmead) (Homoptera: Delphacidae) was prevalent within insect populations from afected corn fields in the Cauca Valley (Colombia). Preliminary observations were done on insect habits and inoculations of corn seedlings using groups of insects collected from corn fields. The results suggested that P. maidis is transmitting at least three or four different viruses according to differences in symptomatology and electron microscopy observations. One of them is similar to Maize Mosaic Virus (MMV); a rhabdovirus with different serological reaction to MMV; a third similar in shape and size to "Maize Hoja Blanca Virus" and the last similar in shape but different serological reaction to maize stripe Virus of U.S.A.

- RESUMEN -

Estudios orientados a la identificación del vector o vectores de un complejo de síntomas característicos de enfermedades causadas por virus en maíz (Zea mays L.) en el Valle del Cauca (Colombia) permitieron identificar el delfácido del maíz, Peregrinus maidis (Ashmead) (Homoptera: Delphacidae), como uno de los insectos más prevalentes en los campos de maíz afectados. Se realizaron observaciones preliminares sobre los hábitos del insecto y sobre inoculaciones a plántulas de maíz con grupos de insectos colectados en el campo. Los resultados de este estudio que P. maidis está transmitiendo por lo menos tres o cuatro virus con sintomatología diferente, según observaciones realizadas al microscopio electrónico. Uno de ellos está relacionado con el virus del mosaico del maíz (MMV), un rabdovirus serológicamente diferente al MMV, un tercero similar en forma y tamaño al virus de la hoja blanca del maíz y un último similar morfológicamente pero serológicamente distinto del "Maize Stripe Virus" de los Estados Unidos.

INTRODUCCION

El maíz (Zea mays L.), uno de los principales cultivos en Colombia, presenta una serie de problemas que limitan su producción considerablemente. Como uno de los elementos responsables de la baja productividad se pueden mencionar los problemas patológicos, entre los cuales los virus y los mollicutes del maíz, desconocidos e ignorados en nuestro medio, están adquiriendo especial importancia.

En el Valle del Cauca en el cultivo del maíz, además de presentarse una de las razas del virus del mosaico de la caña de azúcar (Varón de Agudelo y Martínez, 1977), Martínez et al (1980a) registraron la presencia del virus del rayado colombiano, y Martínez et al (1980b) confirmaron la presencia del espiroplasma causante del enanismo del maíz.

Además de estos problemas patológicos, la observación de síntomas diferentes a los producidos por los patógenos ya mencionados y los estudios preliminares de microscopía electrónica y serología de muestras de maíz aparentemente afectado por virus, Martínez et al 1980 a,c,d.) indican la presencia de un complejo de virus desconocidos hasta ese momento en Colombia. Algunos de estos virus son morfológicamente similares, y como en el caso del mosaico del maíz, serológicamente rela-

Contribución del Programa de Fitopatología, Laboratorio de Virología. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).

Ing. Agr., M. Sc., Programa Nacional de Fitopatología, ICA Centro Experimental Palmira, Apartado Aéreo 233, Palmira, Valle del Cauca; e Ing. Agr., Ph. D., Laboratorio de Virología, ICA, Apartado Aéreo 151123 El Dorado, Bogotá.

cionados con los virus transmitidos por el delfácido del maíz, *Peregrinus maidis* (Ashmead) (Homoptera: Delphacidae).

En el presente trabajo se observaron algunos hábitos del delfácido del maíz y se realizaron estudios preliminares sobre la transmisión por este insecto de virus presentes en maíz en el Valle del Cauca.

REVISION DE LITERATURA

El delfácido del maíz, *P. maidis*, se encuentra en las áreas productores de maíz en los trópicos húmedos (Brewbaker, 1979). Sobre su presencia en Colombia, existen evidencias en la Academia de Ciencias de California que tienen en su colección especímenes recogidos en Buenaventura en mayo de 1951 y en Cartago en marzo de 1953 (Lois B. O'Brien, comunicación personal). La misma investigadora detectó su presencia en un grupo de delfácidos colectados en Palmira en 1975. En 1978, J. P. Kramer, del SEL-11B111 en Washington, lo identifica nuevamente en un grupo de insectos colectados en el Valle del Cauca (ICA, 1979).

En su asociación con el cultivo del maíz, P. maidis aparece como el vector de varios virus, siendo el más conocido el "maize mosaic virus" (MMV) (Herold, 1972) o enanismo rayado del maíz (Lastra, 1977). Este virus fue observado por vez primera en Hawaii en 1914 por Kunhel (1921), quien demostró luego su transmisión por P. maidis (Kunkel, 1922), Más tarde, Stahl (1927), al realizar estudios en Cuba con un mosaico en maíz que se consideraba similar al virus del mosaico de la caña de azúcar, encuentra que no se trata de este mosaico, el cual es transmitido por áfidos, sino de un virus transmitido por *P. maidis* y caracterizado por la presencia de rayas finas a lo largo de las hojas de plantas afectadas, acompañadas por severa alteración de las plantas enfermas, en contraste con el mosaico transmitido por áfidos que es menos severo. En este trabajo, Stahl registra que en ocasiones se observan rayas gruesas como uno de los síntomas y hace referencia a la presencia de bandas cloróticas que él consideró el resultado de la fusión de las rayas.

Registros posteriores indican la presencia del virus en Trinidad, Tanganika, Puerto Rico, Mauricio, Surinam y Venezuela (Herold, 1972), en los Estados Unidos (Bradfute et al, 1974), en Filipinas (Esconde, 1976) y en la India (Chatterjee y Nimbalkar, 1977).

Algunas de las relaciones insecto vector-virus han sido estudiadas en Hawaii (Carter, 1941; McEwen y Kawanishi, 1967).

Además de ser vector del virus del mosaico del maíz, *P. maidis* está registrado en la literatura como vector del "maize stripe virus" (MSV) y del "maize line virus" (MLV) en Africa (Kulkarni, 1973), del virus de la hoja blanca del maíz (Trujillo et al, 1974), y del "maize stripe virus" (MStpV) en los Estados Unidos (Gingery et al, 1979). Es necesario aclarar aquí que el MSV en el Africa es un virus con partículas isométricas de 35 a 40 mm de diámetro (Kulkarni, 1973), mientras que el MStpV, en los Estados Unidos corresponde a un virus con partículas en forma de filamentos bastante delgados (O.E. Bradfute, comunicación personal).

En estudios de microscopía electrónica de hojas de maíz colectados en el Valle del Cauca, se observaron las partículas características del mosaico del maíz en plantas con síntomas de rayas finas (Martínez et al, 1980d), la existencia de un nuevo rhabdovirus en maíz asociado con síntomas de raya gruesa (Martínez et al, 1980c) y además partículas isométricas de 40 a 50 mm de diámetro en plantas con síntomas similares a los descritos por Kulkarni (1973) para el MSV y a los descritos para la hoja blanca del maíz (Trujillo et al, 1974), así como también los filamentos bastante delgados asociados con el MStpV en los Estados Unidos.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó bajo condiciones de invernadero en los Centros Experimentales "Palmira" y "Tibaitatá" del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA.

Como huésped se utilizó plantas sanas de maíz de la línea ICA L-234, que bajo condiciones de campo había mostrado una alta susceptibilidad al complejo de problemas causados por virus en el Valle del Cauca. Como fuente de inóculo se utilizó el insecto *P. maidis* en diferentes estados de desarrollo, colectado en forma individual con la ayuda de un aspirador manual, en un lote de maíz en el Centro Experimental "Palmira". En este lote había una alta incidencia de los síntomas asociados con las partículas de virus descritas por Martínez et al (1980 a, c, d), situación que estuvo asociada con altas poblaciones del insecto.

Inicialmente se establecieron dos grupos de insectos, una para los trabajos en "Palmira" y el otro para los trabajos en "Tibaitatá". Este segundo grupo se transladó a Bogotá por vía férrea, en una planta sana de maíz cubierta con una jaula de Nitrato de Celulosa de 8 cm de diámetro y 30 cm de largo, y con ventanas cubiertas con malla plástica para ventilación.

En "Palmira", los insectos se subdividieron en ocho grupos de 10 adultos, y cada grupo se colocó en una plántula sana de maíz de alrededor de 10 cm de altura, cubierta con una jaula de Nitrato de Celulosa de 5 cm de diámetro y 20 cm de largo con ventanas de malla plástica para ventilación.

Los insectos sobrevivientes en cada grupo, se transfirieron a intervalos semanales a nuevas plántulas sanas de maíz, durante el tiempo que permanecieron vivos. Todas las plántulas de maíz inoculadas por este procedimiento se observaron por 6 a 8 semanas, para determinar el posible desarrollo de síntomas y obtener información preliminar sobre los períodos de incubación en la planta. Un grupo adicional de adultos se transfirió a una planta sana de más de 30 cm de altura confinada dentro de una jaula de madera de $0.50 \times 0.50 \times 1.20$ m con paredes en malla plástica, donde se estableció una colonia del insecto para realizar observaciones sobre su comportamiento y además, para tener insectos para observaciones posteriores.

En una forma similar en "Tibaitatá" se establecieron 20 colonias de 10 insectos cada una, con adultos y con insectos en los últimos estados ninfales separadamente. Los insectos se transfirieron a nuevas plántulas sanas de maíz a intervalos de 3 a 4 días, y las plantas así inoculadas se observaron por 6 a 8 semanas. También, se establecieron dos colonias para realizar observaciones sobre hábitos del insecto.

RESULTADOS Y DISCUSION

Hábitos del insecto

En condiciones de campo, *P. maidis* en su estado adulto y en los últimos instares ninfales se encontró alimentándose preferentemente en la base de las hojas y en las hojas más jóvenes, especialmente en las partes que aún no han emergido completamente, donde encuentra una especie de escondite que le permite pasar inadvertido. En plantas en las cuales se había ya formado la mazorca, se encontró que las ninfas preferían alimentarse sobre estas.

Al observar el comportamiento del delfácido del maíz en el invernadero, se encontró que las ninfas pequeñas formando grupos más o menos numerosos se alimentaban en la parte baja del tallo (Fig. 1). A medida que pasaron a otros instares ninfales comenzaron a ascender y se dispersaron hasta que en los últimos instares (Fig. 2) y como adultos se les encontraron alimentándose en el tallo donde se encuentra la yagua de la hoja o en la base de las hojas, preferentemente por el envés, aunque también lo hacen por el haz.

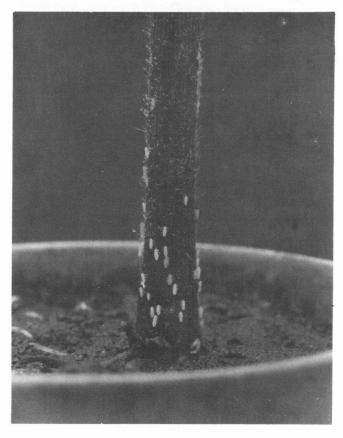


Figura 1. Grupo de ninfas de Peregrinus maidis en su primer y segundo instar.

El hábito de esconderse en la vaina de la hoja, o en las hojas más jóvenes que aún no han emergido completamente, se observó también en condiciones de invernadero, de tal manera que en ocasiones las plantas en la jaula parecían como sino tuvieran insectos. Quizás este hábito contribuye a que en las colecciones periódicas realizadas en el Valle del Cauca, previas a este estudio, sólo se le encontró ocasionalmente. Fue necesario, con base en las evidencias de que un virus transmitido por *P. Maidis* se encontraba en el Valle del Cauca (Martínez, et al 1980d), para que inspecciones cuidadosas de las plantas permitieran la localización de grandes poblaciones.

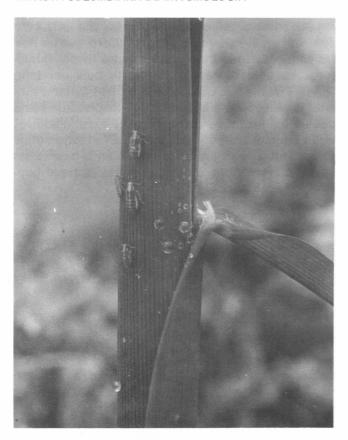


Figura 2. Ninfas de Peregrinus maidis en cuarto y quinto instar.

En los sitios de alimentación, se observó frecuentemente la presencia de un exudado azucarado de coloración rojiza, que podía presentarse en forma de gotas de menos de 0,5 mm de diámetro o alcanzar en ocasiones más de 2 a 3 mm. (Fig. 3).

Transmisión de virus

Al observar el desarrollo de síntomas sobre las plantas inoculadas con los insectos colectados en el campo, se encontró que en algunas de ellas, 4 ó 5 días después de la inoculación se comenzaban a presentar lesiones cloróticas hacia la base de las hojas más nuevas, características de los síntomas producidos por virus de plantas.

En observaciones posteriores se encontró que algunas de las lesiones se caracterizaban por presencia de rayas cloróticas muy finas (Fig. 4), similares a las descritas como características del virus del mosaico del maíz.

Otras plantas presentaron el síntoma de raya gruesa (Fig. 5) que había sido observado desde los trabajos iniciales de Sthal (1927) y que Lastra (1977) y Lastra y Trujillo (1976) consideraron como otra raza del virus del mosaico del maíz, pero

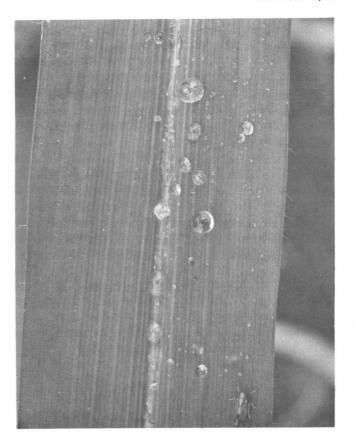


Figura 3. Exudados azucarados de diferentes tamaños que se presentan por el haz o el envés de las hojas, asociados con sitios de alimentación de Peregrinus maidis. Estos exudados también se observan en el tallo.

que de acuerdo con los trabajos de serología y microscopía electrónica de Martínez et al (1980c), parecen corresponder a un nuevo rhabdovirus en maíz, serológicamente diferente al MMV y con características morfológicas y ultraestructurales del virus y de los tejidos afectados, que permiten diferenciarlos.

En otras plantas y con períodos de incubación más largos, se observaron síntomas diferentes a los característicos de rayas finas o rayas gruesas previamente descritos. Estos síntomas estuvieron asociados inicialmente con la presencia de lesiones cloróticas más redondeadas, que muy pronto se fusionaron para formar un área clorótica más o menos grande (Fig. 6), que luego se convirtió en una clorosis del área foliar de la base de las primeras hojas afectadas y que causó clorosis total en las hojas que se formaron más tarde. Estos síntomas fueron similares a los descritos para el MSV (Kilkarni, 1973), el virus de la hoja blanca del maíz (Trujillo et al, 1974, Lastra y Trujillo, 1976) y para el MStpV

(Gingery et al, 1979), y posiblemente similares a los casos que Stahl (1927) consideraba como fusión de las rayas cloróticas finas características del virus del mosaico del maíz.

Estos síntomas también fueron similares a los observados en material de maíz en el cual Martínez et al (1980a) encontraron partículas de virus con forma isométrica y un diámetro de alrededor de 40 a 50 nm, siendo en esta forma similares a los descritos para la hoja blanca del maíz (Trujillo et al, 1974) y a las del "Maize Stripe Virus" en Africa (Kulkarni, 1973).

En material con una sintomatología similar también fueron observadas partículas con la apariencia del virus asociado con "maize stripe virus" de los Estados Unidos, pero los estudios serológicos realizados con este último mostraron que no estaban relacionados.

Además de los síntomas previamente descritos,

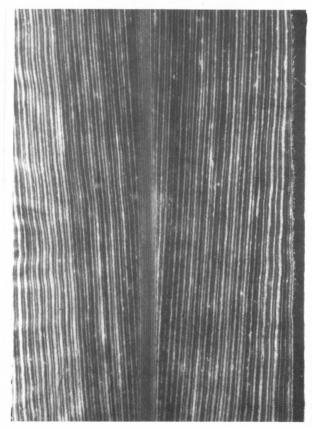


Figura 4. Rayas cloróticas muy finas observadas en algunas de las plantas de maíz inoculadas por medio de Peregrinus maidis. Estos síntomas son similares a los descritos para el "maize mosaic virus" (MMV) (Virus del Mosaico del Maíz).

en algunas plantas se presentó una sintomatología más compleja, en la cual no fue posible diferenciar la presencia de rayas finas, rayas gruesas o clorosis general (Fig. 7). Esta situación se está considerando por el momento como el resultado de una mezcla de los problemas enunciados previamente, ya que esta fue la experiencia cuando se realizaron observaciones al microscopio electrónico de tejido colectado en el campo mostrando síntomas similares.

Los resultados anteriores indican que *P. maidis* está transmitiendo por lo menos cuatro virus distintos en el Valle del Cauca, uno de ellos serológicamente relacionado, o morfológica y citopatológicamente similar al virus del mosaico del maíz. Un segundo virus, que a pesar de corresponder como el anterior al grupo de los rhabdovirus, es serológicamente distinto al MMV y además presenta diferencias morfológicas y citopatológicas que permiten identificarlo con un nuevo virus. Un tercero, similar en forma y tamaño al virus de la hoja blanca del maíz o al "maize stripe virus" del Africa y un cuar-

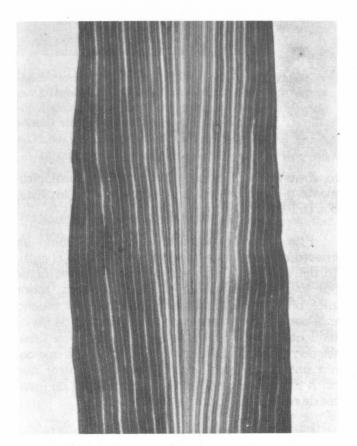


Figura 5. Rayas cloróticas de alrededor de 1 mm de ancho observadas como síntoma característico en algunas de las plantas inoculadas por medio de Peregrinus maidis.

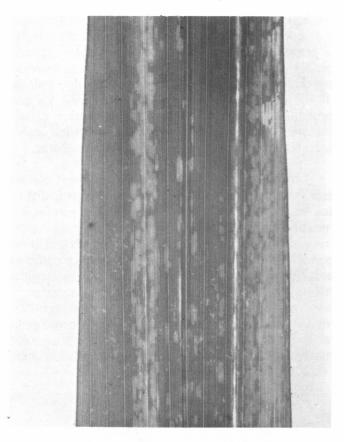


Figura 6. Lesiones cloróticas más o menos redondeadas que se fusionan para formar áreas cloróticas grandes; estos síntomas, en hojas que se forman posteriormente ocasionan una clorosis general.

to virus similar morfológicamente pero serológicamente distinto del "maize stripe virus" de los Estados Unidos.

Esta situación presenta a *P. maidis* como un insecto de gran importancia económica en el cultivo del maíz en Colombia, ya que el ser vector de por lo menos cuatro problemas diferentes, todos ellos presentes en el Valle del Cauca, hace mucho más complejo el manejo de los programas de mejoramiento, en los cuales se quieran incorporar fuentes de resistencia contra estos virus y exige que como una de las posibles medidas de control que estos programas se orienten a la búsqueda de fuentes de resistencia contra el insecto.

Las observaciones de Stahl (1927) sobre la presencia de varios síntomas, y algunas de las discrepancias en los períodos de incubación entre Carter (1941) y McEwen y Kawanishi (1967) sugieren que ellos también estaban trabajando con el complejo de problemas que hoy día es posible distinguir, al adicionar a la identificación del vector y a la sinto-

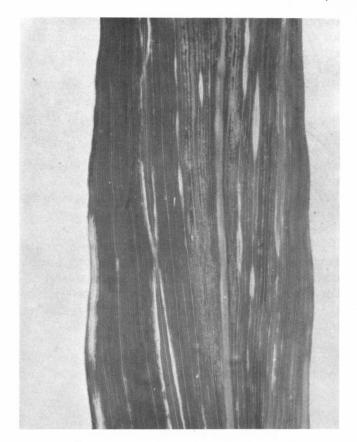


Figura 7. Complejo de síntomas con la presencia de tres a cuatro virus diferentes, todos ellos transmitidos por Peregrinus maidis.

matología, el uso de técnicas de microscopía electrónica y serología, como herramientas en el diagnóstico del virus.

Una o dos semanas después de que algunos insectos se habían alimentado, se observó sobre las hojas y alrededor del sitio de alimentación, la presencia de un anillo concéntrico difuso con diámetro variable (Fig. 8). Este síntoma no aparece registrado en ninguno de los trabajos consultados sobre P. maidis o de los virus que él transmite a maíz. Aún no se conoce el orígen de estos anillos pero se puede sugerir que están asociados con el sitio de entrada de uno de los patógenos transmitidos por P. maidis o que se trata de una reacción de la planta a una toxina del insecto. Esta última situación se considera menos probable, especialmente por el hecho de no ser producida por todos los especímenes, ni estar relacionada con sexo o edad de estos. La relación entre esta lesión y alguno de los virus transmitidos por P. maidis u otra posible causa se encuentra en estudio.

Las observaciones preliminares obtenidas en

este estudio, en el cual además fue posible determinar que tanto los adultos como las ninfas eran transmisoras de los virus en consideración, han permitido iniciar estudios más amplios sobre la biología y hábitos del insecto y además iniciar los trabajos de investigación que permitan caracterizar cada uno de los distinto patógenos transmitidos por el delfácido del maíz, en el Valle del Cauca.

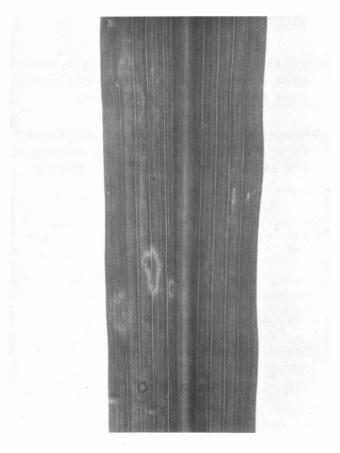


Figura 8. Anillos concéntricos difusos, de diámetro variable, asociados con el sitio de alimentación de algunos especímenes de Peregrinus maidis.

BIBLIOGRAFIA

- BRADFUTE, O.E.; D.C. ROBERTSON and R. W. Toler. 1974. Possible occurrence of maize mosaic virus in the Continental United States. Proc. Amer. Phytophatol. Soc. 1:36 (Abstr.).
- BREWBAKER, J.L. 1979. Diseases of maize in the wet lowland tropics and the collapse of the classic Maya civilization. Economic Botany 33: 101-118.

- CARTER, W. 1941. *Peregrinus maidis* (Ashm) and the transmission of corn mosaic. I. Incubation period and longevity of the virus in the insect. Ann. Ent. Soc. America 34: 551-556.
- CHATTERJEE, S.N. and M. R. NINMBALKAR. 1977. Occurrence of maize stripe disease in Maharashtra. Indian J. Agric. Sci. 47: 427-429.
- ESCONDE, O.R. 1977. Viral diseases of maize and National Programs of maize production in the Philippines pp. 83-88. *In* Proc. Maize Virus Dis. Colloq. and Workshop. Aug. 16-19, 1976. Ohio Agric. Res. and Devel. Center Wooster, 145 pp.
- GINGERY, R.E.; L.R. NAULT, J.H. TSAI and R. J. LASTRA. 1979. Occurrence of maize stripe virus in the United States and Venezuela. Plant Dis. Reptr. 63: 341-343.
- INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Programa de Entomología. 1979. Identificación Homopteros. Notas y noticias entomológicas. Julio-Agosto. Bogotá. pp. 79.
- HEROLD, F. 1972. Maize mosaic virus. No. 94. In: C.M.I./A.A.B. Descriptions of plant viruses. Kew Surrey, England. 4 pp.
- KULKARNI, H.Y. 1973. Comparison and characterization of maize stripe and maize line viruses. Ann. Appl. Biol. 75: 205-216.
- KUNKEL, L. O. 1922. Insect transmission of yellow stripe disease. Hawaiian Sugar Planters. Rec. 26:58-64.
- KUNKEL, L.O. 1921. A possible causative agent for the mosaic disease of corn. Hawaiian Sugar Planters' Assoc. Bull. Expt. Sta. Ser. 3: 44-58.
- LASTRA, R.J. 1977. Maize mosaic and other maize and virus-like diseases in Venezuela. pp. 30-38. *In* Procc. Maize Virus Dis. Colloq. and Workshop. Aug. 16-19, 1976. Ohio Agric. Res. and Devel. Center. Wooster. 145 pp.
- LASTRA, R.J. y G.E. TRUJILLO. 1976. Enfermedades causadas por virus y micoplasmas. Agronomía Tropical. 26: 441-455.
- MARTINEZ, G.; O.E. BRADFUTE; D.T. GOR-DON; L.M. RICO DE CUJIA; F.H. VARON DE AGUDELO y O. GUERRERO. 1980a. Sintomatología, microscopía electrónica y serolo-

- gía en estudios preliminares de identificación de virus en maíz en Colombia. Res. IV Congreso Nacional de ASCOLFI. Medellín, julio 2-5, 1980. pp. 53-54.
- MARTINEZ, G.; F.H. VARON DE AGUDELO y O.E. BRADFUTE. 1980 b. Identificación del espiroplasma del enanismo del maíz en el Valle del Cauca. Res. IV Congreso Nacional de ASCOLFI. Medellín, julio 2-5, 1980. p. 56.
- MARTINEZ, G.; F.H. VARON DE AGUDELO; O.E. BRADFUTE y D.T. GORDON. 1980c. Identificación de un nuevo rhabdovirus en maíz. IV Congreso Nacional de ASCOLFI. Medellín, julio 2-5, 1980, pp. 57-58.
- MARTINEZ, G.; F.H. VARON DE AGUDELO; O.E. BRADFUTE y D.T. GORDON. 1980d. El virus del mosaico del maíz en Colombia.

- Res. IV Congreso Nacional de ASCOLFI. Medellín, julio 2-5, 1980. p. 61.
- McEWEN, F.L. and C.Y. KAWANISHI. 1967. Insect transmission of corn mosaic: Laboratory studies in Hawaii. J. Econ. Entomol. 60: 1413-1417.
- STAHL, C.F. 1927. Corn stripe disease in Cuba not identical with sugarcane mosaic. Bull. Trop. P1. Res. Fdn. 7:3-12.
- TRUJILLO, G.E.; J.M. ACOSTA and A. Piñero. 1974. A new corn virus diseases found in Venezuela. Plant Dis. Reptr. 58: 122-126.
- VARON DE AGUDELO, F.H. y G. MARTINEZ. 1977. Estudio sobre una nueva enfermedad viral en Colombia. Revista ICA 12: 351-365.