

19 00381

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Ciencias



"ALTERACIONES PROVOCADAS POR EL VIRUS DEL RAYADO  
FINO DEL MAIZ, EN Dalbulus elimatus (Ball)  
HOMOPTERA-CICADELLIDAE).

EJEMPLAR UNICO

T E S I S

Que para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P r e s e n t a

NORA ELIZABETH GALINDO MIRANDA

México, D. F.

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A Mariana, mi luz.

A mis padres, con mi más sincero  
agradecimiento y amor, por todo lo  
que ellos son.

A Elvira, Delfina, Héctor, José  
Luis y Orlando, por su cariño y  
apoyo.

Al Sr. Ing. Pedro Camarena  
Machorro, como un homenaje  
póstumo.

Quiero agradecer de una manera muy especial a la Dra. Julieta Ramos-Elorduy de Conconi, por la dirección de este trabajo, por la confianza, enseñanza, interés y apoyo que me ha brindado.

Al Dr. Rafael Rodríguez Montessoro, todas sus atenciones y la donación del pie de cría para establecer el cultivo de Dalbulus elimatus (Bell), que fué básico para la realización de nuestra investigación.

A los miembros del jurado: Dra. Leonila Vázquez García, Dr. Carlos Márquez Mayaudón, Dr. Rafael Rodríguez Montessoro, Dra. Regia Ma. Aroche Alfonso, Dr. Joaquín Bueno Soria, Dr. Harry Brailovsky Alperowitz por el interés en la revisión de este trabajo, así como por sus acertadas sugerencias.

Agradezco a la Sra . Ma. Teresa Pozos Jiménez por su colaboración en el trabajo mecanográfico y al Arq. Francisco Javier Gonzalez Taboada por la elaboración de las gráficas.

Presento mi más sincero agradecimiento a los siguientes investigadores por su valiosa asesoría:

- Fitopatología. Dr. Rafael Rodríguez Montessoro. Rama de fitopatología del Centro de Postgraduados de Chapingo.

- Manejo de insectos vectores. Dr. Karl Maramorosch. Instituto Waksman of Microbiology, Rutgers University New Jersey. USA.

Dr. Robert Whitcomb.

- U.S. Agricultural Research Department. Beltsville, Maryland. USA.

- Histopatología. Dr. Manuel Reynoso G. Depto. de Anatomía Patológica Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional del I.M.S.S.

- Bioquímica. Dra. Bernadette Delage-Darchen. Estación Biológica de Les Eysiees. Universidad de París. VI. Francia.

## CONTENIDO

I	INTRODUCCION .....	1
	- Importancia del maíz en la nutrición humana y sus enfermedades... 1	
	- Insectos como vectores de enfermedades y la importancia de los Cicadellidae .....	10
	- Virus "Rayado fino del maíz" (VRFM) .....	21
	- <u>Dalbulus elimatus</u> (Ball). Posición taxonómica y descripción.....	23
	- Interacción planta-agente infeccioso-vector.....	25
	- Morfofisiología del aparato digestivo y excretor en cicadélidos..	30
	- Enzimas digestivas en insectos y en particular en Cicadellidae...36	
II	OBJETIVO.....	41
III	MATERIAL Y METODOS.....	42
	- Cultivo.....	42
	- Anatomía.....	44
	- Histología.....	44
	- Detección enzimática.....	46
	- Histopatología.....	51
IV	RESULTADOS.....	54
	- Anatomía.....	54
	- Histología e histopatología.....	64
	- Detección enzimática.....	85
V	DISCUSION.....	95
VI	CONCLUSIONES.....	111
VII	LITERATURA CITADA .....	113
VIII	APENDICE.....	120

## 1. INTRODUCCION

### IMPORTANCIA DEL MAIZ EN LA NUTRICION HUMANA Y SUS ENFERMEDADES

#### Desnutrición en México y su relación con el consumo de cereales.

Los cereales son la fuente principal de nutrientes para la población mexicana, en donde el maíz constituye el alimento básico de la dieta nacional.

Desde el punto de vista de nutrición de un adulto, una dieta a base de cereales, cuyo contenido de proteínas sea sólo de 10 a 12 %, es adecuada en lo que respecta a su equilibrio en proteína y aminoácidos esenciales (Loomis R. 1976).

Los cereales de grano pequeño o grande, satisfacen en conjunto más del 50 % de las necesidades de proteína y energía en el mundo.

Además si tomamos en cuenta las grandes cantidades de cereales que se transforman en carne y leche, por la acción metabolizadora de la ganadería; y, en bebidas alcohólicas y otros productos, por la acción de los microorganismos, llegamos a la conclusión de que el 75 % de las necesidades en energía y proteína del hombre, proceden de los granos cultivados (Loomis R. 1976).

Del maíz se siembran más de 100 millones de hectáreas por año, y se tiene una producción anual de 250 millones de toneladas, siendo el cultivo

nativo de mayor importancia en el Continente Americano.

Entre los principales productores de maíz están Estados Unidos, Argentina, Brasil, China, Francia, India, Indonesia, Italia, México, Filipinas, Rumania, Sudafrica, Rusia y Yugoslavia (Shurtleff mc 1980).

Los países que lo usan principalmente como alimento para los humanos, son México y otros países de Centro y Sudamérica, Africa y Asia; mientras que en Estados Unidos, las 2/3 partes se utilizan como forraje para el ganado (Mangelsdorf 1951).

#### El maíz como cultivo básico en México.

México ocupa una posición intermedia con respecto a la evolución de la agricultura en los distintos países del mundo. En 1970 ocupaba el tercer lugar de la producción mundial (Loomis 1976), mientras que durante la década de los años 30 y principios de los años 40, la producción de alimentos del país se hallaba estancada.

En 1945 México ya importaba entre el 15 y 20% de los cereales consumidos en el país, especialmente maíz y trigo, con objeto de contribuir a la alimentación de sus 22 millones de habitantes.

En las dos décadas siguientes cambió el panorama, registrándose un aumento en la producción de cereales básicos y en 1960, incluso había desaparecido el déficit de los productos alimenticios.



En 1963 la producción de alimentos empezó a superar la demanda interior y durante los 5 años siguientes se exportaron cantidades considerables de maíz y trigo, ello fué debido principalmente a la apertura de nuevas tierras de cultivo.

Según el Banco Nacional de México, el país exportó 5.4 millones de toneladas de maíz; 1.8 millones de toneladas de trigo y 339,000 toneladas de frijol, durante el período de 1964-1969.

A pesar de la necesidad de una mayor producción de frijol, arroz y sorgo, la preocupación principal es por el maíz, debido a que en el medio rural prevalece la "dieta indígena", basada en el maíz, que aporta del 60 al 80% de las calorías, que luego son complementadas con otros alimentos (Ramírez J.H. et al 1973).

Al final de los años 60 por causa de la explosión demográfica no fué suficiente la sobreproducción que teníamos, lo cual dió como resultado que durante los primeros años de los setentas México tuviera que importar entre el 15 y el 20% de los cereales básicos que consumía el país.

En México existe el problema de la desnutrición y ello se vé reflejado por el hecho de que el 85% de la población se alimenta con limitaciones; y de ellos el 60% consume sólo los alimentos necesarios para no morir de inanición (Conconi et al 1982).

Los grupos más vulnerables de personas son los niños, las mujeres embarazadas, los ancianos y los lactantes, que son los más castigados por

la desnutrición, especialmente en el medio rural. Los niños de ese sector sólo consumen 940 calorías y 25.8 g. de proteínas al día.

En las zonas rurales alrededor del 90% de la población padece sub-consumo calórico y proteínico en algún grado (Ramírez J.H. et al 1973).

Las zonas que presentan los índices más altos de desnutrición se caracterizan por la marginación, donde prevalece un alto grado de indigenismo, baja productividad agrícola y alta densidad de población para las condiciones económicas de la zona.

El grado de autosuficiencia de México en cuanto a la producción de alimentos, dependerá de la tasa de incremento de la producción y preservación de este cereal, por lo cual es muy importante cualquier estudio relacionado con él.

La posición taxonómica del maíz según Sánchez, S.O. (1976) es la siguiente:

Subdivisión Angiospermae

Orden Glumiflorae

Familia Gramíneae

Subfamilia Panicoídeae

Tribu Maydeae

Género Zea

Especie Z. mayz L.

La dependencia con el maíz se debe a que en el transcurso de los

Últimos 10,000 años, el hombre ha escogido y domesticado un número pequeño de plantas y animales, estableciendo de este modo una dependencia cada vez más estrecha entre el hombre y las especies a su cargo.

La tendencia a que cada vez un número mayor de personas se alimenten a expensas de un número cada vez menor de especies vegetales y animales, ha llegado actualmente a un punto en que la mayoría de la población mundial depende en forma absoluta de un puñado de especies, y por ello, a medida que esta tendencia cobra intensidad, el hombre se vá haciendo más y más vulnerable.

Los cuatro cultivos que encabezan la lista, aportan al consumo de alimentos en todo el mundo, más toneladas que la totalidad de los veinticinco cultivos restantes.

El suministro de alimentos depende ahora del éxito de un pequeño número de especies y una catástrofe en cualquiera de estas fuentes puede representar automáticamente la muerte por inanición de millones de personas (Harlan, J. 1976).

#### Enfermedades del maíz.

No todo el grano que se siembra llega a dar rendimiento, ya que la planta de maíz es susceptible de tener enfermedades o ser atacadas por plagas que reducen la producción y la calidad de la cosecha.

Las enfermedades pueden ser infecciosas (bióticas o parasíticas) o no

infecciosas (no parasíticas, bióticas ó abióticas).

En el primer caso los agentes causales pueden ser hongos, bacterias, micoplasmas (MLO), espiroplasmas (SLO), rickettsias (RLO), virus, nemátodos, plantas parásitas. Por lo que respecta a las no infecciosas, las causas pueden ser entre otras las malas condiciones climáticas (luz, agua y temperatura), deficiencias o exceso en nutrientes (abióticas) y anomalías genéticas (bióticas).

Sin embargo, para que una enfermedad se dé deben coincidir 3 factores: presencia del agente infeccioso, medio ambiente adecuado y susceptibilidad de la planta; además, en los casos que se requiera (virus, bacterias, MLO, SLO, RLO), la presencia de un vector. (Fig. 1)

Ver tabla 1.

Los virus son transmitidos en general a las plantas a través de la polinización o por heridas hechas mecánicamente o por animales (principalmente artrópodos y nemátodos); por hongos, plantas parásitas, inoculación mecánica o injertos.

La mayoría de los virus de plantas son nombrados por el tipo de hospedera que atacan y por los síntomas que producen.

Las plantas parasitadas por virus, son más susceptibles a las pudriciones causadas en tallo y raíz y posiblemente otras enfermedades.

Se han reportado 40 virus o cepas de virus que causan enfermedades

FIG. 1. FACTORES MEDIOAMBIENTALES QUE INFLUYEN EN LAS ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS.

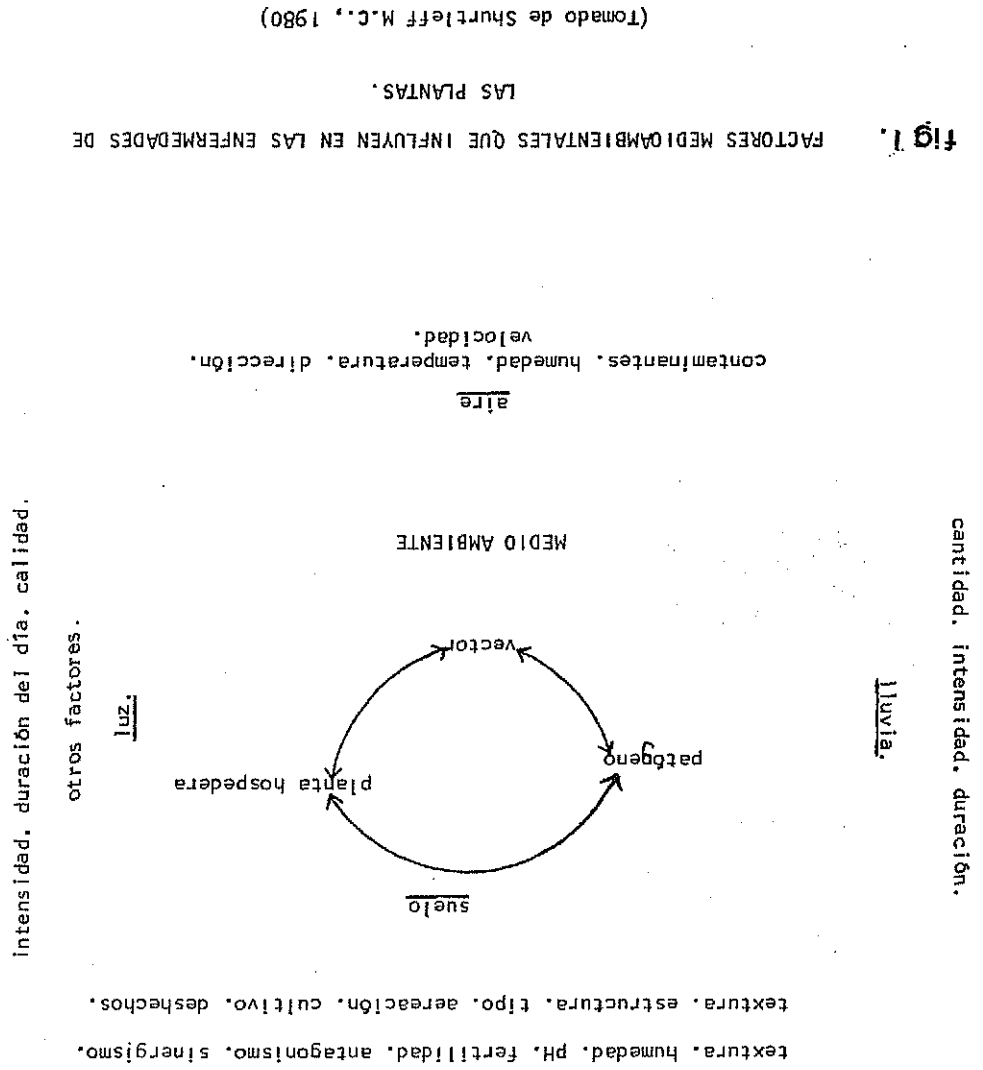


TABLA 1

RELACION DE ENFERMEDADES DEL MAIZ QUE SE ENCUENTRAN EN MEXICO Y SUS AGENTES CAUSALES. \*

Hongos:

-Mancha café del maíz	<u>Physoderma maydis</u>
-Mildió o cenicilla:	
Punta loca	<u>Sclerophthora macrospora</u>
Mildió rayado café	<u>Sclerophthora rayssiae var. zeae</u>
-Mancha negra o de asfalto	<u>Phyllacora maydis</u>
-Royas	
Roya común	<u>Puccinia sorghi</u>
Roya del sur	<u>Puccinia polysora</u>
Roya tropical	<u>Physopella zeae</u>
-Mancha concéntrica de la hoja	<u>Gloeocercospora sorghi</u>
-Mancha foliar por curvularia	<u>Curvularia lunata</u>
Tizón foliar por maidis	<u>Helminthosporium maidis</u>
Tizón foliar por turcicum	<u>Helminthosporium turcicum</u>
Antracnosis foliar	<u>Colletotrichum graminicolum</u>
-Mancha foliar por septoria	<u>Septoria maydis</u>
-Mancha foliar por Kabatiella	<u>Kabatiella zeae</u>
-Mancha foliar por Phyllosticta	<u>Phyllosticta sp.</u>
-Podrición del tallo por:	
Carbón de la espiga	<u>Sphaelotheca reiliana</u>
Marchitez tardía	<u>Cephalosporium acremonium</u>
Podrición negra del tallo	<u>Macrophomina phaseoli</u>
Falso carbón de la espiga	<u>Ustilaginoidea virens</u>
-Podriciones de la mazorca:	
Podrición rosada	<u>Fusarium roseum (Gibberella zeae)</u>
Podrición del grano	<u>Fusarium moniliforme (Gibberella fujikuroi)</u>
Diente de caballo	<u>Claviceps gigantea</u>
Carbón común	<u>Ustilago maydis</u>
Podrición por	<u>Nigrospora oryzae</u>
Podrición de la mazorca por	<u>Diplodia maydis</u>

Bacterias:

Podrición del tallo	<u>Erwinia carotovora var. zeae</u>
Marchitez de Stewart	<u>Erwinia stewartii</u>
Mancha rayada bacteriana de la hoja.	<u>Xanthomonas rubrilinea</u>

Virus:

Virus del mosaico y enanismo del maíz
Virus del mosaico del maíz.
Virus del rayado fino del maíz.
Virus del rayado del maíz.

MLQ

SLO:

Achaparramiento del maíz	<u>Spiroplasma</u>
Achaparramiento del maíz	<u>Mycoplasma</u> (No se ha podido aislar, pero reacciona a tetraciclina).

\* Según De León (1974).

al maíz en todo el mundo, ya sea a nivel de laboratorio o de campo.

La identificación de una enfermedad viral en el campo es muy difícil, ya que puede haber confusiones por una sintomatología no específica; por la presencia de varios virus en el área; por la presencia de plantas infectadas por uno o varios virus; por diferentes cepas virales; por equivocaciones que pueden darse en el caso de que la enfermedad sea provocada por espiroplasmas o micoplasmas debido a la similitud de los síntomas.

#### Tipos de transmisión.

Las enfermedades de las plantas causadas por virus, pueden dañar a las hojas, tallos, raíces, frutos, semillas o flores y causar pérdidas económicas por reducción en la producción y calidad de los productos.

Los virus vegetales raramente llegan a la planta en forma espontánea. Por esa razón los virus no son transmitidos por agua o por viento, ni aún cuando vayan en la savia o en desechos de plantas y generalmente no causan infección, a menos que lleguen a estar en contacto con el contenido celular.

Sin embargo pueden ser transmitidos de planta a planta de diferente manera:

#### 1.- Mecánicamente

- a. Injertos.
- b. Propagación vegetativa.

- i) bulbos
  - ii) rizomas
  - iii) estolones
  - iv) tubérculos
  - v) anastomosis de raíces
  - vi) plantas trepadoras
- 
- c. contacto directo
  - d. manejo de las plantas
  - e. semillas
  - f. polen

2.- Vectores.- En este tipo de transmisión los grupos principales son:

- a. insectos
- b. nemátodos
- c. ácaros
- d. hongos

Insectos como vectores de enfermedades.

El tipo de transmisión de virus más común e importante económicamente es efectuado por insectos vectores. Los insectos constituyen la mayor parte de vectores de los patógenos que se encuentran en los artrópodos.

Son relativamente pocos los grupos de insectos que pueden transmitir microorganismos que son agentes de enfermedades a las plantas, ya que sólo



están registradas algunas especies de los órdenes de Homoptera, Hemiptera, Thysanoptera, Coleoptera y Orthoptera. De ellos la mayoría pertenecen al orden Homoptera.

Los homópteros incluyen a los áfidos (Aphidoidea): principalmente Aphididae), insectos escama (Coccoidea: Pseudococcidae), mosquitas blancas (Aleyrodoidea: Aleyrodidae), y psílidos (Psylloidea: Psyllidae), todos estos dentro del suborden Sternorrhyncha. Por otra parte incluye a las cigarritas (Cicadoidea: Cicadellidae), mosca pinta (Cicadoidea: Cercopidae), membrácidos (Cicadoidea: Membracidae), fulgóricos (Fulgoroidea: Delphacidae y Cixiidae), dentro del suborden Auchenorrhyncha (Harrys 1979; Harris y Maramorsch 1980).

El orden Homoptera alberga el 80% de las especies de insectos vectores, de plantas (Ossianniilsoon, 1966 y Harris 1980),

De estos el 40% son transmitidos por miembros del suborden Auchenorrhyncha y el 60% por Sternorrhyncha.

Ver tabla 2.

Entre los vectores, los más importantes, tienen sus partes bucales de tipo picador-chupador (en donde la mandíbula y la maxila forman el estilete y el labro y el labio forman el estuche del mismo Fig. 2 y 3). Por el tipo de alimentación que poseen causan disturbios principalmente en tejidos vasculares.

Los estudios de transmisión por áfidos han sido amplios por la

## ORGANISMOS VECTORES Y AGENTES INFECCIOSOS QUE TRANSMITEN +

GRUPO VECTOR	AGENTE INFECCIOSO
Aphidae *	virus, mlo**, bacterias
Cicadellidae *	virus, slo**, mlo, rlo** y bacterias
Delphacidae *	virus, mlo, bacterias
Cixiidae *	virus, mlo, bacterias
Aleyrodidae*	virus, bacterias
Pseudococcidae *	virus, bacterias
Psyllidae *	mlo
Membracidae *	virus
Hemiptera *	virus, rlo, bacterias
Coleoptera	virus, hongos, bacterias
Thysanoptera	virus, bacterias y hongos.
Diptera	virus, bacterias
Acari	virus, mlo, bacterias
Nemátodos	virus, bacterias
Hongos	virus
Cercopidae *	bacterias
Lepidoptera	bacterias
Orthoptera	bacterias
Hymenoptera	bacterias

+ Modificada de Nielson 1962, 1968, Harris 1979, Maramorosch 1980, con base en la importancia y eficiencia de la transmisión.

\* Orden Homoptera

\*\* mlo-micoplasma; slo-espiroplasma; rlo-rickettsia.

facilidad de su cultivo, mientras que con los cicadélidos no se ha tenido tal suerte, ya que su ciclo de vida es más largo comparativamente, así como la disposición de individuos y por lo tanto su manejo se hace más difícil.

#### Importancia de los Cicadellidae como vectores de enfermedades.

Los cicadélidos son insectos fitófagos y su importancia económica radica en su relación con las plantas que el hombre utiliza como alimento, Oman (1949), cita que dentro de los daños que provocan las cigarritas a las plantas están las siguientes:

1.- Daño por enfermedades provocadas por virus, rickettsias, micoplasmas, espiroplasmas y bacterias, para algunas de las cuales los cicadélidos son los únicos vectores naturales conocidos.

2.- Daño por aparición de enfermedad, resultante por la introducción durante la fase de alimentación y entrada de sustancias extrañas, que probablemente interfieren con la translocación normal del material nutritivo (toxemias).

3.- Remoción directa del material alimenticio de la planta por la alimentación.

4.- Daños diversos causados por actividades tales como la oviposición y la defecación.

El primer registro de Cicadellidae como vectores de enfermedades a plantas fué hecho por Takata en 1895. En dicho trabajo demostró la transmisión del virus del achaparramiento del arroz por Recilia dorsalis (Motschulsky). En América, específicamente en Estados Unidos, el primer trabajo fué hecho por Ball trabajando con el "curly top" de la remolacha azucareca en 1909.

Hasta 1920 sólo tres especies de cigarritas vectoras eran conocidas, en las siguientes décadas el incremento en registros fué cada vez mayor: 1920 a 1930, 4 especies; 1930 a 1940, 10 especies; 1940 a 1950, 53 especies; 1950 a 1960, 29 especies; 1960 a 1965, 15 especies.

Dentro de los trabajos de Cicadellidae vectores existe un problema básico que ha sido la taxonomía, debido a que hay cambios frecuentes con respecto al nombre de los géneros y especies que entran en sinonimia, y a la falta de conocimiento de la entomofauna de esta familia en las zonas neotropicales.

Existe un buen número de géneros que requieren de una revisión exhaustiva para poder situar correctamente a sus especies.

Harris (1979); cita que dentro de la cigarritas se conocían hasta esa fecha 130 especies vectoras, cubriendo 10 subfamilias y 58 géneros que corresponden a más del 80% de todos los vectores del suborden Auchenorrhyncha.

La gran mayoría de géneros de Cicadellidae que actúan como vectores

se encuentran en la subfamilia Deltocephalinae, que es una de las mayores subfamilias por el número de especies que incluye.

Las especies de cigarritas vectoras se encuentran en las siguientes subfamilias Agallinae (13), Macropsinae (3), Gyponinae (2), Coelidiinae (2), Aphoridinae (2), Cicadellinae (28), Deltocephalinae (75) y Thyphocybinae (3).

Las cigarritas transmiten alrededor de 77 agentes de enfermedades (38 virus, 31 mlo, 4 slo y 4 rlos); con respecto a México ver Tabla 1. Dentro de los espiroplasmas se incluyen a los agentes causantes del "citrus stubborn"; el achaparramiento del maíz, los "aster yellow" y la enfermedad del "citrus little leaf", mientras que en los rlo se incluye a los agentes causales del almond leaf scorch", "phony peach", enfermedad de "Pearse de la uva (achaparramiento de la alfalfa o lucerna) y el "clover club leaf".

#### Tipos de vectores.

Independientemente de la situación taxonómica de la especie, hay otro tipo de problema que es la relación que se ha establecido entre el vector y el agente de la enfermedad.

En los estudios realizados para los diferentes vectores se hacen pruebas para determinar el tipo de relación agente infeccioso-vector, obteniendo las categorías de no persistente, persistente-circulativo o persistente-propagativo; el período de lactancia; el período de retención (semipersistente o persistente). Nielson (1968) estudia el tipo de

transmisión y cita tres tipos de vectores:

a) Auténtico. Son aquellas especies que han sido implicadas en la transmisión de enfermedades, ya sea experimental o naturalmente y esa transmisión ha sido confirmada por pruebas subsecuentes, ejemplo el virus del amarillamiento enano de la papa, transmitido por Aceratagallia curvata Oman (Cicadellidae-Agallinae).

b) Sospechoso. Son las especies que han sido registradas por la literatura, pero no han sido confirmadas por pruebas subsecuentes de transmisión. Ejemplo: el virus de la enfermedad de Pierce en la uva, (rio) en la Isla de Rhode, transmitida por Draeculacephala antica (Walker) (Cicadellidae-Cicadellinae) pero los resultados que cita Stoner (1958) no son concluyentes.

c) Implicados. Alude a las especies que no han sido incriminadas a través de resultados de pruebas de transmisión, pero han sido asociadas con cultivos enfermos y se presumen sean los vectores, pero la literatura que los cita no da evidencia alguna que sostenga que estas especies sean vectoras. (Nelson, 1968, cita 27 especies implicadas sin mencionar la enfermedad que causan).

Por lo que respecta a la especificidad entre el virus y su vector actualmente se reconoce que muchos factores individualmente o en combinación, pueden influenciarla, entre estos factores está el comportamiento de vectores potenciales, la habilidad del virus para multiplicarse en el artrópodo, la presencia o ausencia de inhibidores en los tejidos de los vectores o

secreciones, la permeabilidad del tejido del vector por el cual el virus debe pasar en la transmisión circulativa, y la inmunidad del vector a la infección del virus.

Storey (1932 y 1933) demostró que la habilidad para la transmisión de la enfermedad del maíz por cigarritas estaban determinadas genéticamente. Seleccionando y cruzando hembras y machos que habían transmitido el virus en sus experimentos, obtuvo una línea de insectos que era altamente eficiente en la transmisión de virus. Similarmente seleccionados y cruzando hembra y macho que no habían transmitido, obtuvo una línea de cigarritas que no podían transmitir el virus.

Por lo que respecta a la forma en que el virus puede mantenerse en el insecto, se han emitido varias hipótesis con las cuales se aclare el problema, por ejemplo Bawden (1950) considera la evidencia de la multiplicación de los virus en la planta hospedera y en el vector, y dice que la fuente de evolución inicial sería la selección a favor de aquellos virus que no causarían síntomas en los insectos vectores. Black (1950) de acuerdo con lo dicho con Bawden dice que los virus con ciclos reproductores en las plantas y animales evolucionan por evolución retrógrada de organismos que en un tiempo fueron saprofiticos o comensales en plantas y animales. En este caso la idea de que los organismos así asociados tienden a ajustar su relación hacia una existencia pacífica, tiene validez y se podría esperar que el grado de ajuste sea en factor de tiempo y que la tendencia genética y la presión de selección ocurra con rapidez en uno o ambos de los organismos asociados.

Por lo que respecta al grado de adaptación bioquímica y fisiológica entre el virus y el vector, se dice que la compatibilidad o tendencia a juntarse hacia una relación de coexistencia pacífica es ampliamente aceptada como una medida de especificidad en muchas relaciones biológicas; la condición opuesta o sea el antagonismo entre las entidades biológicas involucradas, es considerada generalmente para indicar la ausencia de asociación durante el desarrollo evolutivo. Con los virus y sus vectores tenemos esas circunstancias anormales, como relaciones compatibles aparentemente entre el virus y los estados juveniles y adultos, pero incompatibles con el estado de huevecillo. (Por ejemplo: Delphacodes striatella Fabricius y el virus Europeo del mosaico desnudo del trigo). Sin embargo considerando que los procesos fisiológicos del desarrollo embrionario son diferentes a los procesos de desarrollo postembrionarios, esta idea no es necesariamente inconsistente con la idea general de que se ha alcanzado un estado permanente relativamente avanzado de adaptación mutua.

#### Propagación y circulación de los virus en sus vectores.

Fukushi (1935, 1940), Black (1950) y Maramorosh (1952) (1979) han hecho un buen número de trabajos de propagación y circulación de virus. Para la mayoría de las especies de cigarritas transmisoras de virus, sin embargo, no se han hecho estudios al respecto.

Maramoroch (1956) mostró que el mío del Aster yellow era adquirido por Dalbulus maidis De Long y Walcott al alimentarse de plantas infectadas y aunque no se detectó dos días después de la adquisición, lo fué después



de diecisiete días. Bawden (1950) interpretó esto, como la evidencia de la multiplicación del virus en un artrópodo no vector, consideradas juntas entonces, la evidencia de la circulación y la transmisión sin propagación y la propagación sin la transmisión, indica que la circulación y la propagación son fenómenos independientes.

Para probar la multiplicación del virus dentro del insecto se han hecho diferentes estudios.

Black (1950) publicó los resultados de experimentos en los que cigarritas vectoras transmitieron virus por 21 generaciones, requiriendo más de cinco años. En sus experimentos, no sólo un insecto tuvo acceso a la planta enferma y ésta fué la progenitora de las 21 generaciones. El resto de los insectos fueron mantenidos en plantas inmunes al virus. En cada generación se separó una muestra para probar su habilidad en la transmisión de virus. Para que los virus se hayan transferido de generación en generación durante ese largo tiempo sin multiplicación, había sido necesario que la primera hembra llevara consigo más de su propio peso en virus.

Maramoroch (1952) dió evidencias inequívocas para la multiplicación de virus vegetales en Cicadellidae. De un grupo de cigarritas transmisoras de "Aster Yellow" se hizo una dilución con una solución Buffer, y se inyectó en cigarritas libres de virus, dándoseles tiempo para ser infectivas. Este procedimiento fué repetido durante 10 veces, hasta que se obtuvo una dilución total de 10-40, aún así la transmisión dió en los 10 grupos de cigarritas.

Para determinar los sitios de multiplicación se usa básicamente el

microscopio electrónico, aunque existen más técnicas.

En un principio solamente se purificaron virus de las plantas o de animales, pero de éstos últimos no se especificaba ningún órgano, hasta 1963 cuando Fukushi y Shikata publicaron fotografías tomadas del microscopio electrónico, del virus del achaparramiento del arroz en las glándulas salivales de la cigarrita del arroz. (Nephotetlix apicalis (Motchulsky)). De este trabajo se continuaron otros con el mismo virus y el del virus del tumor de las heridas, en varios tejidos. En 1967 Hirumi y Maramorosch encontraron en los tejidos de Aqallia constricta Van Duzee el virus del tumor de la herida, en forma de agregados de textura fina que son un material denso electrónico, característico de sitios de ensamblado de virus en células animales infectadas con virus de la polio y algunos otros. A los sitios se les llamó viroplasmias. Los mismos entonces mostraron que había viroplasmias en las células del sistema nervioso, cuerpo graso, tráqueas, glándulas salivales y células epidérmicas.

Otra técnica para determinar la presencia del virus es la de la Inmuno-fluorescencia, la cual muestra la siguiente secuencia:

- 4º día. Cámaras filtrantes (orilla).
- 12º día. El total de las cámaras filtrantes.
- 14º día. Cuerpo graso, cerebro, túbulos de malpigio.
- 17º día. Glándulas salivales.

Finalmente se puede decir que el pasaje transitorio del virus está siempre correlacionado con otra evidencia que mantiene la idea de la

verdadera especificidad en la relación, o al menos no entra en conflicto con la interpretación, y es probablemente la evidencia más importante por la cual se puede medir el grado de especificidad.

Por lo que a control se refiere, parece ser fácil, ya que hay una relación estrecha entre el patógeno y su vector. Los mecanismos de resistencia que actúan después de haber adquirido al patógeno y después de posarse, podrían inhibir la alimentación y entonces restringir una mayor dispersión de los agentes de enfermedades circulatorias. Desafortunadamente las grandes poblaciones pueden a menudo compensar la ineficiencia de los vectores. (Sahi & Swenson, 1964, Pluwi, 1976). Los efectos de los cultivos resistentes sobre los vectores, han sido poco estudiados. Los patógenos transmitidos persistentemente, frecuentemente provocan cambios de color en las plantas hospederas, incluyendo amarillamientos, que atraen más vectores y que entonces resultan en un mayor índice de transmisión (Bawden, 1950).

#### Virus "Rayado Fino del Maíz". (VRFM)

Una de las enfermedades virales del maíz que se presenta en México, es la del "Rayado Fino", cuyas características son las siguientes:

Los síntomas tempranos consisten en puntos cloróticos distribuidos uniformemente sobre las hojas más jóvenes, y centrados en las venas secundarias y terciarias. Los puntos se van haciendo más numerosos y se difunden longitudinalmente, formando rayas de más de 10 cm de largo. Estos síntomas son más pronunciados en las plántulas. Ocasionalmente hay achaparramiento y clorosis.

La producción puede reducirse a más del 45-50% en híbridos y variedades susceptibles. (Schutleff, M.C. 1980).

El VRFM es transmitido en una forma persistente por las cigarritas Dalbulus maidis (De Long & Walcott), Dalbulus elimatus (Ball), Graminiella nigrifons (Forbes), Balduius tripsaci Kramer & Whitcomb, Stirellus bicolor (Van Duzee), siguiendo un período de latencia de 7 a 22 días. De esas cinco especies reportadas las más eficientes son las pertenecientes al género Dalbulus (Nault 1980).

Las partículas virales del rayado fino, son isométricas o poliédricas de 30 nanómetros de diámetro y se encuentran restringidas al floema de las plantas infectadas.

La enfermedad del VRFM fué descrita por primera vez para Centroamérica en 1969 (Gámez, 1979).

La importancia económica varía: en Centroamérica se han detectado reducciones en la producción de maíz de un 40 a un 50% en plantas de cultivos locales. Con respecto a la incidencia del virus, se ha visto que oscila del 0 al 100%, dependiendo probablemente del material vegetal, de las condiciones estacionales y de las localidades geográficas (Gámez, 1979).

Esta enfermedad está ampliamente distribuída en las regiones donde crece el maíz en toda América. Gámez et al (1977 y 1979), citan que mediante pruebas serológicas han detectado el virus en diferentes localidades de

Estados Unidos, México, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Colombia, Venezuela, Perú, Brasil y Uruguay.

El rango geográfico del VRFM se extiende aproximadamente de los 30° de latitud norte en Texas USA, hasta los 32° de latitud sur en Uruguay. Las latitudes intermedias son 19°N en México, 10° en Costa Rica y 4°N en Colombia; el virus está presente en los campos de la costa cálida de las regiones del Atlántico y del Océano Pacífico en o cerca del nivel del mar, así como en localidades que se encuentran en las tierras altas y/o frías de la Sierra Madre, La Cordillera Central y Los Andes, con altitudes de 2000 a 3000 msnm. (Gómez, 1979) por lo tanto su rango de acción es muy grande.

Este virus ha sido malinterpretado como una variante del achaparramiento del maíz, ya que el agente de esta enfermedad es también transmitido por estos mismos insectos.

Además del maíz, varias especies anuales y perenes del género Zea y del género Tripsacum, así como Rottboellia exaltata, se ha comprobado que son hospederas de este virus.

Posición taxonómica y descripción de Dalbulus elimatus (Ball).

Orden Homoptera

Suborden Auchenorrhyncha

Familia Cicadellidae

Subfamilia Deltocephalinae

Tribu Macrostelini

Género Dalbulus

Especie D. elimatus (Ball) (Linnavuori, 1959).

La diagnosis que cita De Long (1950), para Dalbulus elimatus (Ball), es la siguiente:

La especie tipo es Deltocephalus elimatus Ball. Can. Ent. 32: 345. 1900.

Es una especie de color que vá hacia un pardo pálido; de cabeza obtusa con dos grandes manchas ovales negras en la porción anterior del vertex. Su longitud es de 4 mm.

El vertex está pronunciado en forma obtusa, apenas angulado, tiene casi el doble de la distancia interocular, con respecto a la longitud media.

Su color es amarillo pálido, con rayas longitudinales débiles, o fuertemente obscurecidas en el vertex y en el pronoto. El vertex tiene grandes manchas ovales negras a cada lado, justo sobre el margen y junto al ojo. Además hay una pequeña mancha rojiza oscura en el ápex. La cara y el ala anterior son de color pardo-pálido, al igual que la venación. En la cara hay una pequeña mancha negra por debajo de cada ocelo.

GENITALIA: Hembra. El séptimo esternito de la hembra está angostado cerca de la base; es convexo redondeado y está prolongado en un proceso con forma de una espátula, que se extiende a una distancia de más de la mitad del pigoforo (Fig. 4).

Macho. Las placas del macho son largas, en forma de huso, con los ápices terminados en una punta aguda que se extiende más allá del pigoforo.

El edeago en su región proximal es más bien ancho con un amplio proceso basal en forma de hoja (foliacea) el cual en la región basal se extiende entre los ápices de los estilos.

El ápice del edeago es largo delgado, con un proceso apical agudo, el cual está separado de la región media dorsal del edeago, la cual es una porción ampliamente truncada por una hendidura que está profundamente redondeada. (Fig. 5).

Esta especie fué descrita de especímenes de México, en donde es abundante en muchas regiones. Las localidades para las cuales se ha registrado son: Distrito Federal, Jalisco, Puebla, Michoacán y Estado de México.

#### Interacción planta-agente infeccioso-vector.

Del gran número de grupos de organismos vivientes, sólo pocos miembros de algunos grupos pueden parasitar y enfermar a las plantas: v.g. los hongos, bacterias, micoplasmas, espiroplasma, rickettsias, plantas superiores parásitas, nemátodos, protozoarios, virus y viroides (Agrios, 1978).

Estos agentes de enfermedad pueden ser parásitos obligados a parásitos facultativos.

Los principales eventos del ciclo de una enfermedad incluye la inoculación, penetración, infección, invasión y reproducción, así como su diseminación.

Por lo que respecta a la interacción entre el agente infeccioso y la planta, ésta ha sido ampliamente estudiada, de tal suerte que se conoce para un buen número de enfermedades, la descripción morfológica del agente infeccioso, su localización en la planta y su intervención en la fisiología de la misma.

De tal manera que Agrios (1978) cita que para Estados Unidos de Norteamérica aproximadamente 8,000 especies de hongos que causan alrededor de 80,000 enfermedades; al menos 200 especies de bacterias, más o menos 75 micoplasmas, más de 500 virus diferentes y alrededor de 500 especies de nemátodos atacan a los cultivos.

Sólo el cultivo de jitomate es atacado por más de 80 especies de hongos, 11 de bacterias, 16 virus y varios micoplasmas y nemátodos. Para el maíz se han calculado 100 tipos de enfermedades, para el trigo 80 y para la papa y la manzana 200 para cada una.

En lo referente a la fisiología de las plantas infectadas por virus, éstos les causan alteraciones tales como decremento de la fotosíntesis debido a su vez a un decremento de la cantidad de clorofila por hoja, en la eficiencia de la clorofila y en el área foliar por planta.

Los virus generalmente causan un decremento en la cantidad de hormonas



reguladoras del crecimiento de la planta, frecuentemente por la inducción del incremento de sustancias inhibidoras del crecimiento.

Algo que también es muy común es la baja en la concentración de nitrógeno soluble durante la síntesis profusa del virus. En particular en las enfermedades denominadas mosaicos, existe un decremento crónico en los niveles de carbohidratos en los tejidos de las plantas.

La respiración de la planta se incrementa con la infección viral, pudiendo permanecer a ese nivel, decrecer o regresar a la condición normal.

La cantidad de compuestos nitrogenados no virales en las plantas enfermas, es menor que en las plantas sanas, probablemente debido al virus, el cual en algunos casos puede constituir del 33 al 65% de nitrógeno total en la planta, lo cual es formado a expensas de los niveles normales de los compuestos nitrogenados de la planta.

Parece por lo tanto, que muchos de los sistemas funcionales de la planta son directa o indirectamente afectados por el virus.

Ciertos grados o tipos de desarreglos metabólicos pueden probablemente ser tolerados por la planta y no causan ningún síntoma, mientras que otros probablemente tienen un efecto deletéreo en el hospedero y contribuyen al desarrollo de síntomas.

El efecto del virus en los compuestos nitrogenados, en los reguladores

del crecimiento y en los fenoles, ha sido considerado como la causa inmediata de varios tipos de síntomas, ya que los primeros dos están tan profundamente involucrados en todo lo concerniente con el crecimiento de la planta y la diferenciación, y por otra parte los productos oxidados de los fenoles pueden ser por sí mismo, por su toxicidad, responsables del desarrollo de ciertos tipos de síntomas necróticos.

Como ya se ha mencionado la forma de transmisión de virus y otros agentes infecciosos como mlo. slo. y rlos, más común e importante económicamente es la efectuada por insectos.

Para algunas de esas enfermedades se conoce exactamente el o los insectos vectores, pero en ocasiones no se tiene la certeza e inclusive se desconoce el vector.

Además en muchas ocasiones la taxonomía de los vectores no se tiene esclarecida o determinada y esto puede provocar que se estén implicando especies erróneas.

Por otra parte no siempre es fácil establecer un cultivo de la especie del insecto en cuestión en el laboratorio ya que su comportamiento se puede alterar, de tal manera que no siempre es fácil la realización de las pruebas de transmisión, del agente infeccioso por el insecto vector.

Esto trae consigo como resultado el hecho de que exista en general poco conocimiento profundo de la interacción entre el agente infeccioso y el vector.

Existen casos particulares en los que se ha profundizado el estudio de tal suerte que se conocen sólo algunos aspectos de la patogenicidad que provoca el agente infeccioso (virus, micoplasma o espiroplasma) en un insecto vector, como son los referentes a los estudios histopatológicos de Colladonus montanus Van Duzee, causados por el agente de la enfermedad del Western X del durazno (Whitcomb et al 1967 y 1968), en donde se describe la histopatología en glándulas salivales, tubo digestivo, túbulos de malpigio, micetomas, adipocitos y sistema nervioso. Otros estudios se han llevado a cabo en Dalbulus maidis y Dalbulus elimatus en cerebro, glándula salival y longevidad, y en ellos se ha visto la alteración que causa el espiroplasma del achaparramiento del maíz (Granados y Meedham 1975 y Whitcomb y Williams, 1975).

También se tienen registros de las modificaciones de los cambios en los ciclos de vida del vector como por ejemplo el caso de Spiroplasma citri que se multiplica dentro de Macrosteles fascifrons, el cual reduce su longevidad (Withcomb & Williamson 1975); igualmente sucede con el agente del achaparramiento del maíz que reduce también la longevidad y la fecundidad de Dalbulus Elimatus (Granados & Withcomb 1975). El espiroplasma llamado SR0 (Organismos del radio sexual) de la Drosophila (aunque no se ha relacionado con plantas) disminuye las poblaciones de los machos y por otra parte las hembras tienen un alargamiento en su ciclo de vida y en su capacidad reproductiva (Withcomb y Williamson 1975).

Escobedo (1984), concluye en su trabajo de tesis, que al analizar las tablas de vida y fertilidad de Dalbulus maidis y Dalbulus elimatus (Ball) se puede establecer que: Los insectos virulíferos con el VRFM

tienen siempre una esperanza menor de vida, la sobrevivencia, tasa de reproducción neta, capacidad innata de incremento, (capacidad potencial de multiplicación) se ven minimizadas. Así mismo, concluye que la capacidad de los machos para fertilizar a las hembras no fué alterada por el virus y el tiempo que transcurría entre una generación y otra, fué similar entre las poblaciones sanas e infectivas, por lo que en este caso el ciclo de vida no se vé afectado pero sí la productividad.

#### Morfofisiología del Aparato Digestivo y Excretor en Cicadélidos.

La morfología interna de los cicadélidos es poco conocida aunque ha sido tratada por diferentes autores, desde la comparación en forma general con otros insectos (Chapman 1971), o los que la describen detalladamente para algunas especies en particular, como Dobroski (1929) que trabajó con Cicadula sexnotata (Macrosteles fascifrons (Stal)), Gil-Fernández (1965) quien trabajó con Agallia constricta Van Duzee y Chiykowski (1981) con Macrosteles fascifrons (Stal).

Para poder efectuar la comparación entre los organismos sanos y las modificaciones que se encuentran en los organismos virulíferos con el virus del rayado fino del maíz, se hizo un estudio de la morfología interna de Dalbulus elimatus (Ball).

Por lo que a la morfofisiología del aparato digestivo y excretor respecta en los insectos, ésta varía en su configuración y funciones particulares, dependiendo de los hábitos alimenticios, existiendo diferencias notables según los regímenes (Roeder, 1953).

El aparato digestivo de los insectos está constituido por las tres regiones típicas: estomodeo o intestino anterior, mesenteron o intestino medio y proctodeo o intestino posterior; siendo la primera y la última regiones de origen ectodérmico y la media de origen mesodérmico.

El estomodeo está compuesto por la faringe y el esófago y a él desembocan las glándulas salivales a nivel de la faringe.

A continuación del esófago se encuentra el mesenteron que puede tener dimensiones y regiones diferentes dependiendo del tipo de insecto de que se trate y de su régimen alimenticio, Roeder (1953), cita que para los insectos que ingieren grandes cantidades de proteína el mesenteron es corto e irá aumentando en longitud, conforme disminuye esa cantidad.

Al terminar el mesenteron e iniciarse el proctodeo, se encuentran localizados los túbulos de Malpighio, los cuales pueden variar en número y longitud, dentro del grupo de los insectos, pero siempre van a estar flotando en la cavidad del cuerpo.

El proctodeo tiene tres regiones: ileon, colon y recto, el cual desemboca al ano.

En los insectos que se alimentan de fluidos como los dípteros, hemípteros y homópteros, existen adaptaciones para facilitar la eliminación rápida del agua, o regulación de la misma (Day & Waterhouse, en Roeder 1953).

En los homópteros hay una cámara filtrante compleja, (Fig. 6) que permite el paso del exceso de agua y a veces otros materiales directamente de la región anterior del canal alimenticio (esófago) al proctodeo, dejando pasar el resto del alimento al mesenteron.

En la cámara filtrante existe una membrana que recubre la invaginación del estomodeo dentro del proctodeo, que puede servir para aislar dicha cámara de la hemolinfa.

La transferencia del fluido es debido a diferentes gradientes osmóticos.

Por lo cual, para que este tipo de insectos tengan una buena nutrición deben de tomar grandes cantidades de líquido. La salida del exceso de agua, permite que la savia se concentre más y ayuda a que en el alimento más denso la actividad enzimática sea más efectiva a nivel del mesenteron, donde se lleva a cabo la mayor parte de la digestión y la asimilación.

Así, el intestino anterior queda en contacto directo con el posterior, generalmente a través de cámaras filtrantes a nivel del ileon para luego pasar al recto y deshecharse (Wigglesworth, 1939).

Por lo que a enzimas se refiere, no se puede enlistar una dotación general de enzimas, ya que varían dependiendo también de los hábitos alimenticios del insecto; además no todas las enzimas se localizan en el intestino medio (mesenteron), las secreciones salivales inician la digestión y el proceso continúa en la cavidad general del cuerpo bañada por la hemolinfa, gracias a las secreciones digestivas de los micetomas.

Las secreciones salivales tienen como función principal, lubricar las partículas de alimento e iniciar el desdoblamiento de las moléculas que constituyen el alimento; dichas secreciones incluyen enzimas digestivas relacionadas con el tipo de alimentación. Están presentes en general las amilasas, glucosidasas y proteasas.

El proceso de la digestión puede realizarse antes de la ingestión, cuando las secreciones salivales son ricas en enzimas. Así, muchos hemípteros contienen una enzima que desdobla a la clorofila, la cual es inyectada en el tejido de la planta como un primer paso de la alimentación; así que los líquidos succionados ya han sido desdoblados parcialmente.

El estomodeo, es decir faringe y esófago, sólo conducen el alimento al mesenteron, no existiendo en ellos ninguna secreción de enzimas digestivas.

El intestino medio o mesenteron, tiene dos funciones fundamentales, la digestión del alimento y la absorción de los nutrientes.

Como ya se mencionó, en el grupo de los homópteros existe una complicación no usual, ya que ingieren grandes cantidades de agua, contenidas en la savia absorbida.

El mesenteron de los cicadélidos puede dividirse en tres regiones la anterior, donde se lleva a cabo la remoción del exceso de agua, una media llamada ventrículo o estómago, que es la clásica región secretora y donde se lleva a cabo la mayor parte de la digestión; y una tercera

angosta encargada de la absorción de los nutrientes, dicha absorción se lleva a cabo también en la región anterior del proctodeo.

La excreción y emisión de los desechos se hace a través del proctodeo, donde llega el contenido del mesenteron que no fué utilizado, así como el proveniente de los túbulos de malpigio; los cuales se encargan de recoger los desechos de tipo nitrogenado de la hemolinfa, así como de algunas grasas que pasan por medio de un transporte activo y de azúcares que pasan por difusión (Wigglesworth, 1939).

Estas sustancias pueden aún ser desdobladas por las enzimas secretadas por los túbulos de malpigio y reaprovechadas por reabsorción de la región anterior del proctodeo o en la región proximal de los túbulos de malpigio.

Poll (1935) describe un tipo de tubo excretor denominado criptonefrídico, el cual se caracteriza porque el extremo distal se une a la estructura rectal y está sostenido a ella por medio de una membrana.

Antes de salir al exterior los desechos, existe una recuperación de agua, sales minerales, y de aminoácidos, a nivel del proctodeo, generalmente a la altura del recto.

Así en el criptonefridismo se permite una recuperación de esos elementos a nivel del recto y a nivel de la región proximal del proctodeo.

#### Microorganismos

Los microorganismos están en relación con todos los seres vivos y



los insectos no son la excepción. Ellos pueden ser adquiridos o heredados, pero en algunas especies éstos siempre están presentes y son esenciales para el desarrollo normal del insecto; además, pueden estar hospedados en células especiales, en criptas localizadas en el tubo digestivo o en cuerpos especiales llamados micetomas, que se encuentran en la cavidad general del cuerpo, los cuales son transferidos de generación en generación.

Estos microorganismos son llamados simbioses y están generalmente presentes en insectos que tienen dietas restringidas, las cuales son deficientes en algunos nutrientes esenciales y entonces ellos los proveen (Gilmour, 1961).

Se sabe que estos microorganismos son bacterias o levaduras y que producen compuestos esenciales para el hospedero como son enzimas, vitaminas, como es el caso particular de los cicadélidos que contienen levaduras (Herford, 1935).

Toth (1952), cita que hay evidencias de que los microorganismos, particularmente en los órdenes Homóptera y Hemiptera, están relacionados con el metabolismo del nitrógeno. Esto puede ser al fijar el nitrógeno libre o por el desdoblamiento de los productos metabólicos resultantes de la digestión del alimento por el insecto, como son la urea, o el ácido úrico que los transforman en compuestos nitrogenados que pueden ser reutilizados.

Los simbioses de los cóccidos Pseudococcus y de Mesocerus marginatus, proporcionan al hospedero todas las vitaminas del complejo B, que les son

necesarias y que faltan casi completamente en la savia de las plantas; además los simbioses de Pseudococcus pueden sintetizar a partir de diferentes sustancias de deshecho como la urea, los aminoácidos deficientes en su régimen (Schneider, Fink y Kock, 1954), por lo cual intervienen de una manera decisiva en el metabolismo y en la vida de esos insectos.

Arnold G. y Delage-Darchen (1978) citan que las cadenas largas de ésteres de ácidos grasos son absorbidos en el mesenteron sin ser digeridos, de tal manera que los micetomas juegan un papel importante en el metabolismo de dichas sustancias grasas en la hemolinfa.

#### Enzimas digestivas en insectos.

La bioquímica de la digestión en insectos está basada en la detección y caracterización de las enzimas digestivas considerando que dentro del grupo de los insectos podemos encontrar que se alimentan de prácticamente cualquier tipo de materia orgánica, es de esperarse que existe una lista enorme de enzimas digestivas.

Por otra parte la dificultad de obtener enzimas purificadas de organismos tan pequeños, ha determinado que el estudio de las enzimas sea en función de la actividad de cierta enzima en un homogenizado crudo por la hidrólisis de un sustrato seleccionado. De tal manera que la enzima se denomina según el sustrato atacado, por ejemplo para proteínas, proteinasa, para lípidos lipasa etc.

En general existen tres grupos de enzimas que van a llevar a cabo la digestión, a saber, las enzimas que digieren carbohidratos, las que digieren grasas y las que digieren proteínas.

Por lo que se refiere al estudio de las enzimas digestivas en insectos, hay una gran heterogeneidad, pues mientras que para algunas especies las listas de enzimas son muy completas como las de Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) (Arnold y Delage-Darchen 1978), para otros son parciales o sólo para algún tipo de nutriente por ejemplo Galleria mellonella (larva de Lepidoptera que se alimenta de la cera de las abejas) (Gilmour, 1961), y en otras especies es sólo algún tipo de enzima el que se ha estudiado, por ejemplo la melazeitosa de las secreciones azucaradas de Icerya purchasi y otros cóccidos que la producen (Gilmour, 1961).

#### Actividad de los tres grupos generales de enzimas.

Carbohidratos.- En el metabolismo de los hidratos de carbono, las enzimas importantes son las que hidrolizan diferentes tipos de azúcares con las que constituyen la glucosa o la galactosa y diferentes uniones como son la  $\alpha$  y la  $\beta$ .

La maltosa, trehalosa y sacarosa, están formadas por moléculas de glucosa y éstas son hidrolizadas por la  $\alpha$  glucosidasa, llamada también invertasa.

Se ha visto que la mayor actividad de la  $\beta$  glucosidasa, se encuentra en los insectos fitófagos. Ella hidroliza  $\beta$  glucósidos como son la

salicina, arbutina, celobiosa, los cuales se encuentran de manera natural en las plantas (Gilmour, 1981).

En Schistocerca sp. y en algunos dípteros, la  $\alpha$  galactosidasa hidroliza a la melobiosa y la  $\beta$  galactosidasa a la lactosa Schistocerca (Gilmour, 1961).

Proteínas.- Por lo que se refiere a enzimas que hidrolizan proteínas, en forma general se cita a la tripsina, la cual las transforma a peptonas o polipéptidos; y a la aminopeptidasa que ataca la cadena en la terminación  $\text{NH}_2$ .

Lípidos.- Aquí las enzimas que actúan en su metabolismo son del tipo de las llamadas lipasas que convierten las grasas en ácidos grasos y glicerol.

#### Enzimas digestivas en cicadélidos.

En particular para los cicadélidos las enzimas en las que se ha trabajado son del tipo de las invertasas, amilasas y proteasas. A continuación se citan algunos autores que han trabajado en la determinación de enzimas con diferentes especies de cicadélidos.

Nuorteva (1954) estudió la presencia de amilasas y proteasas en glándulas salivales y tubo digestivo de Empoasca flavescens. Las amilasas no fueron detectadas y su ausencia es entendible, debido a sus hábitos alimenticios, ya que su alimento es rico en azúcares y pobre en almidón.

Por otra parte, las proteasas sólo se detectaron en el tubo digestivo y argumenta que su ausencia en las glándulas salivales puede deberse a que las proteínas están muy disueltas en la savia, al momento de pasar por la faringe y será hasta llegar al mesenteron que se concentren.

Saxena (1954) estudió los hábitos alimenticios de homópteros que se alimentan de las células del mesófilo o de la savia del floema directamente y detectó que en estos últimos, la amilasa, la proteinasa, lipasa y clorofilasa están ausentes y por ello estos insectos no pueden utilizar sustancias no difundibles como el almidón, proteínas nativas, y lípidos que son abundantes en las células del mesófilo. La savia en el floema es rica en sustancias solubles las cuales están en un estado de difusión, o pueden serlo por las enzimas presentes en los insectos. Concluye que la especificidad alimenticia está relacionada con la distribución de enzimas en su tubo digestivo, y por lo tanto con la capacidad de utilizar varios nutrientes.

Adams (1958) determinó la presencia de pectinasas poligalacturonasas en la saliva de 23 especies de áfidos, una especie de cicadélidos (Dalbulus maidis) y una de adélgido. El propone que las pectinasas probablemente digieren la pared celular y eso facilita la extracción del virus por el insecto vector.

Orensky (1964) trabajó con Dalbulus maidis De Long y Walcott y Macrosteles fascifrons (Stal) y el agente del "aster yellow", para tratar de determinar el posible mecanismo responsable de la supervivencia prolongada de los parásitos del maíz en condiciones infectivas cuando se

colocan en plantas no hospederas.

Comparó insectos sanos y observó que en los infectivos no hay poligalacturonasa y no se detecta aumento en la actividad de la tripsina, mientras que la actividad de la amilasa sí sufrió aumento. Así también, concluye que el agente del "aster yellow", adquirido por las cigarritas durante su alimentación en plantas enfermas, podrán facilitar la digestión de alimento no común, por el hecho de que estimulan la producción de amilasa en el insecto.

Lo que se puede apreciar en la bibliografía revisada es que se ha trabajado con pocas especies de cigarritas y pocas enzimas en los insectos en general y en los cicadélidos en particular.

## II. OBJETIVO

Siendo México un país cuya cultura está basada en el maíz, resulta de interés prioritario un manejo más eficiente de él, con el objeto final de obtener un mayor rendimiento del cultivo con los consecuentes beneficios para el mexicano.

Para cumplir dicho objetivo es necesario conocer a fondo los problemas de las plagas y enfermedades que lo atacan, hecho que permitirá aplicar el o los tipos de control más adecuados.

En la presente investigación nos motivó conocer más profundamente la interacción existente entre el agente de la virosis causada por el "virus rayado fino del maíz" (VRFM) y uno de sus insectos vectores: Dalbulus elimatus (Ball) (Homoptera-Cicadellidae), para tratar de detectar si existen alteraciones provocadas por dicho virus en el vector, a nivel anatómico, morfológico, histológico o enzimático; se manejaron insectos sin el virus (sanos) e insectos conteniendo y transmitiendo al virus (virulíferos).

### III. MATERIAL Y METODOS.

#### Cultivo

Las cepas originales utilizadas en este estudio provienen del cultivo de Dalbulus eliminatus que se tiene en la rama de Fitopatología del Centro de Postgraduados de Chapingo.

Las poblaciones de Dalbulus fueron cultivadas en el Laboratorio de Entomología, del Instituto de Biología de la UNAM con objeto de contar con el material suficiente.

Para tener el cultivo de las cigarritas, se hicieron jaulas cuyas dimensiones son 1.50 m X 0.50 m X 0.50 m. Su armazón es de madera, y las paredes de tela de gasa blanca, la cual permite el paso de la luz y el aire evitando la salida de las pequeñas ninfas.

Las jaulas tienen una puerta que facilita el manejo de las macetas a las que se les proporcionaba limpieza semanalmente, evitando así la contaminación por ácaros y hongos.

Las macetas de unical de un litro de capacidad, se lavaban y limpiaban con alcohol antes de colocarles la tierra, la cual era esterilizada en autoclave una hora por tres días consecutivos.

El maíz que se utilizó fué de la variedad H-21 con un 95% de germinación.



Las semillas de maíz se pusieron a germinar en semilleros de plástico y cuando las plántulas tenían cinco cm de altura eran transplantadas a las macetas, colocándose tres plántulas por maceta y 12 macetas por jaula, las cuales se regaban dos veces por semana.

Las cigarritas provenientes del cultivo de Chapingo se colocaron inmediatamente en las jaulas cuando ya las plántulas tenían 10 cm de altura.

Luego de una semana se sacaban las macetas y se colocaban en jaulas individuales sin ninfas ni adultos, para dejar que los huevecillos eclosionaran y las ninfas así obtenidas se volvían a pasar a la jaula del cultivo general.

Las macetas se iban reponiendo de tal manera que siempre hubiera plántulas vigorosas para las cigarritas.

En el caso de los organismos virulíferos, con el virus "rayado fino de maíz", se colocaban en las jaulas grandes, pero en este caso generalmente se procesaban rápidamente.

Para determinar las alteraciones que provoca el virus del rayado fino del maíz (VRFM) en el cicadélido, la metodología se dividió en tres fases:

- a) disecciones de organismos vivos (Anatomía).
- b) cortes histológicos (Histología)
- c) pruebas de actividad enzimática (Detección enzimática).

En las tres fases se utilizaron individuos tanto sanos como virulíferos (transmisores del VRFM).

### Anatomía

Para conocer la anatomía interna de esta cigarrita y ver la disposición de los diferentes órganos y sistemas, se disecaron al microscopio estereoscópico individuos vivos, a los que se adormecía con una pequeña dosis de cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ); manteniéndolos con un suero fisiológico al 6%, en una caja de parafina con fondo negro, en la cual se incrustaban con la ayuda de una aguja de disección previamente calentada en un mechero.

Ya abiertos por la parte dorsal, con la ayuda de pinzas entomológicas y agujas de disección se tñieron con una solución de rojo neutro como medio de contraste, para poder hacer un mapeo general de los órganos internos.

Se efectuó una revisión que iba de las capas más externas a las más internas y se describieron los aparatos y sistemas de las cigarritas, dando el tamaño y la proporción entre los diferentes órganos.

### Histología.

Los organismos vivos se preparan para su inclusión en parafina, siguiendo la técnica citada por Whitcomb (1967).

A las cigarritas se les quitaron las alas y las patas, luego se colocaron en grupos de diez individuos en pequeños frascos, en los que se siguió esta secuencia:

1. - Fijación de Duboscq-Brasil en frío (150 ml de etanol, al 80%, 60 ml de formaldehído al 36%, 15 ml de ácido acético glacial; y 1 g de ácido pícrico). Durante 24 hs.
2. - Deshidratación y aclaración.
  - etanol al 70% por 8 hs.
  - solución 1 (Nbutanol 55%, etanol 40.5% y agua 4.5%) por 17 hs.
  - solución 2 (Nbutanol 75%, etanol 22.5% y agua 2.5%) por 8 hs.
  - 3 cambios de Nbutanol 100% por 2 a 3 días.
3. - Inclusión en parafina al vacío.
  - benzol por 1/2 hs.
  - benzol parafina 50:50 por 1/2 hs.
  - parafina por 20 min. a 60°C en una estufa de vacío.
4. - Preparación y orientación de los bloques de parafina.
5. - Corte en microtomo a 7  $\mu$  colocando al organismo en posición longitudinal y/o sagital.
6. - Montaje de los cortes en portaobjetos con una solución de grenetina. Los portaobjetos eran colocados sobre una platina caliente, a una temperatura de 50°C y con la ayuda de una aguja de disección se estiraban y acomodaban los cortes seriados de tal manera que cupieran tres a cuatro hileras de cortes por portaobjeto. Se dejaron secar en una estufa a 37°C por tres días.

La técnica de tinción utilizada fué la tricrómica de Mallory, siguiendo el criterio de Whitcomb (1967) que consiste en:

Ya secos los cortes se pasan a series de xilol, a alcoholes graduales hasta llegar a agua, durante cinco min. cada uno. El siguiente paso es a Fuscina ácida al 1% por 2 min...se pasa a la solución de los siguientes colorantes (azul de anilina, naranja G, y ácido fosfomolibdico), durante 75 min. y posteriormente se diferencian en tres baños de alcohol al 100%, dos minutos en un baño de alcohol al 100%-Xilol (50:50) y 10 min. en dos baños de Xilol.

Posteriormente se montaron en bálsamo de Canadá y se secaron en la estufa a 37°C por tres días. Luego se hicieron las observaciones al microscopio compuesto.

Toda la secuencia se siguió para organismos sanos y virulíferos, de tal manera que se pudiera efectuar la detección a nivel histológico de las alteraciones provocadas por el VRFM, en los diferentes órganos de las cigarritas.

#### Detección enzimática.

La determinación de las enzimas digestivas de los cicadélidos, se llevó a cabo siguiendo el criterio de Délage-Darchen 1978, utilizando un dispositivo de origen francés, diseñado especialmente como un micrométodo semicuantitativo de investigación de la actividad enzimática, llamado comercialmente APIZYM que permite estudiar de una forma rápida y simultánea la actividad de 19 enzimas, a partir de muestras pequeñas de los órganos.

La ventaja del método es que detecta la actividad enzimática de un extracto complejo no purificado.

Las enzimas probadas son: estearasa (c4), estearasa-lipasa (c8), lipasa (c14), fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, leucina-arilamidasa, valina-arilamidasa, cistina-arilamidasa, tripsina,  $\alpha$  quimotripsina, fosfoamidasa,  $\alpha$  galactosidasa,  $\beta$  galactosidasa,  $\beta$  glucuronidasa,  $\alpha$  glucosidasa,  $\beta$  glucosidasa, n acetil  $\beta$  glucosaminidasa,  $\alpha$  manosidasa y  $\alpha$  fucosidasa.

Determinación de las enzimas digestivas de Dalbulus elimatus.

Disección.- Las condiciones para la disección son de extrema limpieza y esterilidad, con un grado de dificultad elevado, ya que las cigarritas adultas tan sólo miden 3 mm. de largo por 1 mm de ancho aproximadamente.

El material ya lavado se pone en una solución de alcohol-éter 3:1, y luego se seca en la estufa.

Otra condición de trabajo necesaria es la baja temperatura, la cual se logra colocando el material sobre charolas de hielo con sal y de tiempo en tiempo incluyendo el material obtenido en un congelador.

Los vidrios de reloj en los que se colocan los órganos disecados, deben estar tapados para evitar la contaminación.

La disección se efectúa en cajas de petri con parafina, como se citó previamente.

Con el fin de mantener vivos los órganos, se utilizó un suero hecho de agua destilada y agua de mar, en una proporción de 5:3. El agua de mar se esterilizó y filtró previamente.

Utilizando pinzas entomológicas y microagujas de disección se abre el insecto, los órganos que van a ser probados se les deja libres de grasa, traqueolas y tejido conectivo e inmediatamente se separan del organismo.

Por separado cada tipo de órgano se lava con agua destilada y se coloca en un vidrio de reloj con una poca de agua destilada. Se cubre y se marca según el tipo de órgano de que se trate.

Cuando ya se tiene un número considerable de órganos se colocan en un tubo de ensaye pequeño con 1 ml. de agua destilada. Se tapa y se coloca en un congelador hasta obtener todo el tejido deseado.

El material debe mantenerse congelado para evitar la degradación de las enzimas, así como evitar la contaminación por bacterias y hongos.

Es válido descongelar los tubos para incluir más material ya que ese proceso ayuda al estallamiento celular y libera las enzimas.

El agua de los vidrios de reloj también se congela y se utiliza la misma durante todo el proceso, ya que se usa para completar el volumen del líquido a probar con el Apizym.

Prueba de Apizym

Ya que se reunió el material suficiente, se descongela y se coloca en un homogenizador de tejidos previamente esterilizado y con una marca a los 2 ml. El líquido que se encuentra en el vidrio de refoj también se vierte. Se macera todo con ayuda del émbolo hasta obtener una suspensión homogénea, se afora a 2 ml. con agua destilada tratando de que ésta limpie el émbolo para no perder tejido.

La caja de incubación individual se llenó previamente con 5 ml. de agua destilada, llenando cápsula por cápsula, con la ayuda de una pipeta y procurando que no se quede agua afuera. La caja de incubación provee de una atmósfera húmeda.

La galería de Apizym se llena con una micropipeta de volumen constante colocando 0.1 ml. de la suspensión que contiene el tejido en cada una de las 20 cápsulas hasta completar los dos ml. de la solución total; después se coloca encima de la caja individual de incubación, se tapa y se anotan datos: tipo de tejido, especie, fecha y hora de entrada. Se mete a incubar por cuatro horas a 37°C, pasando ese tiempo, se saca la caja y se le agrega una gota del reactivo Zym A a cada cápsula e inmediatamente después una gota del reactivo Zym B.

Se coloca bajo una luz intensa y se espera a que vire el color, tomando en cuenta que el testigo (No. 1) se ponga blanco.

Se compara con el colorímetro patrón elaborado por Apizym y se da

el valor aproximado de la actividad enzimática representada en nanomoles, correspondientes a cada cápsula, es decir a los 19 tipos de enzimas diferentes que actúan sobre carbohidratos, proteínas y lípidos.

En el caso de no haber actividad, al no encontrarse la enzima, no se obtiene coloración.

Los resultados se anotan en un block especial donde se anota el tipo de tejido, especie, fecha y condiciones particulares del experimento.

Los datos deben ser anotados en cuanto termine el viraje de color para evitar posibles contaminaciones, sin embargo las galerías se guardan para tener un marco de comparación en caso de necesitarse alguna ratificación.

El rango de actividad que marca el dispositivo de apizym vá de 0 a 40 nanomoles de actividad, presentando medidas intermedias de 5, 10, 20 y 30.

Como no se tenían antecedentes de esta técnica para cicadélidos y en general la información de la actividad enzimática de dichos insectos es pobre, en la presente investigación se decidió hacer la prueba enzimática con 100 unidades de cada órgano estudiado, siendo un total de 1200 órganos usados para las pruebas, de tal manera que se asegurara el que la sensibilidad del dispositivo tuviera una actividad adecuada.

La prueba se efectuó tres veces, siendo la primera con individuos sanos y las restantes con individuos virulíferos.



De cada individuo se obtuvieron las glándulas salivales, el mesenteron, los túbulos de malpigio y los micetomas, de tal manera que para cada una de las pruebas se ocuparon 4 galerías Apizym.

### Histopatología

En lo que respecta al estudio histopatológico, más que un método, se presenta un conjunto de conceptos que permiten hacer la interpretación de las alteraciones. (según Pérez, 1965).

La célula es la unidad funcional de la enfermedad, aunque puede presentarse el daño a nivel subcelular o de tejidos.

DEGENERACIONES. Alteraciones de los componentes propios de los tejidos.

INFILTRACIONES. Cambios secundarios de la célula que se dan posteriormente al depósito en los espacios intercelulares de elementos anormales o extraños.

CAMBIO REGRESIVO. Estadio avanzado a menudo irreversible de los dos grupos de procesos antes mencionados, llegan a la muerte o desintegración de la materia viva.

Cuando la lesión bioquímica causante del proceso degenerativo afecta los mecanismos enzimáticos que participan en las funciones comunes a todas las células, la alteración resultante será inespecífica y podrá aparecer en distintas partes del organismo; por ejemplo el edema celular (tumefacción turbia), que probablemente es el resultado de la interferencia con el metabolismo energético celular.

Por otra parte si se afectan enzimas con funciones más especializadas, el cambio degenerativo será más específico.

El estudio de estos cambios es en mucho morfológico descriptivo y las alteraciones bioquímicas y funcionales de que se acompaña no siempre son factibles de estudiar.

Las degeneraciones se estudian a menudo al lado de los trastornos en el metabolismo, de hecho, muchas de ellas están indicando una alteración metabólica importante ya sea que la inicien o que ocurran como una manifestación de ella. Sin embargo también aparecen en casos en que seguramente no existe un trastorno metabólico generalizado y además hay muchas alteraciones del metabolismo que cursan sin manifestaciones morfológicas.

Algunos cambios morfológicos degenerativos, no son sino una manifestación morfológica del funcionamiento celular lo que ocurre es que la célula está trabajando más de lo habitual como respuesta a un estímulo exagerado y por otra parte es dudoso que una célula degenerada sea capaz de aumentar su capacidad metabólica.

Un proceso degenerativo es aquel en el que existe una disminución anormal de las capacidades metabólicas y funcionales de la célula, habitualmente acompañada de alteraciones morfológicas.

Según la naturaleza del agente nocivo, la célula afectada, la intensidad y duración del efecto tóxico, las degeneraciones resultantes serán

reversibles (alteraciones del citoplasma o sustancias intersticiales) o irreversibles (muerte o desintegración).

Al inicio de la lesión la célula aparece más transparente. En los estudios más avanzados y cuando la célula está condenada a morir y las proteínas están extensamente desnaturalizadas, el citoplasma puede ponerse opaco.

#### IV. RESULTADOS.

##### Descripción Anatómica de Organismos Sanos.

Glándulas Salivales. Son 2 glándulas simétricas compuestas; de tipo acinar (Ham 1963 ) Son de gran tamaño en comparación con los otros órganos del cuerpo. (Fig. 8).

Se localizan en la cabeza, a los lados del esófago, desde la base de la corona hasta el protórax.

Al quitar el pronoto y la parte posterior de la corona, así como los músculos afares, se dejan ver en la parte media las dos glándulas. Su región posterior se encuentra cubierta por el ganglio protorácido, por lo que hay que quitarlo para poder observarlas en su totalidad.

El color de los lóbulos es diferente, notándose un lóbulo principal de color ambarino y los ocho restantes de color blanquizco. (Fig. 8a).

La proporción del tamaño de los lóbulos medios varía, siendo 7 lóbulos independientes de color blanquizco cada uno de ellos con un conducto pequeño que vá a unirse al conducto salival, el cual queda en contacto directo con la faringe. Además, tienen un lóbulo posterior, cuyo tamaño es mayor que el de los 7 lóbulos juntos.

Finalmente tienen otro lóbulo, llamado glándula accesoria, de aproximadamente 1/3 de tamaño del lóbulo grande, situada a un lado de los

lóbulos medios. Esta glándula accesoria es también de color blanquecino y al igual que los otros lóbulos, tiene un conducto largo y fino que vá a desembocar al canal salival.

Tubo Digestivo. El tubo digestivo de Dalbulos elimatus, está formado por el estomodeo, mesenteron y proctodeo. (Fig. 9):

Estomodeo. Llamado también región anterior, está formado por una faringe que nace en la boca y se continúa hacia atrás, y hacia arriba donde sufre un ensanchamiento inmediatamente después de pasar por el anillo periesofágico, constituye la bomba succionadora, inmediatamente después se adelgaza y desemboca en el esófago, el cual es también un tubo delgado que baja en línea recta para luego desembocar en la cámara filtrante.

Cámara Filtrante. Es la zona que se forma a la altura de la región proximal del mesenteron, el cual después de haber formado una asa, permite que el proctodeo y el estomodeo queden en contacto. Dicha zona está rodeada por una membrana.

Mesenteron. O región media, se inicia en la válvula cardíaca y le sigue el ventrículo. Dicho órgano tiene dos zonas fácilmente diferenciables, la primera que es muy ancha y la segunda que tiene 1/3 del ancho de la primera; sin embargo, su pared exterior no es homogénea, presentando bordes arrosariados.

La región delgada se proyecta hacia adelante y sufre un giro hacia la parte anterior del cuerpo, con dos circunvoluciones antes de llegar a la

parte proximal del mesenteron, donde vuelve a dar un giro, baja y se comunica con el proctodeo, el cual en esa región tiene el mismo diámetro.

En este punto es donde nacen los túbulos de malpigio.

Proctodeo. O región posterir, es de apariencia tubular, que baja de la región anterior del ventrículo, en forma recta hasta el ano.

Aparato Excretor. Está formado por 4 túbulos de malpigio que nacen al final del mesenteron y principio del proctodeo, correspondiendo esa zona a la región inmediata a la cámara filtrante. (Fig. 8 y 8b).

Los túbulos flotan libremente en la cavidad del cuerpo y tienen una longitud considerable; van ondulantes desde el primero hasta el séptimo segmento abdominal, en donde se vuelven a unir al proctodeo, en un criptonefridismo, antes de llegar al ano.

Se distinguen tres regiones, la proximal, la media y la distal, siendo la primera y la última de un diámetro pequeño, aproximadamente la mitad del diámetro de la región media.

El borde de los túbulos es arrosariado y esta característica se hace más pronunciada en la primera y última región.

Aparato Circulatorio. El vaso dorsal recorre todo el cuerpo en la línea media, unido a los escleritos tergaes.

Los ostiolos no se aprecian al hacer la disección del organismo.

La hemolinfa baña la cavidad del cuerpo, siendo incolora.

A nivel del mesotórax y hasta el ganglio abdominal, se extiende una membrana muy fina y translúcida, que rodea a la masa ganglionar y que corresponde a los septos transversales del aparato circulatorio. (Fig. 9). Sobre ella se deposita una cantidad considerable de tejido graso. A nivel anatómico es difícil distinguir otras estructuras correspondientes a este aparato.

Cuerpo Graso. El cuerpo graso se encuentra rodeando a todos los órganos, formando una fina capa a su alrededor. (Fig. 7).

Es mucho más abundante a nivel del abdomen y principalmente alrededor de las gónadas, en donde se engrosa conspicuamente. La capa coincide con la que cubre a los micetomas y al abrir el abdomen se vé una especie de cinturón de tejido graso que va del primer al tercer segmento abdominal.

En el caso del macho, la cantidad de cuerpo graso es sensiblemente menor a la de la hembra. Su apariencia en general es globulosa, de color amarillento opaco.

Micetomas. Los micetomas de Dalbulus elimatus son dos cuerpos más o menos ovales, semejantes a un riñón, que se sitúan en la cara lateral interna del abdomen. (Fig. 10).

Su tamaño varía, pudiendo ir del primero al segundo o tercer segmento

abdominal.

En la disección puede observarse que tiene dos tonos, uno blanco opaco y otro en la parte media de su cuerpo, abarcando 1/4 parte de él, que es blanco brillante.

Está cubierto de tejido graso, sin embargo, se diferencia fácilmente de él por la distinta consistencia, siendo los micetomas más duros.

En los machos no se encontraron a los micetomas dispuestos como en las hembras y a nivel histológico, se detectan conformados por pequeños lóbulos unidos en el lado correspondiente a la pared del cuerpo.

Sistema Nervioso. El sistema nervioso de Dalbulus elimatus consta de: el ganglio supraesofágico, ganglio subesofágico, anillo periesofágico y 4 ganglios fusionados en una masa: el ganglio protorácico, el ganglio mesotorácico, el gancho metatorácico y el ganglio abdominal. (Fig. 10).

En vista dorsal del vertex, hacia la parte posterior puede observarse en primer plano al cerebro, rodeado por una pequeña capa de tejido graso. El cerebro o ganglio supraesofágico, está formado por tres pares de ganglios: protocerebro, deutocerebro y tritocerebro, las cuales son claramente distinguibles. El primero tiene un color que va del rosa al pardo, mientras que los otros dos son de color blanco lechoso.

Inmediatamente después del tritocerebro puede apreciarse el anillo periesofágico, en cuyo centro pasa la faringe, la cual sufre inmediatamente



después de ese lugar, un ensanchamiento para formar la bomba suctora y luego unirse al esófago. Por debajo de la faringe y sobre el ganglio subesofágico, puede observarse una pequeña estructura en forma de una glándula "tiroides" que corresponde a los corpora allata y corpora cardiaca fusionados. Dicha estructura ocupa 1/5 a 1/4 parte de la longitud del tamaño del ganglio subesofágico y puede observarse parte del nervio cardíaco que viene a inervar la pars intercerebralis del protocerebro.

El ganglio subesofágico se une al supraesofágico a través del anillo periesofágico, el cual es prácticamente del mismo ancho que el tritocerebro y que el ganglio subesofágico. Con dos gruesas ramas que dejan en su centro un orificio oval por donde atraviesa la faringe.

Puede decirse que el ganglio subesofágico presenta una forma semejante a la de un corazón de extremo redondeado, con una gran escotadura en la parte anterior, que corresponde al orificio por donde pasa la faringe.

En su parte posterior se une al ganglio protorácico por medio de los conectivos nerviosos, lo cual es mucho más evidente en un corte histológico.

Ya en la región del tórax, al separar el pronoto y el escutelo, así como los paquetes de músculo, queda al descubierto hacia la región ventral, la masa de ganglios fusionados. Dicha masa ganglionar vá desde el protórax hasta la base del abdomen. A simple vista puede diferenciarse el ganglio protorácico, ya que los ganglios restantes están fusionados en un cuerpo de forma triangular cuyo ápice se dirige a la parte posterior del insecto.

De la masa ganglionar salen nervios muy finos, apenas perceptibles en la disección, que se dirigen hacia la parte posterior y lateral del cuerpo.

Sistema Muscular. Por lo que a músculos se refiere, el sistema es complicado, sin embargo, hay tres zonas principales en la que su desarrollo es muy prominente: la cabeza, el tórax y la parte posterior del abdomen.

Cabeza. Los músculos más desarrollados son los situados en el clipeo y son los que se encargan del movimiento del aparato bucal, así como del funcionamiento de la bomba faríngea. También de un tamaño considerable son los músculos de los estiletes (md y mx) los cuales se insertan en la corona y bajan por la región dorsal del cerebro y a un lado del ganglio subesofágico, hasta el aparato bucal, donde se localizan los estiletes.

Tórax. Predominan por número y tamaño los paquetes musculares del tórax, (Fig. 7) los cuales se insertan tanto en la región ventral como en la dorsal, siendo más prominentes los dorsales que en su mayor parte constituyen los músculos alares.

Dichos músculos están formados por 26 paquetes longitudinales, que están dispuestos en forma paralela a los bordes laterales del cuerpo o en forma más o menos oblicua y van de la parte proximal del protórax a la parte distal del mesotórax. En el metatórax se insertan los músculos transversales que están en paquetes mucho más finos y muy abundantes. Estos músculos se encargan del movimiento de los apéndices locomotores.

Abdomen. Están muy desarrollados los músculos de la cápsula genital, sobre todo los dorsales que son longitudinales y transversales y están dispuestos en paquetes finos.

Además de esos músculos prominentes, existen como ya se ha mencionado, una serie de músculos de menor calibre o fibras musculares, tanto longitudinales como transversales y circulares, que rodean a diferentes órganos en el cuerpo como por ejemplo la bomba faríngea, el esófago, el estómago, etc. Su funcionamiento va a permitir movimientos particulares de dichos órganos y por lo tanto del cuerpo en general.

Aparato Reproductor Femenino. El aparato reproductor femenino, consta de: dos ovarios, dos oviductos laterales y un pequeño oviducto común o principal, una vagina o cámara genital y una espermateca de gran tamaño.

Ovario. Es de tipo meroístico (con células nutricias), telotrófico (las células nutricias están dispuestas en la parte distal). Se compone de seis ovariolas cada uno; ellas están conformadas de un filamento terminal, un germario, un vitelario, así como un pedicelo y cáliz que se comunica con el oviducto. (Fig. 11).

Los ovarios se fijan al cuerpo por medio de los filamentos terminales que se insertan en la base del primer segmento abdominal y en la parte media de la cavidad del cuerpo. Están rodeados de una gran cantidad de cuerpo graso así como de un sinnúmero de tubos traqueales y traqueolas.

A través de esta cubierta de tejido graso y tráqueas, los ovarios

quedan situados en posición muy cercana a la porción correspondiente del tubo digestivo.

La apariencia de las ovarias es de color amarillo blanco opaco, en comparación con el mesenteron que es blanco opaco. Ellas bajan ventralmente con respecto al tubo digestivo y van madurando en forma alterna, derecho lateral, izquierdo lateral, izquierdo medio, derecho medio.

Cada ovaria termina en un pedicelo, que junto con los otros cinco, desemboca en el cáliz, donde se almacenan los huevecillos antes de ser ovipositados.

A continuación está el oviducto lateral que es corto, de forma abultada y se comunica al oviducto principal al cual está comunicado con la cámara genital.

La espermateca tiene un cuerpo considerablemente grande, aproximadamente  $1/4$  de la longitud del aparato reproductor. Tiene además un tubo de comunicación con la cámara genital que mide  $1/5$  de la longitud del aparato reproductor.

La cámara genital se abre directamente en el ovipositor cerrándose previamente en un tubo del mismo diámetro que el ovipositor.

Masculino. El aparato reproductor del macho de Dalbulus elimatus es pareado, se extiende en el abdomen en posición lateroventral al aparato digestivo.

Consta de dos testículos, dos conductos deferentes, dos vesículas seminales, dos glándulas accesorias y un canal eyaculador. (Fig. 12).

Cada testículo tiene seis lóbulos o folículos, que tienen forma oval con los polos más o menos agudos, de dimensiones semejantes.

Los folículos se unen en un conducto deferente muy fino, el cual llega a la vesícula seminal que es larga y de forma ovalada, de apariencia algodonosa, con un tono blanco brillante.

En la parte proximal de la vesícula seminal se inserta una glándula accesoria, de gran tamaño que baja hasta la parte basal del aparato reproductor, para luego volver a subir hasta los testículos, sin unirse a ellos. Ahí sufre dos circunvoluciones, para luego terminar en un tubo ciego.

De cada conducto sale un conducto de diámetro medio, que baja, para unirse con su homólogo en un conducto eyaculador corto, que va a desembocar al edeago.

Alteraciones detectadas en las disecciones anatómicas de organismos virulíferos de *Dalbulus elimatus* (Ball), con el VRFM.

En las disecciones de los insectos virulíferos no se detectan alteraciones morfológicas, a excepción del tejido graso y micetomas.

El cuerpo graso en algunos (15% aproximadamente) organismos

virulíferos se encontró con una textura muy diferente, de aspecto acartonado, quebradiza. La coloración cambia a un blanco opaco.

En esos casos se adhería de tal forma a los órganos internos, que la disección se hacía casi imposible si se querían los órganos completos.

En el caso de los micetomas, la alteración más evidente fué con respecto al tamaño, ya que se encontraban muy reducidos pudiendo inclusive faltar uno o los dos micetomas. Además la forma ya no era la característica y se hacían extremadamente frágiles y explotaban al contacto con el instrumental.

En el resto de los órganos no se observan alteraciones anatómicas, sin embargo como se verá más adelante, a nivel histológico y citológico si se detectaron.

#### Descripción Histológica de los Organos de Dalbulus eliminatus

##### Glándulas salivales en condiciones sanas.

La afinidad tinctórica de los lóbulos de las glándulas salivales es diferente así como su conformación citológica. (Foto 1).

El lóbulo principal presenta una leve coloración rosa, se vé formado por cuatro células muy grandes cada una con un núcleo grande y redondo, cuya cromatina es dispersa, pero uniformemente distribuida; aparentemente presenta tres nucleólos.

El citoplasma presenta un aspecto esponjoso con numerosas vacuolas

pequeñas que le dan dicho aspecto trabecular de forma homogénea en toda la superficie. (Foto 2).

La glándula accesoria de aspecto piriforme se encuentra a un lado del lóbulo medio y tiñe en color violeta. (Foto 3).

El citoplasma se encuentra muy denso y homogéneo. Tiene dos núcleos grandes, redondos con la cromatina en forma de grumos pero homogéneamente dispersa. Se localizan en la parte central, tiñen en rojo.

En el citoplasma no son conspicuos las vacuolas, las que existen son pequeñas y se encuentran en mayor número en la parte media basal. Su conducto es muy largo y fino y se une al conducto del lóbulo medio a nivel de su desembocadura.

Los siete lóbulos medios presentan tres tipos de afinidad tinctórica. Los dos superiores son de color azul-violeta más intenso que la glándula accesoria.

El citoplasma presenta granulaciones que sin duda corresponden a retículo endoplasmático granular más desarrollado que en el resto, así como muy pocas vacuolas pequeñas y dispersas.

Se unen en un conducto común por medio del cual desembocan al conducto salival. Ambas presentan núcleos grandes ovales con la cromatina densa. Su tamaño es grande comparándolo con el tamaño de la célula. En proporción es más grande que los del lóbulo anterior y de la glándula salival.

Los dos lóbulos medios son de menor tamaño, tiñen hacia el violeta rosado. El citoplasma es muy granuloso semejante al de los lóbulos superiores.

El núcleo está en el tercio basal y es alargado o reniforme y la cromatina tiñe muy poco. Son células muy pequeñas no mayores de siete  $\mu$  con su conducto desembocando directamente en el canal salival.

Las tres inferiores presentan forma triangular, con la punta distal roma convergiendo cada una por separado hacia el canal salival.

Son binucleadas igual que la glándula accesoria, siendo una de mayor tamaño que el resto, presentan una serie de canaliculos a manera de una red que converge entre sí en la desembocadura, dichos canaliculos de un diámetro grande están formados por la unión de las vacuolas.

El citoplasma es menos denso que el de las células superiores. Tiñe en violeta-rosado un poco más oscuro que el de las células medias.

El tamaño de los núcleos es muy grande de tal manera que se puede decir que el tamaño del citoplasma equivale a un tercio más que el tamaño de los núcleos.

El lóbulo posterior está formado de tres conjuntos de células que están dispuestos a manera de una roseta concéntrica. (Foto 4).

Al centro existen tres células de forma fusiforme arregladas como



una especie de botón central. Con núcleos muy grandes, que tienen la cromatina en grumos. El citoplasma es muy escaso. Las células dejan espacios entre sí y aparentemente son las que estarían rodeando al canal salival y alimenticio, ya que dejan hacia la parte superior dos espacios, los que sin embargo no se encuentran rodeados de cutícula alguna, pero dichas células están envueltas en una adventicia que presenta un núcleo lateral. (Foto 5).

Rodeando a este botón central se encuentra un conjunto de diez células que son piriformes, muy alargadas. Tienen de azul marino intenso con los núcleos rojos, pequeños en comparación con el tamaño de la célula. Con parte de la cromatina aglutinada.

El citoplasma se presenta denso y uniformemente estructurado, con inclusiones muy pequeñas y numerosas vacuolas que al juntarse entre sí constituyen canales que se ven de color blanco, los cuales van yendo hacia la parte basal, estando esta parte adelgazada, llena únicamente de numerosas vacuolas que se superponen hacia la desembocadura de la célula.

El tercer conjunto celular está formado de siete células de tamaño muy grande, en comparación con las otras células de este lóbulo. Ellas rodean por la parte externa al resto.

Presentan forma piramidal con un gran núcleo que está en la parte distal de la célula, que tiene la cromatina en forma de grumos.

El citoplasma está formado de un conjunto de vesículas muy burdas

que dan la impresión de un retículo de bolas de diferente diámetro y contenido, ya que algunos tiñen de naranja, de azul y otros de morado.

Presentan vacuolas muy pequeñas generalmente cerca del núcleo, las cuales se unen como espacios muy claros de color azul y un retículo de canales basales que a diferencia de todas las células anteriores se tiñen de azul y no de blanco.

Descripción Histológica de las Glándulas Salivales de *Dalbulus elimatus* en Condiciones Virulíferas.

Es difícil reconocer la organización celular por lóbulos en la estructura de la glándula salival, ya que hay un reordenamiento de las células por la diferencia de tamaños, localización, posición y conformación citológica. Por lo que no conserva el mismo plan estructural de un organismo sano. (Foto 6).

Los acinis del lóbulo principal pierden su forma original sin tener una forma característica, ya no presenta la apariencia algodonosa debido a que el conjunto en general tiene un aspecto cristalizado. Se presenta más denso y con muchas inclusiones de color más intenso. Las vacuolas no presentan su forma redonda, sino que son numerosas pero amorfas, en algunos casos se observa el proceso en una fase más avanzada y entonces encontramos grandes espacios vacíos y el citoplasma multivacuulado, con mayor afinidad a la tinción. (Foto 7).

Por lo que a núcleo respecta, encontramos que no hay cromatina, sus

bordes son irregulares y está hiperteñido. Hay un rango de variación dependiendo del grado de alteración o "enfermedad", presentándose desde inflamación nuclear hasta su estallamiento, por lo cual la membrana nuclear no es continua sino presenta roturas múltiples.

La glándula accesoria pierde su forma piriforme y cambia totalmente su afinidad tinctórica en el citoplasma. Las vacuolas se hacen más evidentes, por lo que pierde su apariencia de una textura homogénea. Sus dos núcleos se localizan en la parte distal, totalmente estallados con varias estructuras que tiñen en azul intenso, que corresponden a los cromosomas.

Los lóbulos medios sufren también alteraciones, las células que lo componen sufren una inflamación que le dá un aspecto irregular al conjunto. (Foto 8).

La apariencia de los siete lóbulos cambia haciéndose menos homogénea.

En las células superiores el cambio más importante es a nivel de núcleo, donde se pierde la cromatina y la membrana nuclear desaparece. En los cinco restantes, es notorio el cambio en la forma, tamaño y afinidad tinctórica, el citoplasma ya no es homogéneo sino grumoso al igual que los núcleos, que además están hiperteñidos.

En el canalículo ya no se observan las formaciones de vacuolas convergiendo a ellos con una formación definida.

Los dos medios reducen su tamaño, el citoplasma se ve vacío y el

núcleo presenta la cromatina en grumos. En algunos casos se colapsa el citoplasma y llega a desaparecer.

La configuración en roseta de este lóbulo no se mantiene en algunas células no sólo hay crecimiento sino una gran hipertrofia y en otras una disminución enorme tanto a nivel de citoplasma como de núcleos. (Foto 9).

En las células los nucleolos se tiñen de una manera muy intensa. Ellas pueden llegar a estallar.

Las células piriformes siguen manteniendo su afinidad tinctórica sin embargo la forma la pierden siendo de forma muy variada. El citoplasma aumenta enormemente; su granulocidad y afinidad hacia el azul, se pierde, sin embargo los canales reticulares en algunas células persisten sin una organización definida. Los espacios de los núcleos están vacíos por lo tanto se ha perdido el material nuclear del interior y se ven sólo manchas rojas, como huecos, debido al estallamiento de éstos.

Las células piramidales presentan también alteraciones en forma, disposición, tamaño y número, aumentando el número de inclusiones de color naranja en el citoplasma.

La membrana nuclear se pierde y en algunos casos permanece la cromatina y en otros desaparecen sólo los nucleolos.

En tres células se pierde totalmente la afinidad tinctórica, se reduce el tamaño, sin embargo los núcleos se mantienen, aunque con

estallamiento, en ciertas partes con alguna cromatina dentro al igual que los nucleolos. El citoplasma presenta grandes acumulaciones de las granulaciones citoplásmicas teñidas de rosa y arregladas en cadenas que se llegan a juntar entre sí, pero en un orden definido y grandes espacios vacíos, entre éstas granulaciones rosas existen partes muy oscuras y otras muy claras.

En algunos casos incluso la célula misma llega a estallar.

Después de un daño y de la pérdida del material nuclear empieza un estallamiento celular o nuclear, así como una reducción de tamaño del órgano en general, por un principio de colapsamiento celular.

Descripción Histológica del Tubo Digestivo de Dalbulus elimatus en Condiciones Sanas.

Faringe. La faringe principia a nivel del aparato bucal, sus células son sinciciales, con núcleos alargados y muy pequeños. Está rodeada por fibras musculares longitudinales y transversales, que se hacen mucho más evidentes a nivel de la bomba suctora. (Foto 10).

En la luz del tubo se vé la capa cuticular que la recorre desde los estiletes hasta antes de la bomba faríngea.

Esófago. El esófago se abre inmediatamente después de la bomba suctora, está constituida por un epitelio monoestratificado. La luz del tubo es irregular. (Foto 10).

En su parte basal las células se alinean en la membrana que circunda al esófago, y rodeando a ésta se encuentra una capa de músculo longitudinal.

Antes de llegar al intestino medio, en la luz del esófago existe la válvula cardíaca que consiste en una evaginación de las células hacia la luz del tubo.

Mesenteron. Al terminar el esófago el tubo aumenta profusamente su diámetro, y en esta región empieza el ventrículo, el cual es muy difícil de interpretar debido a la presencia de cámaras filtrantes, en donde hay circunvoluciones de diferentes tipos y en diferentes sentidos, permitiendo distinguir lateralmente junto a la luz del tubo digestivo en el principio una gran célula esférica que mide de 14 a 16  $\mu$ , binucleada y los núcleos con numerosos nucleolos. Dicha célula presenta un borde de cepillo. Está rodeada por una gran célula circular con un núcleo, que la envuelve, dejando entre las dos un espacio vacío. (Foto 11).

Esta célula se une con otra cerca de la parte basal y entre las dos forman una estructura a manera de una válvula que permite regular el flujo del líquido alimenticio hacia la cámara y hacia la luz del tubo digestivo.

Esta estructura se encuentra casi al mismo nivel que la válvula cardíaca, teniendo en el extremo contrario al túbulo de Malpigio.

Inmediatamente después de la válvula cardíaca se encuentra la luz del tubo digestivo, que es muy delgada y que colinda directamente con la

gran célula periférica. (Foto 12) En el interior apenas si se distingue la membrana peritrófica y en la parte externa se encuentran rodeando la entrada de los 4 túbulos de Malpigio. Alrededor de todo ello existe tejido conectivo y una capa muy fina de fibras musculares.

Al terminar la célula envolvente, empiezan las células epiteliales a ambos lados del tubo digestivo, las cuales están constituidas a manera de un epitelio columnar con grandes núcleos y numerosos nucleolos.

Estas células no son uniformes en su aspecto, ya que el tipo de secreción que presentan es holócrina y al terminar el nivel de las cámaras filtrantes se distingue claramente a los lados del tubo digestivo la formación de las criptas de regeneración a manera de evaginaciones del tubo digestivo, que están situadas a espacios regulares y cuyas invaginaciones están ocupadas por fibras musculares circulares, que envuelven todo el mesenteron, y que están unidas entre sí por finas fibras musculares longitudinales, de manera que tienen el aspecto de un rosario. (Foto 13).

La luz del tubo es sinuosa y en su interior se nota parte del bolo alimenticio.

Las células del ventrículo están conformadas en un epitelio columnar, son muy grandes y se proyectan hacia el lumen, dando un aspecto replegado. El borde de dichas células no es estriado, generalmente hay vesículas de punta roma las cuales en su secuencia podrían dar la impresión de un borde estriado.

En la luz del tubo hay una membrana delgada que rodea las células y que corresponde a la membrana peritrófica, la cual tiñe hacia el azul. (Foto 14).

Cada célula tiene un núcleo grande con numerosos nucleolos que ocupa un poco menos de la mitad del tamaño de la célula, que tiñen en rojo; con la cromatina aglutinada de manera homogénea y una membrana bien definida.

Rodeando al mesenteron están una serie de bandas transversales de músculo y una capa muy fina de músculos longitudinales entre las cuales están las criptas de regeneración del epitelio.

El citoplasma de cada célula está en contacto a nivel de la base de la célula, con el de la célula vecina. Es denso, con numerosas granulaciones que tiñen en violeta.

La segunda región del mesenteron está formada por células binucleadas, siendo los núcleos alargados.

El mesenteron ocupa prácticamente la mitad del cuerpo.

Proctodeo. El proctodeo está formado por un epitelio simple monoestratificado con núcleos grandes y alargados, que tiñen en rosa y presentan un nucleolo. La cromatina se presenta en acumulaciones de color más intenso.

En su parte externa está rodeado por una capa de fibras musculares longitudinales y en la luz, el diámetro se agranda en comparación con la



del mesenteron y los túbulos de malpigio.

Descripción Histológica del Tubo Digestivo de Dalbulus elimatus en Condiciones Virulíferas.

Esófago. El epitelio del esófago reduce su tamaño y número de células presentándose pequeños espacios.

Las células se separan entre sí, sin embargo no se aprecian fenómenos de vacuolización. Dando un aspecto de algo que se encoge y al hacer tensión deforma todo el conjunto.

Cámara filtrante. La cámara filtrante se reduce drásticamente, sobre todo a nivel citoplásmico, los núcleos se ven afectados en diferentes grados.

Las células esféricas reducen enormemente su tamaño dejando por lo tanto una luz mucho mayor que la normal. (Foto 16 y 17).

Las vacuolas se vuelven más pequeñas. La célula envolvente pierde la forma redonda, al igual que las internas, haciéndose lobuladas y perdiendo por lo tanto la forma primaria.

Lo mismo sucede con las células de los túbulos de malpigio, las cuales reducen su citoplasma.

El proceso de vacuolización comienza desde la primera célula epitelia, aunque aparentemente los núcleos no están tan afectados.

Inmediatamente después empieza a haber en las diferentes circunvoluciones lo que a continuación se describe.

Mesenteron. En el mesenteron existe trastorno degenerativo celular de un 60% aproximadamente, caracterizado por la presencia de núcleos excéntricos o la ausencia de los mismos. Además, existen grandes vacuolas que son las causantes de la deformación celular.

Se aprecia un desorden celular porque se ha perdido la forma, el tamaño, y la sincronía de la secreción. (Foto 18).

Las células de las criptas regeneradoras están prácticamente ausentes o se encuentran minimizadas.

La alteración se presenta desde las células epiteliales proximales, aunque se afectan más las células medias, las cuales sufren alargamiento y adelgazamiento, mientras que las posteriores guardan más la sincronía, la presencia del núcleo y las criptas de regeneración; puede verse que en estas últimas se presentan procesos de vacuolización, pero no tan avanzados como en las medias o en las proximales.

La luz del tubo está prácticamente vacía, por lo cual la supervivencia está suplida por el tejido de reserva en parte, y además por los micetomas.

La afinidad tinctórica varía, siendo el citoplasma más denso que el de los sanos. La coloración del núcleo es más parecida al citoplasma, por lo que no se distingue fácilmente.

Proctodeo. En el proctodeo las células se colapsan dejando espacios vacíos en donde únicamente queda la capa muscular en unión con la luz del tubo. Presentando el conjunto un aspecto vesicular arrosariado.

Descripción Histológica de los Tubulos de Malpigio de Dalbulus elimatus en condiciones sanas.

Los 4 túbulos de malpigio en su región media, están formados por células muy grandes, de forma más o menos pentagonal, con la técnica tricrómica de Mallory tiñen en lila.

La base de las células constituye la pared externa, que es circular, muy homogénea, mientras que las paredes distales terminan en punta roma, dirigida hacia la luz del tubo, la cual tiene diferentes diámetros, dependiendo de la región del túbulo que se observe.

El citoplasma tiene una textura de tipo esponjoso, el cual es causado por la presencia de un gran número de vacuolas de tamaño regular que se encuentran en toda la célula, de manera muy homogénea. Presentan además inclusiones de color más intenso.

Tienen un núcleo excéntrico de tamaño regular ( $1/6$  a  $1/5$  de la longitud), su forma es circular en vista transversal y ovoide en vista lateral. Presenta dos nucleolos. La cromatina está aglutinada en pequeños grupos distribuidos en todo el núcleo.

La región proximal nace en la unión del mesenteron y el proctodeo a

la altura de las cámaras filtrantes. Está formada de células pequeñas aplanadas, con el citoplasma denso, en un tono de lila más intenso, tanto externa como internamente, sus bordes forman una superficie arrosariada. (Foto 20). En la parte interna las células presentan bordura en brosa. El núcleo es de tamaño grande, más o menos redondo con la cromatina en grumos distribuídos en todo el núcleo.

La región distal de los túbulos de malpigio también está formada de células más pequeñas aplanadas, cuyas características son muy parecidas a las células de la región proximal.

La luz del tubo se va modificando a medida que se acerca a la unión con el proctodeo, siendo de un diámetro pequeño en este sitio.

Descripción Histológica de los Túbulos de Malpigio de Dalbulus elimatus en Condiciones Virulíferas.

En el caso de los túbulos de malpigio de individuos virulíferos de Dalbulus elimatus detectamos alteraciones a nivel histológico, las cuales se presentan a continuación.

Las células aumentan de tamaño, y su forma pentagonal original se pierde en la gran mayoría, ya que la membrana celular pierde su forma rectilínea y se hace curva. (Foto 21).

En corte transversal se sobreponen unas a otras, los límites externos no se presentan uniformes a todo lo largo de la región media del túbulo

como es en los sanos, esto es debido a la inflamación de las células. La parte distal de las células no siempre termina en punta roma, y por lo tanto la luz del tubo se modifica.

El citoplasma tiñe hacia el morado más que al violeta, su textura esponjosa ya no se observa en forma homogénea, sino que se ven agregaciones hacia la parte basal de la célula en la que las vacuolas tienen muchas inclusiones de un color más intenso.

Se pierde la separación de la parte media basal con la media distal, ya que la basal aumenta indiscriminadamente hacia la parte basal de la célula, pero no de una manera uniforme. Las células se hinchan de tal forma que las hace sobreponerse unas a otras.

Ocupan gran parte de la cavidad del cuerpo, mientras los otros órganos disminuyen, ellos aumentan su tamaño no sólo en general sino también celular, como los núcleos no se ven afectados, la célula es capaz de regular su metabolismo y entonces secretan una mayor cantidad de enzimas de manera compensativa a la deficiencia del aparato digestivo.

Sin embargo, en algunas células de la parte distal se perciben fenómenos de vacuolización.

Por lo que respecta a su porción distal, la célula presenta vacuolas casi translúcidas (no transparentes, como las del cuerpo graso) y en esa parte no hay inclusiones.

El núcleo se agranda, tiene una posición basal, generalmente se mantiene circular, tiñe en rojo y el nucleolo tiñe en escarlata. La cromatina no es tan fácilmente observable como en los sanos, aunque también se presentan en grumos distribuidos en el núcleo.

Las regiones distal y proximal mantienen sus características, a excepción de que los nucleolos tiñen en escarlata y el citoplasma hacia el morado.

Descripción Histológica de los Micetomas de Dalbulus elimatus en Condiciones Sanas.

En el micetoma en corte histológico, aparentemente se distinguen tres regiones en general. (Foto 22). La capa más externa está formada por una hilera de células grandes, que se ven vacías, sus núcleos son basales de color violáceo, con la cromatina no tan dispersa como la del tubo digestivo, tiene una apariencia de una capa de tejido conectivo envolvente, amplia, cuyo tamaño tiene más de la mitad de la talla de las células continuas.

La siguiente capa tiene células que tiñen en azul marino intenso, es donde se alojan los microorganismos simbiotes, el citoplasma se ve repleto de gránulos grandes muy cerca uno del otro, que son más o menos de forma ovoide con una parte central redonda que tiñe mucho más oscuro. El núcleo es redondo y tiñe en rojo. (Foto. 23).

La capa restante tiñe en café rojizo, las células son más pequeñas de forma cuboide teniendo el aspecto de un epitelio pavimentoso. Los núcleos

resultan de un gran tamaño en comparación con el tamaño de la célula, son redondos, con la cromatina dispersa y teñida de un color fucsia intenso.

Descripción Histológica de los Micetomas de Dalbulus elímatas en Condiciones Virulíferas.

En los organismos infectivos el micetoma se reduce al igual que como sucede con otros órganos, aunque también podemos distinguir las tres partes antes mencionadas, la parte correspondiente a las células que alojan microorganismos, se ha reducido enormemente en número, así como en su citoplasma. (Foto 24).

Los núcleos y nucleolos de dichas células han explotado y sólo se ven acumulaciones del colorante en el espacio hueco. Las células en sí y los microorganismos se ven colapsados y superpuestos y en algunas células estos microorganismos no tienen la misma afinidad tinctórica, que en los organismos sanos, de un azul intenso hay una gradación hasta apenas azul pálido, dichos cambios se encuentran indiscriminadamente en cualquier parte de las células e incluso se nota el vaciado de algunas de ellas, por ausencia de microorganismos en su interior. (Foto 25).

Adoptan una forma estrellada y no de bordes redondeados como en las sanas. El límite de éstas células con la capa de plasmotocitos que rodean al micetoma en general, es festonado. (Foto 26).

Las células mismas que están rodeando al micetoma se notan colapsadas pero no hay procesos degenerativos marcados y mantienen la continuidad,

sólo se nota mayor cantidad de citoplasma que en el de las sanas, es decir que el núcleo se vé reducido.

En las células que constituyen el acúmulo de plasmotocitos ha habido daño del material nuclear que presenta diferentes grados, desde únicamente retracción del citoplasma, ruptura de la membrana nuclear y salida del material nuclear, hasta estallamiento del citoplasma por hipertrofia celular y cambios generales en la forma y tamaño de la célula. Además ya no se ven compactas, es decir unidas unas a otras sino, se encuentran separadas.

El número de estas células es constante en los individuos sanos e infectivos siendo de  $57 \pm 2$ , aunque en algunos infectivos observamos que puede existir disminución en este número.

#### Descripción Histológica del Sistema Nervioso de *Dalbulus elimatus* en Condiciones Sanas.

Existen tres tipos de células en el pericarion; las células gliales gigantes que presentan un gran núcleo, con la cromatina en aglutinaciones, nucleolo rojo; presentan una forma cuadrangular o triangular a ovalada. El citoplasma finamente granulado, la membrana citoplásmica apenas se distingue.

Las otras células gliales son escasas, pequeñas y muy uniformes en tamaño, presentan el citoplasma reducido, con un núcleo de aproximadamente la mitad de las células gliales gigantes, con la cromatina en forma de pequeñas acumulaciones a manera de gotas y generalmente no se les distingue



nucleolo.

El tercer tipo de células que es el responsable de secretar la vaina de mielina, se encuentra en forma continua alrededor de todo el pericarion. Son células de tipo alargado con núcleos redondos. Los límites entre una y otra apenas se distinguen, aún a grandes aumentos. Sus núcleos son alargados, ovalados con un gran nucleolo que tiñe en rojo, estando bastante esparcidos entre sí, la cromatina está en agregaciones, pero no tan abundante como en las otras células.

El neurópilo presenta numerosas fibras nerviosas las cuales forman diferentes diseños dependiendo de la región del sistema nervioso en que se encuentren. Los nucleolos de las neuronas se distinguen por una coloración azul intensa, encontrándose mayor número de ellos a nivel de los cálices.

Las fibras nerviosas tiñen también en azul fuerte, están divididas en haces de diferente calibre.

Descripción Histológica del Sistema Nervioso de Dalbulus elimatus en  
Condiciones Virulíferas.

Se presenta una disgregación de las fibras nerviosas de manera que las comisuras laterales y la comisura protocerebral, presentan claros espacios entre las fibras nerviosas en sí y entre ellos, no guardan la homogeneidad del individuo sano.

Se presentan especies de roturas, falta de continuidad en los haces

de fibras nerviosas en donde en ocasiones se nota como si fuera una madeja de hilos deshilados.

Los nucleolos de las neuronas se notan más espaciados y reducidos en número.

Los núcleos de las células gliales están hiperatrofiados en algunos casos o muy reducidos en otros, dejando grandes espacios entre ellos.

En la hipertrofia el núcleo es muy voluminoso, ocupa casi la totalidad de la célula. En las células disminuídas no se percibe el núcleo con claridad. Hay menor afinidad tinctórica en general.

Las células que secretan la vaina de mielina en algunos casos falta y la vaina en sí no es continua.

En los casos en que se encuentra a las células, los núcleos se notan hiperatrofiados, pero aún así las células están muy reducidas. Los nucleolos de las células gliales son muy notorios.

El ganglio torácico sólo llega a nivel de protórax y distales de mesotórax, mientras que en los sanos llega hasta el metatórax.

A nivel del primer y segundo quiasma óptico hay una notable reducción del tamaño de las células gliales, que se reduce a más de la mitad y la afinidad tinctórica cambia, siendo de color rojo en general, con la cromatina en rojo más intenso. El tamaño del núcleo es menor aparentemente.

En algunos casos se ven separadas las células de la neuroglia entre sí.

La alteración más importante es la pérdida de la capa de mielina.

#### Detección Enzimática en Condiciones Sanas y Virulíferas.

De la revisión bibliográfica realizada, podemos observar que hay poco estudiado de las enzimas digestivas de los Cicadellidae. (Nuorteva, 1954; Saxena, 1954; Adams, 1958; Orensky & Maramorosch, 1962; Orensky, 1964). Además de que como puede apreciarse no hay trabajos recientes al respecto.

En el presente trabajo mediante el micrométodo de Apizym, se detectaron 19 enzimas digestivas de Delbulus elimatus las cuales se analizaron en glándulas salivales (1), mesenteron (2), túbulos de malpigio (3) y micetomas (4), tanto de insectos sanos como virulíferos con el VRFM.

Las enzimas se dividieron en tres grupos generales: Las que hidrolizan grasas (I), las que hidrolizan proteínas (II) y las que hidrolizan carbohidratos (III).

Los datos obtenidos se presentan en los cuadros 1, 2, 3 y 4, en las tablas 1 y 2 y en las gráficas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

El registro de los resultados se hace con base en la cantidad de nanomoles liberados por la actividad de la enzima sobre un sustrato determinado.

TABLA 3

ENZIMAS DETECTADAS EN LAS GLANDULAS SALIVALES DE Dalbulus elimatus (Ball) EN CONDICIONES SANAS.

Estearasa (C4)	Leucina-arilamidasa	$\beta$ galactosidasa
Estearasa-lipasa (C8)	Cistina-arilamidasa	$\beta$ Glucuronidasa
Lipasa (C14)	Tripsina	$\alpha$ Glucosidasa
Fosfatasa alcalina	Fosfoamidasa	N Acetil $\beta$ Glucosaminidasa
Fosfatasa ácida		$\alpha$ Manosidasa
		$\alpha$ Fucosidasa

## ENZIMAS DIGESTIVAS NO DETECTADAS EN GLANDULAS SALIVALES EN CONDICIONES SANAS.

$\alpha$ Quimotripsina	$\alpha$ Galactosidasa
Valina-arilamidasa	$\beta$ Glucosidasa

TABLA 4

ENZIMAS DETECTADAS EN MESETERON DE Dalbulus elimatus (Ball) EN CONDICIONES SANAS. \*

Estearasa (C4)	Leucina-arilamidasa	$\alpha$ Galactosidasa
Estearasa-lipasa (C8)	Valina-arilamidasa	$\beta$ Galactosidasa
Lipasa (C14)	Cistina-arilamidasa	$\beta$ Glucuronidasa
	Tripsina	$\alpha$ Glucosidasa
Fosfatasa alcalina	$\alpha$ Quimotripsina	$\beta$ Glucosidasa
Fosfatasa ácida	Fosfoamidasa	N Acetil $\beta$ Glucosaminidasa
		$\alpha$ Manosidasa
		$\alpha$ Fucosidasa

\* En el mesenteron se detectaron las 19 enzimas digestivas.

TABLA 5

ENZIMAS DETECTADAS EN TUBULOS DE MALPIGIO DE Dalbulus elimatus (Ball) EN CONDICIONES SANAS.

Estearasa (C4)	Leucina-arilamidasa	$\beta$ Galactosidasa
Estearasa-lipasa (C8)	Valina-arilamidasa	$\beta$ Glucuronidasa
	Cistina-arilamidasa	$\alpha$ Glucosidasa
	Fosfoamidasa	$\beta$ Glucosidasa
Fosfatasa ácida		
Fosfatasa alcalina		
NO DETECTADAS		
(Lipasa (C14)	Tripsina	$\alpha$ Galactosidasa
	$\alpha$ Quimotripsina	N Acetil $\beta$ Glucosaminidasa
		$\alpha$ Manosidasa
		$\alpha$ Fucosidasa

TABLA 6

ENZIMAS DETECTADAS EN MICETOMAS DE Dalbulus elimatus (Ball) EN CONDICIONES SANAS.

Estearasa (C4)	Leucina-arilamidasa	$\beta$ Galactosidasa
Estearasa-lipasa (C8)	Cistina-arilamidasa	$\beta$ Glucuronidasa
Lipasa (C14)	Tripsina	$\alpha$ Glucosidasa
	Fosfoamidasa	$\beta$ Glucosidasa
		N Acetil $\beta$ Glucosaminidasa
		$\alpha$ Manosidasa
		$\alpha$ Fucosidasa
NO DETECTADAS		
	Valina-arilamidasa	$\alpha$ Galactosidasa
	$\alpha$ Quimotripsina	

88

TABLA 7

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE DIFERENTES ÓRGANOS DE INDIVIDUOS SANOS DE Bombus elimatus (Ball) (EN NARDOLES).

TIPO DE ENZIMA		GLANDULAS SALIVALES	MESENTERON	TUBULOS DE MALPIGIO	MICETOMAS
Esterasa (C4)	s	30	30	20	40
	v	5	30	30	20
	v	10	25	10	
Esterasa-lipasa (C-8)	s	10	30	10	30
	v	10	20	7.5	15
	v	5	20	15	
Lipasa (C-14)	s	2.5	5	0	2.5
	v	0	2.5	2.5	1.25
	v	1.25	5	1.25	
Fosfatasa alcalina	s	10	20	10	30
	v	10	15	15	10
	v	5	10	5	
Fosfatasa ácida	s	10	40	10	40
	v	7.5	10	10	10
	v	5	40	5	
Leucina-arilamidasa	s	10	40	30	5
	v	5	40	30	5
	v	2.5	40	10	
Valina-arilamidasa	s	0	20	2.5	0
	v	2.5	2.5	1.25	2.5
	v	2.5	20	2.5	
Cistina-arilamidasa	s	1.25	30	5	2.5
	v	2.5	10	2.5	2.5
	v	1.25	15	2.5	
Tripsina	s	1.25	2.5	0	1.25
	v	1.25	2.5	1.25	2.5
	v	1.25	2.5	1.25	
$\alpha$ Quimotripsina	s	0	1.25	0	0
	v	0	0	0	1.25
	v	0	0	0	
Fosfoamidasa	s	5	30	30	30
	v	0	10	2.5	10
	v	2.5	20	5	
$\alpha$ Galactosidasa	s	0	5	0	0
	v	0	1.25	1.25	0
	v	0	1.25	0	
$\beta$ Galactosidasa	s	5	40	25	5
	v	5	5	5	1.25
	v	25	10	0	
$\beta$ Glucuronidasa	s	25	5	2.5	10
	v	1.25	0	0	0
	v	0	1.25	0	
$\alpha$ Glucosidasa	s	10	50	40	5
	v	5	40	20	2.5
	v	2.5	50	2.5	
$\beta$ Glucosidasa	s	0	5	2.5	2.5
	v	0	0	5	0
	v	0	5	0	
N Acetil $\beta$ Glucosamidasa	s	7.5	5	0	10
	v	0	0	5	2.5
	v	0	5	0	
$\alpha$ Mannosidasa	s	1.25	2.5	0	2.5
	v	0	0	2.5	0
	v	1.25	1.25	0	
$\alpha$ Ucosidasa	s	1.25	2.5	0	1.25
	v	0	0	1.25	0
	v	0	1.25	0	

s = grupo de insectos sanos.

v = grupo de insectos infectivos.

89

TABLA 8

PORCENTAJE DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA RESIDUAL DE DIFERENTES ORGANOS DE INDIVIDUOS VIRULIFEROS DE Dalbulus elimatus (Ball) CON EL VRFM.

TIPO DE ENZIMA	GLANDULAS SALIVALES		MESETERON		TUBULOS DE MALPIGIO		MICETOMAS
	I	II	I	II	I	II	
Estearasa (C4)	16.7	33.3	100	83.4	150	50	50
Estearasa-Lipasa (C8)	100	50	66.6	66.6	75	150	50
Lipasa (C14)	0	50	50	100	*	*	50
Fosfatasa Alcalina	100	50	75	50	150	50	33.6
Fosfatasa Acida	75	50	25	100	100	50	25
Leucina-arilamidasa	50	25	100	100	100	33.6	100
Valina-arilamidasa	*	*	87.5	0	50	100	*
Cistina-arilamidasa	150	100	66.6	50	50	50	100
Tripsina	100	100	100	100	*	*	200
$\alpha$ Quimotripsina	-	-	0	0	-	-	*
Fosfoamidasa	0	50	33.3	66.6	8.4	16.7	33.3
$\alpha$ Galactosidasa	-	-	25	25	-	-	-
$\beta$ Galactosidasa	100	50	12.5	25	200	100	25
$\beta$ Glucuronidasa	50	0	0	25	0	0	0
$\alpha$ Glucosidasa	50	25	150	150	50	3.75	50
$\beta$ Glucosidasa	-	-	0	100	200	0	0
N Acetil $\beta$ glucosaminidasa	0	0	0	50	*	-	25
$\alpha$ Manosidasa	0	100	0	50	*	-	0
$\alpha$ Fucosidasa	0	0	0	50	*	-	0

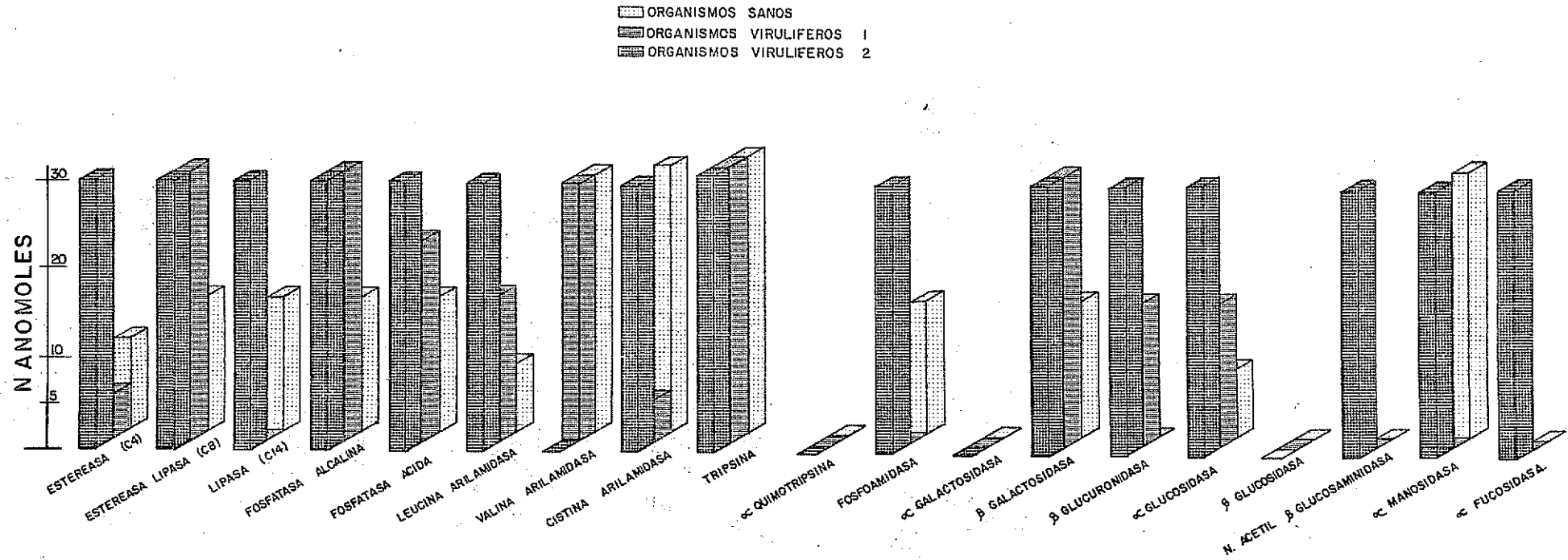
\* = aparece actividad de los infectivos que en los sanos no la había.

I virulífero 1

II virulífero 2

GRAFICA 1

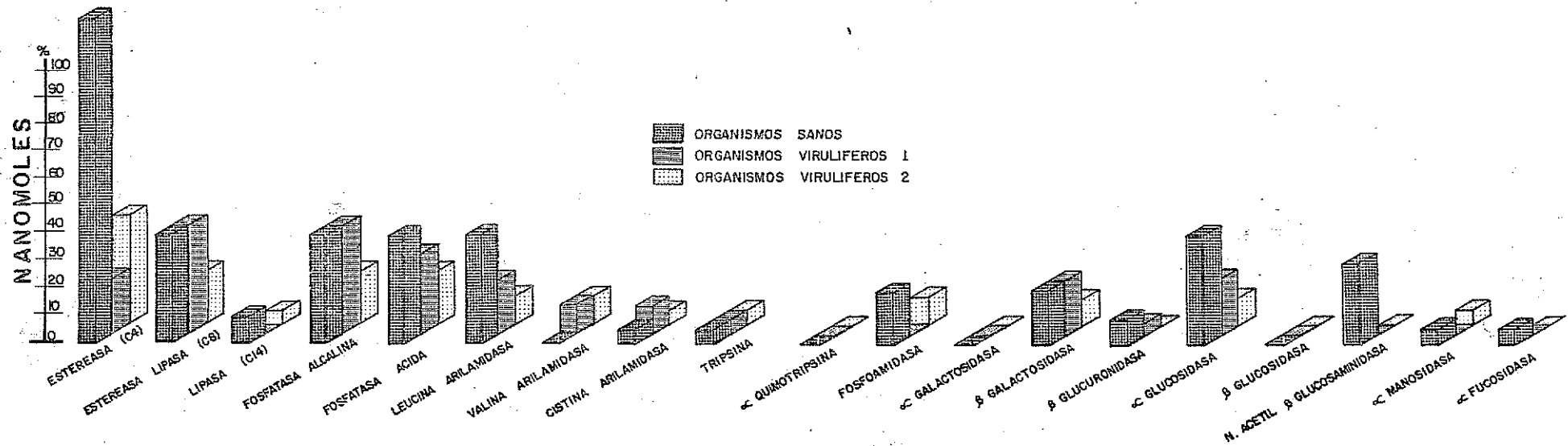
ACTIVIDAD ENZIMATICA DE LAS GLANDULAS SALIVALES DE  
DALBULUS ELIMATUS (BALL)



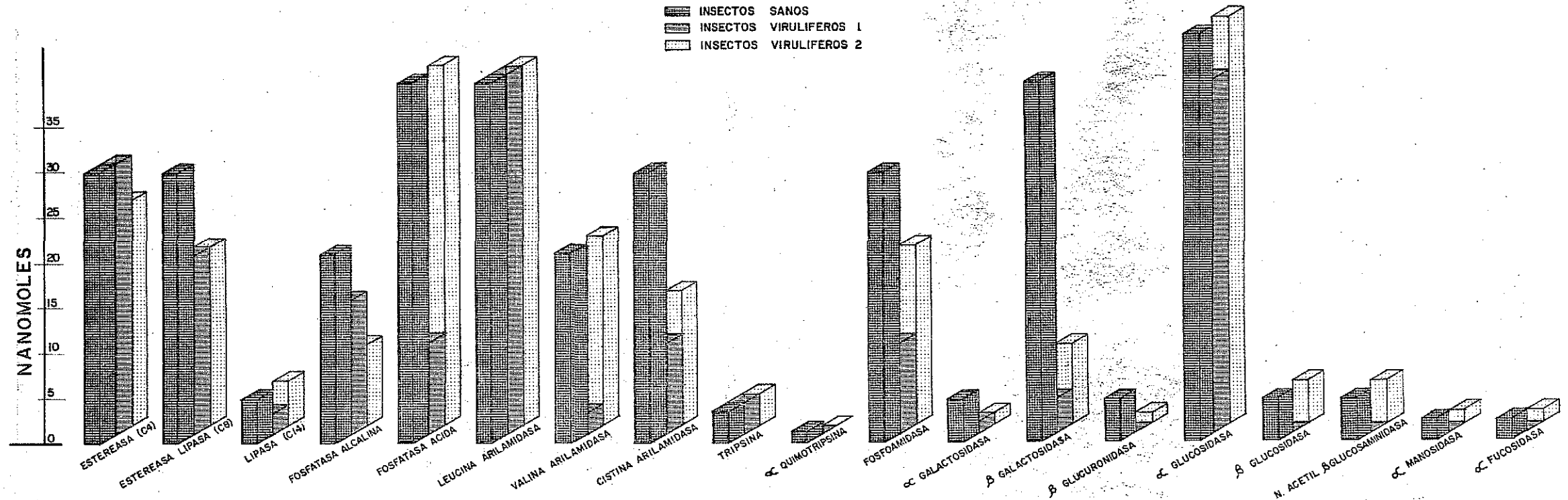


GRAFICA 2

COMPARACION DEL PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE LAS GLANDULAS SALIVALES DE ORGANISMOS SANOS Y DE ORGANISMOS INFEKTIVOS DE DALBULUS ELIMATUS (BALL)

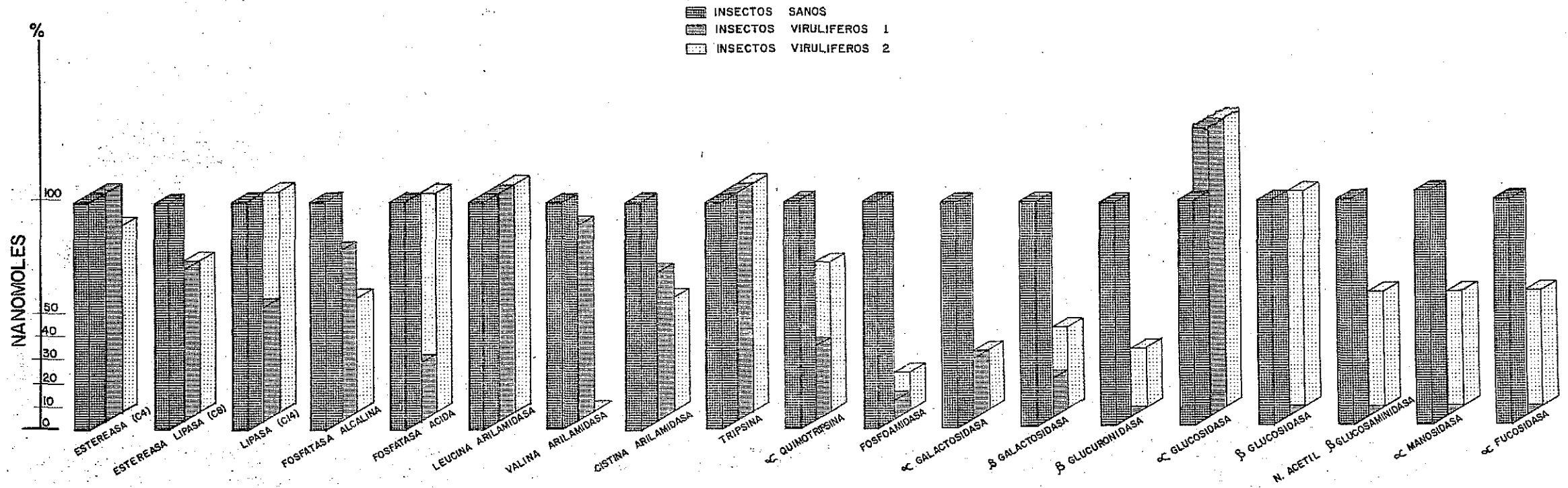


GRAFICA 3  
 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DEL MESENTERON DE  
DALBULUS ELIMATUS (BALL)

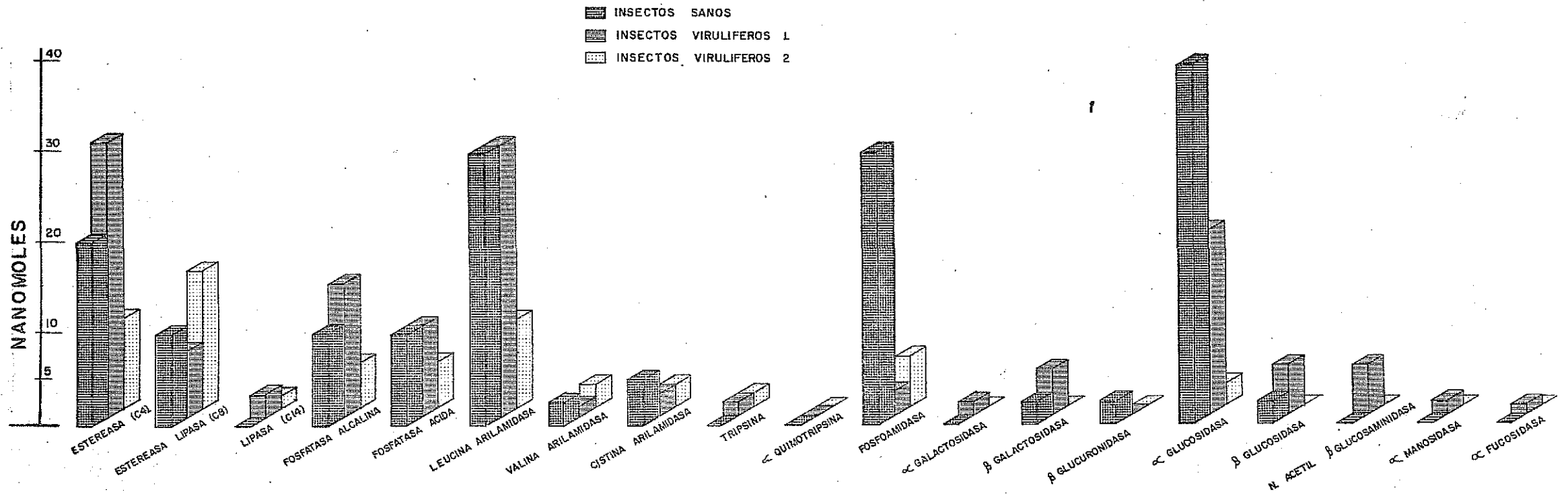


GRAFICA 4

COMPARACION DEL PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DEL MESENTERON DE ORGANISMOS SANOS Y DE ORGANISMOS VIRULIFEROS DE DALBULUS ELIMATUS (BALL)

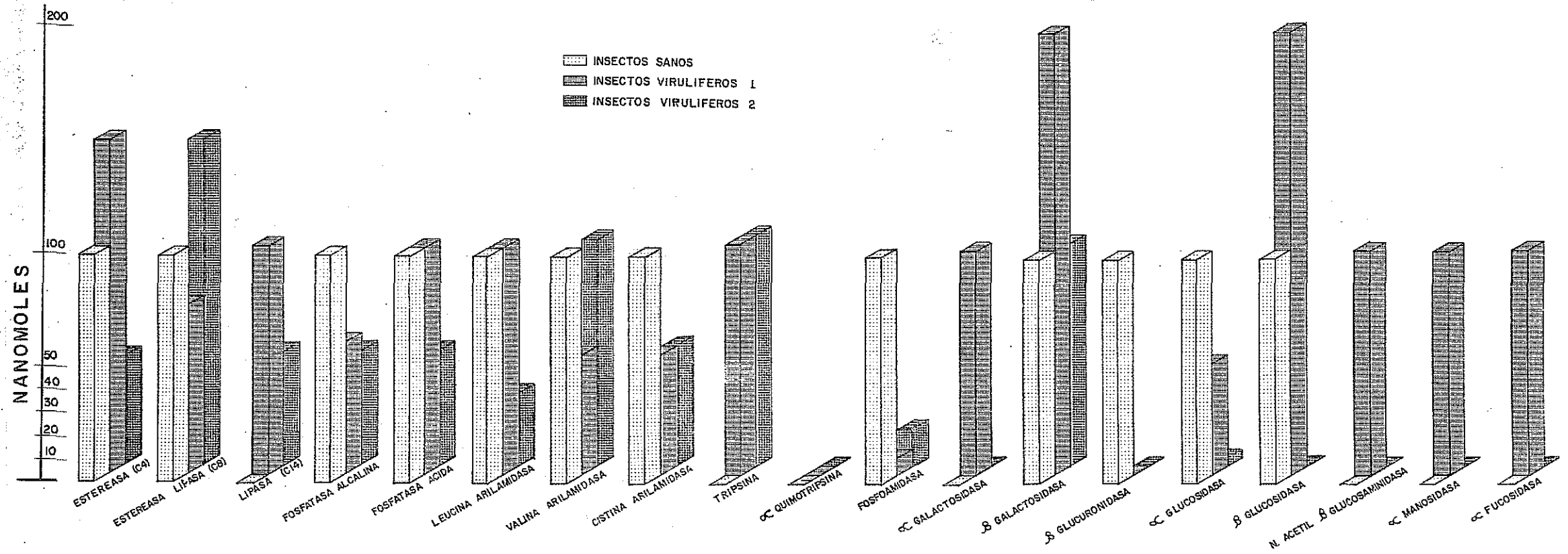


GRAFICA 5  
 ACTIVIDAD ENZIMATICA DE LOS TUBULOS DE MALPIGIO  
 DE DALBULUS ELIMATUS (BALL)



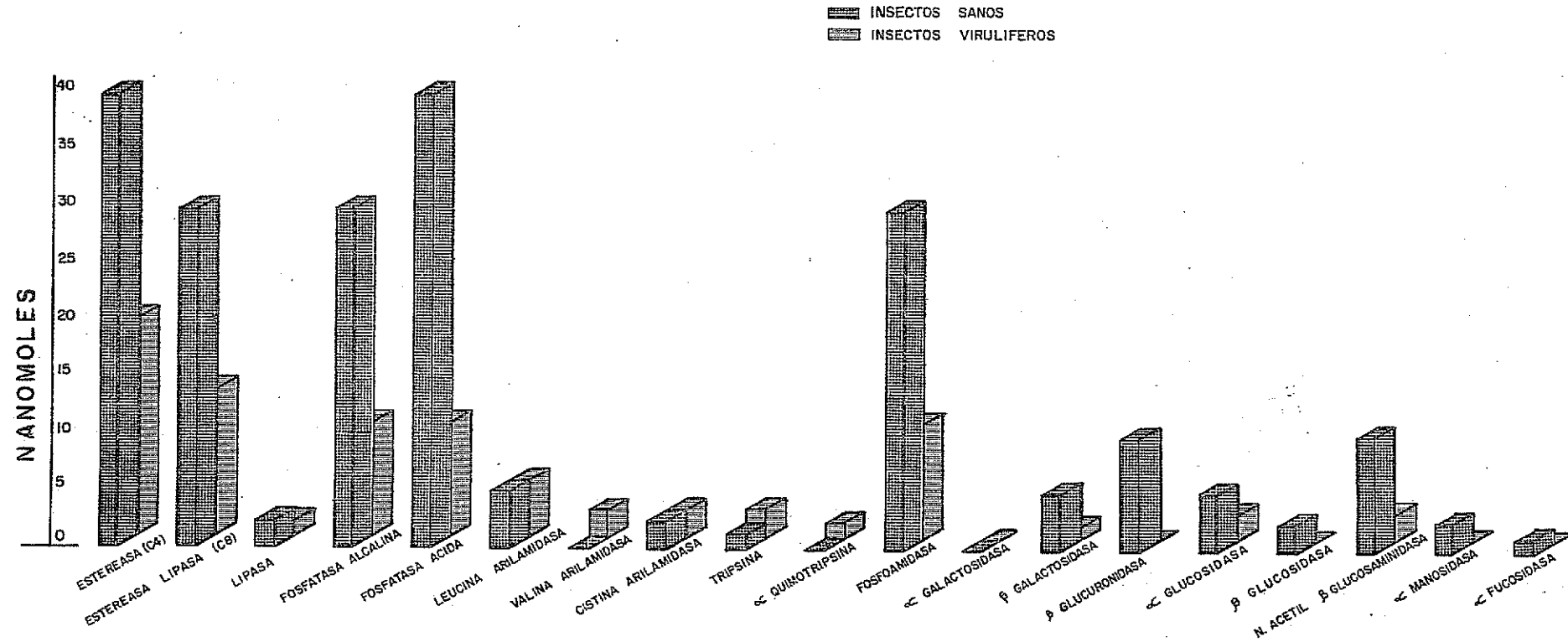
GRAFICA 6

COMPARACION DEL PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE LOS TUBULOS DE MALPIGIO DE ORGANISMOS SANOS Y DE ORGANISMOS INFECTIVOS DE DALBULUS ELIMATUS (BALL)



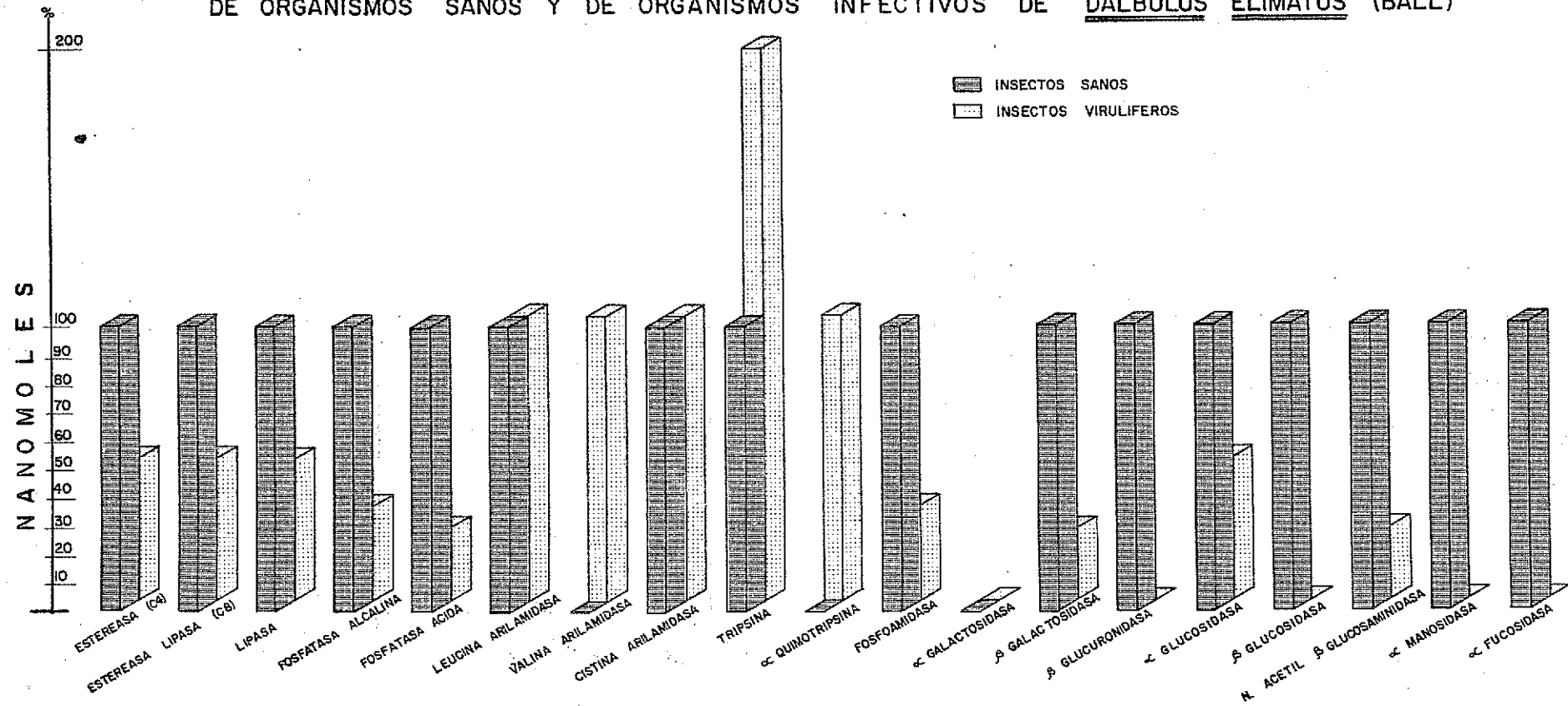
GRAFICA 7

ACTIVIDAD ENZIMATICA DE LOS MICETOMAS DE  
DALBULUS ELIMATUS (BALL)



GRAFICA 8

COMPARACION DEL PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE LOS MICETOMAS  
DE ORGANISMOS SANOS Y DE ORGANISMOS INFECTIVOS DE DALBULUS ELIMATUS (BALL)



La catalogación de la actividad enzimática es de la siguiente manera:

0 - no hay actividad	10 - baja
> 5 - "trazas de actividad"	20 - media
5 - muy baja	30 - alta
	40 - máxima

Por lo que respecta a los organismos virulíferos su actividad enzimática se denominó "actividad enzimática residual", es decir la actividad que se tiene en presencia del virus, pudiendo ésta ser igual, menor o mayor que la del grupo en condiciones sanas.

Como se mencionó en el capítulo de Material y Método, la prueba se efectuó tres veces, 1 con individuos sanos y 2 de individuos virulíferos, de éstos últimos los experimentos se efectuaron en verano para el primer grupo y en otoño para el 2o. grupo.

Como puede apreciarse en las gráficas, la mayor actividad enzimática se detectó en el tubo digestivo (Mesenteron), siguiéndole los túbulos de malpiglio, los micetomas y las glándulas salivales, en orden decreciente.

Para los tres grupos de enzimas probados, el que se vé más afectado en los cuatro órganos estudiados es el de los carbohidratos; el grupo de las proteínas le sigue en porcentaje de afectación y finalmente el grupo de las grasas es el que tiene menos alteración.

A continuación se presenta el análisis de los resultados obtenidos



para cada uno de los cuatro órganos, tanto de insectos sanos como virulíferos.

Cabe aclarar que los 2 porcentajes de actividad residual que se manejan, corresponden a cada uno de los grupos virulíferos estudiados, ya que como éstos provienen de diferentes tiempos, no se hizo un promedio, permitiendo ello ver la existencia de diferentes grados de afectación de cada órgano. Al hacer las comparaciones de la actividad enzimática de los micetomas, aparece solamente un porcentaje de actividad residual, ya que como éstos órganos se ven tan afectados, la prueba en condiciones virulíferas se efectuó 1 sola vez.

Glándulas Salivales. La actividad enzimática de las glándulas salivales es la más baja en comparación con los otros tres órganos.

La enzima que tiene más actividad es la estearasa (C4), con 30 nanomoles (alta); en los grupos virulíferos queda una actividad enzimática residual de 16.7% y 33.3%, por lo que hay una disminución significativa.

La estearasa-lipasa, fosfatasa alcalina, leucina-arilamidasa, fosfatasa ácida y  $\alpha$  glucosidasa, tienen una actividad baja, (10 nanomoles) quedando en los virulíferos una actividad enzimática residual de 0 y 50%; 0 y 50%; 50 y 75%; 25 y 50%; 50 y 25%.

No hay actividad de la  $\alpha$  quimotripsina,  $\alpha$  galactosidasa  $\beta$  glucosidasa, y en los individuos virulíferos se detecta actividad de la valina-arilamidasa, que en los individuos sanos no se presenta.

Las enzimas en general tienen actividad muy baja (5%) o trazas (>5%) y en los infectivos existe una reducción acentuada en algunas enzimas como la lipasa, la fosfoamidasa, la  $\beta$  glucuronidasa, la N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa, y la  $\alpha$  fucosidasa.

Tubo Digestivo. La actividad enzimática ya sea en el grupo de insectos sanos como en el de los virulíferos, está mejor representado en el tubo digestivo (mesenteron).

La máxima actividad tanto para los insectos sanos como para los virulíferos, la encontramos en la leucina arilamidasa y en la  $\alpha$  glucosidasa; así como también en la fosfatasa ácida y la  $\beta$  galactosidasa en los individuos sanos, aunque en los infectivos baja considerablemente la actividad en un 75% a un 87.5%.

Las enzimas digestivas con actividad alta (30 nanomoles) son la estearasa (C4), la cual no se ve muy afectada en los virulíferos; la estearasalipasa (C8), la cistina-arilamidasa y la fosfoamidasa. En los grupos virulíferos la actividad enzimática residual en el mismo orden disminuye, 16.6%; 25%; 50 y 66%; 33 y 66%.

La fosfatasa alcalina y la valina-arilamidasa presentan una actividad media (20 nanomoles).

En los grupos virulíferos la actividad enzimática residual decrece en un 25 y 50% y un 87.5% respectivamente.

El resto (9) de las enzimas tienen muy baja actividad (5%) o trazas las que en los grupos virulíferos también sufrieron disminuciones importantes.

#### Túbulos de Malpigio.

En los túbulos de malpigio la  $\alpha$  glucosidasa es la única que alcanza la máxima actividad y en los individuos virulíferos disminuye considerablemente.

La leucina-amilamidasa y la fosfoamidasa tienen una actividad alta (30 nanomoles) teniendo, los virulíferos una actividad enzimática residual de 100% y 66.6%, 91.6% y 83.3%.

Con una actividad media encontramos a la estearasa (C4) la cual en los grupos virulíferos aumenta un 50% y a la vez en la segunda prueba disminuye un 50%.

Tres enzimas tienen actividad baja: la estearasa-lípasa, la fosfatasa alcalina, y la fosfatasa ácida. En los dos primeros casos hay aumento del 50% y en el tercero hay disminución del 50%.

Hay cinco enzimas con actividad muy baja o trazas; además, existen casos especiales en donde aparece actividad enzimática en los infectivos, como en la lipasa (C4), tripsina,  $\alpha$  galactosidasa, n-acetil  $\beta$ -glucosaminidasa,  $\alpha$  manosidasa y  $\alpha$  fucosidasa. La  $\alpha$  quimotripsina no tiene actividad ni en el grupo sano ni en los virulíferos.

Micetomas

La estearasa (C4) y la fosfatasa ácida tienen la mayor actividad disminuyendo un 50% y un 75% en los virulíferos.

Tienen una actividad alta la estearasa-lipasa, fosfatasa alcalina y fosfoamidasa, las cuales sufren una disminución de 50%, 66.6% y 66.6% en los virulíferos.

La  $\beta$ glucuronidasa y la N acetil  $\beta$  glucosaminidasa tuvieron una actividad baja y en los infectivos sufren una disminución drástica del 100% y 75%.

No se registra actividad de la  $\alpha$  galactosidasa y por el contrario aparece actividad en los infectivos de la valina-amilamidasa y  $\alpha$  quimotripsina.

El resto de las enzimas presentan muy baja actividad o trazas y en los virulíferos se ven disminuciones acentuadas, sobre todo en el grupo que hidroliza carbohidratos.

## V. DISCUSION

Como hemos mencionado anteriormente, a nivel anatómico fué difícil poder distinguir qué alteraciones provocaba el VRFM en Dalbulus elimatus.

Como las alteraciones a nivel histológico se discutirán en relación con las modificaciones fisiológicas, es necesario analizar primero cuales fueron las variaciones sufridas en la actividad enzimática, como un indicador de las funciones vitales de ésta cigarrita, en los organismos sanos y comparándolos con los virulíferos.

Al analizar la actividad enzimática de las glándulas salivales, del mesenteron, de los túbulos de malpigio y del micetoma, corroboramos la función que para cada uno de ellos citamos en los primeros capítulos.

La máxima actividad enzimática la encontramos en el mesenteron, el cual tiene como función básica la digestión y la absorción del alimento.

En el mesenteron de organismos sanos se encuentran las 19 enzimas probadas con una actividad alta.

En los organismos virulíferos esa actividad se vió disminuída en un 46.7%, afectando diferentemente a los grupos de enzimas: 28.3% de disminuci3n en las que actúan sobre lípidos; 42% en las que actúan sobre proteínas; 61.72% en las que actúan sobre carbohidratos.

En los túbulos de malpigio también se detectó la actividad de enzimas

que hidrolizan tanto grasas, como proteínas y carbohidratos, en condiciones sanas se detectaron 12 de las 19 enzimas probadas, pero en los virulíferos se alteran fuertemente en tres sentidos, es decir que en algunas enzimas la actividad disminuye; en otro conjunto de enzimas, la actividad aumenta y en un tercer grupo aparece la actividad que no se detectó en insectos sanos.

- Disminución, que en general es de un 38%.

En las enzimas que actúan sobre:

lípidos	87%
proteínas	48.93%
carbohidratos	43.28%

- Aumento, que en general es alrededor del 43.75%

En las enzimas que actúan sobre:

lípidos	18.75%
carbohidratos	25.0%

- Aparece actividad enzimática de:

Lipasa (C14)

Tripsina

$\alpha$  Galactosidasa

n Acetil  $\beta$  glucosaminidasa

$\alpha$  manosidasa

$\alpha$  fucosidasa

Nota. La actividad enzimática de la  $\alpha$  quimotripsina no se detectó ni en los sanos ni en los virulíferos.

En las glándulas salivales la actividad es baja en general. Se detectan 15 de las 19 enzimas probadas. La estearasa (C4) tiene una actividad alta; la estearasa-lipasa (C8), las dos fosfatas, la leucina-arilamidasa y la  $\alpha$ -glucosidasa, actúan en forma baja y el resto sólo se presenta como trazas.

Las enzimas que no se encuentran son valina-arilamidasa,  $\alpha$  quimotripsina,  $\alpha$  galactosidasa y  $\beta$  glucosidasa.

En las glándulas salivales de organismos virulíferos las alteraciones son en tres sentidos, al igual que los túbulos de malpigio:

- Disminución general de un 52.5%. En enzimas que actúan sobre:

lípidos	47.5%
proteínas	34.4%
carbohidratos	68.8%

- Aumento, sólo se dió en la cistina-arilamidasa en un 50%, lo que dá un 5% de aumento en la actividad del grupo de las proteínas.

- Aparece actividad de la valina-arilamidasa.

Los micetomas actúan también en la digestión de nutrientes, se encuentran 16 de las 19 enzimas probadas en condiciones sanas.

Su actividad se debe restringir a los nutrientes que circulan en la hemolinfa.

Las enzimas que no se presentan son, la valina-arilamidasa,  $\alpha$  quimotripsina y  $\alpha$  galactosidasa.

Las enzimas que tienen la mayor actividad son las que actúan sobre las grasas, siguiendo las que actúan sobre carbohidratos que tienen una actividad baja y las de las proteínas, que las tienen muy bajas o en trazas.

En el caso de los micetomas de organismos virulíferos, ellos se ven fuertemente afectados. En las disecciones sólo se logró obtener material para una prueba, ya que o faltaba uno de los micetomas o no se encontraban, o eran de tamaño muy reducido.

La alteración es como en los casos anteriores en tres sentidos:

- Disminución general de 59.9%

Enzimas que actúan sobre:

lípidos	58.3%
proteínas	16.65%
Carbohidratos	85.71%

- Aumento. Hay un aumento del 25% en la actividad de las enzimas que actúan sobre proteínas.

- Aparece actividad de la valina-arilamidasa y la  $\alpha$  quimotripsina.

Como puede verse, en los cuatro órganos estudiados hay alteraciones cuando los organismos probados están en condiciones virulíferos.



ORGANO	DISMINUCION	AUMENTO	APARICION
Micetomas	59.88%	25%	2
Gld. Salival	52.49%	5%	1
Mesenteron	46.70%	X-	X-
T. Malpigio	38.00%	43.75%	6

La disminución de la actividad enzimática se detectó en todos ellos, y vá de un 38% en los túbulos de malpigio a un 60% en micetomas.

El aumento en la actividad, sólo se detectó en tres de los órganos, y vá de un 5% en las glándulas salivales a un 44% en túbulos de malpigio.

La aparición de la actividad de enzimas que no actúan en condiciones sanas, se detectó en tres órganos siendo un caso para glándulas salivales, dos en micetomas y seis en túbulos de malpigio.

De ello podríamos deducir que los túbulos de malpigio actúan como reguladores de la actividad enzimática que se vé disminuida fuertemente en las glándulas salivales y mesenteron; ya que su disminución es la menor y en cambio hay un aumento de 44% en la actividad de las enzimas que actúan sobre carbohidratos y hay aparición de la actividad de otras 6 enzimas que actúan sobre los tres grupos de nutrientes.

El caso de los micetomas es también notable ya que las enzimas tienen un 60% de disminución en su actividad por lo que postulamos, debe de haber una competencia entre el virus y los microorganismos que conforman el

micetoma, de tal manera que se inhibe su acción en la digestión de nutrientes a nivel de la hemolinfa.

Por lo que a mesenteron respecta, se altera por una fuerte disminución (46.70%), en la actividad enzimática y no se vé la capacidad propia de compensar esa deficiencia como se detectó en el caso de los túbulos de malpigio.

Las glándulas salivales también sufren una fuerte disminución (52.49%) en su actividad, aunque en ellas se vé la aparición de la acción de la valina-arilamidasa y además un aumento en la actividad de la cistina-arilamidasa.

A este nivel podemos asegurar que la cigarrita no tiene la capacidad de alimentarse del maíz ni de otras plantas, como cita Uransky (1964), para Dalbulus maidis De L. & W. y Macrosteles fascifrons (Stal), en relación con la enfermedad del micoplasma del "aster yellow".

Claramente se vé que las funciones digestivas sufren una disminución considerable y por lo tanto la longevidad y el grado de reproducción, así como otras funciones se verán grandemente afectadas.

Las enzimas que se ven más fuertemente afectadas son: la  $\beta$  glucosidasa, que disminuye drásticamente su actividad y sólo en las glándulas salivales en uno de los dos grupos infectivos, hay una actividad enzimática residual del 50%, y en tubo digestivo en uno de los grupos infectivos en donde es del 25% siendo del 0% en el resto.

Las enzimas que hidrolizan carbohidratos son las que se ven más afectadas, ya que sufren una disminución que vá del 43% en túbulos de malpígio, al 86% en micetomas.

El grupo de enzimas que hidrolizan lípidos que disminuyen de un 22% en los túbulos de malpígio a un 58% en los micetomas.

Finalmente en el grupo que actúa sobre las proteínas, los porcentajes de disminución van de un 77% en micetomas a un 48% en túbulos de malpígio.

Por otra parte, en los cuatro órganos la tripsina no disminuye, se mantiene en glándulas salivales y tubo digestivo, aparece en túbulos de malpígio y sobre un 100% de su actividad en los micetomas.

Al respecto de los estudios histopatológicos en Cicadélidos, Whitcomb (1968) cita que "el oscurecimiento o hipercromicidad es la primera etapa de una patología definitiva en los acinis de las glándulas salivales de Colladonus montanus (Van Duzee) infectadas con el agente de la enfermedad del "Western X" y que dicho oscurecimiento irá aumentando gradualmente. Eventualmente las células serosas de las glándulas, estarán completamente llenas de un material cromático o inclusive aparecerán separadas del conducto.

Además dice, "por otra parte cuando la célula se ha desintegrado, el grado de desorganización sugiere que hubo divisiones "sin sentido" del núcleo y de la célula, previas a la desintegración".

Los cambios patológicos en las células serosas (lóbulo posterior) fueron generalmente acompañados por alteraciones en los otros tipos de células de las glándulas salivales. Dichas alteraciones fueron difíciles de estudiar ya que la edad avanzada y/o ayuno (inanición) en los insectos puede influir en la contracción, inflamación y acumulación de material en la célula, así como en la inflamación nuclear. Sin embargo un estado avanzado de dichos síntomas aunado a la hipercromicidad, fueron considerados como patológicos.

Por otra parte Littau y Maramorosch (1956) reportaron que los individuos virulíferos de Macrosteles fascifrons (Stal) con microplasma del "aster-yellow", podrían ser diferenciados de los individuos sanos por el aspecto de su cuerpo graso y Whitcomb (1968) refuta el hecho discutiendo que ellos no consideran los cambios que sufre con la edad el cuerpo graso.

Escobedo (1984) encuentra una reducción en la longevidad y productividad de Dalbulus elimatus (Ball) en condiciones infectivas.

Nosotros encontramos que existen alteraciones patológicas, histológicas y enzimáticas severas en Dalbulus elimatus (Ball) en condiciones infectivas con el VRFM.

Mediante el estudio de la actividad enzimática en condiciones sanas, pudimos verificar la función del aparato digestivo y excretor; y por otra parte el estudio en condiciones virulíferas nos permitió entender de una forma más certera los fenómenos que se suscitan en Dalbulus elimatus (Ball) y de algunas de las dudas que presentan los diferentes autores en sus

trabajos sobre la interacción agente infeccioso-vector.

En los micetomas encontramos un decremento en la actividad enzimática del 60% lo cual se vé reflejado por un fuerte daño que se aprecia tanto a nivel anatómico, histológico y citológico. Pensamos que en el caso de éste órgano la alteración se debe a una competencia entre ambos microorganismos, ya que en los cortes histológicos, puede verse que las células que contienen a los "micetocitos", se van vaciando gradualmente según el grado del daño y en algunos casos se ven libres de los microorganismos en su totalidad.

El papel de los micetomas en el proceso digestivo es muy importante como lo han postulado algunos autores, sin haber corroborado esto, por lo que es la primera vez que, mediante este estudio, se ha podido comprobar. El hecho de que se afecte en un 60% su actividad, representa un factor limitante en el proceso digestivo y nutricional de la cigarrita y en el metabolismo en general, y por lo tanto en cualquier aspecto de su vida.

En las glándulas salivales la disminución de la actividad enzimática fué del 53% y a nivel histológico encontramos daños patológicos con un diferente grado de avance, que en promedio está representando esa baja en la actividad, encontrándose una convergencia morfofisiológica comprobada.

Es importante mencionar que en los acinis observamos daños iniciales que pueden ser reversibles y daños muy avanzados que son irreversibles, como el estallamiento nuclear o el colapso celular.

Este órgano se ha citado como el reservorio del virus o de otros

agentes infecciosos y tiene una importancia definitiva en la transmisión del virus, nosotros pensamos que el daño celular en las glándulas salivales se debe por una parte a la acumulación y actividad de las partículas virales y por otra parte a su intervención en el metabolismo de las células y/o a su modificación citológica lo cual provoca una disfunción celular que al principio puede ser tolerada por el organismo, pero llega el momento en el que se pierde el control y por lo tanto el funcionamiento del órgano.

En el caso del mesenteron detectamos un 47% de disminución en la actividad enzimática y detectamos un fuerte daño patológico a nivel histológico que nosotros consideramos de dos maneras: la presente y la potencial; presente porque las células secretoras, que son de tipo holócrino, del intestino medio, han perdido su forma, tamaño y posición, además de su sincronía; hay la presencia de grandes vacuolas, cuyo número varía y que nos indican un proceso degenerativo ya que también aumentan los lisosomas que se van a encargar de la destrucción celular. El daño potencial sería debido a que las células de las criptas de regeneración, que son las que van sustituyendo a las células secretoras, se ven también fuertemente afectadas y entonces las células holócrinas que van muriendo y no vuelven a ser repuestas, harán que en un tiempo determinado el mesenteron no tenga ninguna capacidad de digestión ni de absorción.

El proceso de digestión a nivel del mesenteron entonces decrecerá paulatinamente, hasta llegar a la disfunción casi total del órgano.

En las cigarritas virulíferas la luz del intestino medio se ve prácticamente vacía del "bolo alimenticio" así como de las secreciones

digestivas y el volumen en general está muy reducido, obvia decir el cambio en afinidad tinctórica, no sólo en este órgano sino en todos los órganos.

Por lo que respecta a los túbulos de malpigio, la actividad enzimática además de decrecer en un 38%, se detectó un aumento en la actividad de otras enzimas de un 44%, además de la aparición de la actividad de 4 enzimas, que en condiciones sanas no se presentaban. Ello se debe a que estos órganos tienen la capacidad de tratar de regular las deficiencias digestivas que en este caso se suceden en el organismo y son causadas por las alteraciones que directa o indirectamente se están dando con la presencia del virus en la cigarrita, histológicamente la zona secretora de los túbulos de malpigio de los organismos virulíferos, se presentó con una gran cantidad de gránulos citoplásmicos, de tal manera que las células estaban deformes por el acúmulo de material en el citoplasma. Esas condiciones celulares nos indican un alto grado de actividad que coincide con los resultados que obtuvimos en el estudio de las enzimas digestivas presentes en los túbulos.

Por lo tanto resumiendo, las alteraciones provocadas por el VRFM en Dalbulus elimatus a nivel histológico, se observa que hay una gradación en el trastorno degenerativo celular, en la que podemos detectar cambios citoplásmicos como son la inflamación, la hipercromicidad, la vacuolización y la aparición de numerosas inclusiones que tienen de forma más intensa (organelos, inclusiones virales, acumulación de material citoplásmico).

El núcleo puede sufrir cambios en su posición, hipertrofia,

hipercromicidad, pérdida de la cromatina e inclusive estallamiento.

La célula en general puede sufrir un estallamiento debido al exceso de material interno o cambios en la isotonía, o por el contrario, sufrir un colapso debido a la salida o degradación del material celular que ya no se repone.

Por comparación con el criterio patológico humano, podemos decir que en D. elimatus encontramos daños iniciales en los cuales todavía puede haber la capacidad de regulación de la actividad metabólica y que son daños reversibles; y por otra parte, existen también daños avanzados en los cuales la célula se encuentra en una fase degenerativa como la vacuolización, el colapso, o el estallamiento nuclear o celular, en los cuales los daños son irreversibles.

El hecho de encontrar toda esa gradación, pensamos que se debe a que los individuos de la población vectora no tienen la misma capacidad de adquisición del virus, y por otra parte las poblaciones que se tomaron para efectuar nuestras investigaciones, fueron totalmente al azar, sin considerar edad, sexo, ni cantidad de virus adquiridos. La razón de este muestreo fué conocer el estado de una población virulífera de D. elimatus con el VRFM, en condiciones lo más natural posible para después entrar en detalles más finos, ya que no existían estudios previos.

Con lo que conocemos hasta el momento de la interacción entre el virus "Rayado Fino del Maíz" y Dalbulus elimatus, presento las siguientes consideraciones.



En nuestra investigación no llegamos a detectar órganos sanos que presentaran la apariencia de los órganos de insectos infectivos, como lo cita Whitcomb (1968), sin embargo pensamos que la respuesta al problema de las alteraciones celulares que él menciona como dependientes de la edad y la inanición, está a nivel metabólico, existiendo una variación individual.

Como ya se ha mencionado existe una reducción en la longevidad y la fertilidad de Dalbulus elimatus en condiciones infectivas (Escobedo, 1984). En opinión de Rodríguez Montessoro (Comunicación personal), los individuos infectivos con el VRFM se hacen "viejos" prematuramente, lo cual se ve reflejado en los dos factores antes mencionados.

En D. elimatus con VRFM detectamos diversos factores patológicos que están relacionados con alteraciones metabólicas muy importantes en la cigarrita. Pensamos que en algunos casos es directamente el virus el que provoca la alteración o daño, sea por su entrada, control del metabolismo nuclear, y por lo tanto de la actividad celular, o por su extrema multiplicación que puede influir en la explosión nuclear.

Por ejemplo, por lo que respecta a la hipercromicidad, el virus al entrar a la célula afecta o puede afectar la permeabilidad de la membrana y ya dentro el virus provoca una desorganización celular por la cual no existe control sobre la regulación de la entrada del colorante, modificándose la afinidad tincórica de los diferentes materiales celulares.

La alteración progresiva que se vá dando en el proceso digestivo

que en un principio trata de autorregularse, vá aumentando y llega el momento en el que los daños celulares son irreversibles, es decir, que la célula está en una fase de agonía o desintegración. Dichas células no podrán ser substituídas y/o reintegradas ya sea por que faltan las células de regeneración o porque no poseen las condiciones metabólicas adecuadas.

Esa incapacidad de digerir y posiblemente absorber los nutrientes, determinan que el organismo haga uso de sus reservas, principalmente a nivel del cuerpo graso, el cual en condiciones sanas tendría cambios paulatinos debido al uso que el insecto vá haciendo de él en las diferentes etapas de su vida; pero, que en los insectos infectivos es utilizado de una manera exhaustiva en un lapso de tiempo relativamente corto, de ahí que en dichos organismos el cuerpo graso pueda tener una apariencia semejante a la que presentan los insectos sanos pero "viejos" (longevos).

Conforme las reservas van siendo agotadas, el individuo vá perdiendo vitalidad, y a su vez los cambios patológicos degenerativos también se van dando de una manera más profusa, con lo cual el proceso digestivo cada vez vá a ser más deficiente, lo que traerá como resultado un estado de inanición en la cigarrita, esto explicaría las preguntas que le surgen al Dr. Whitcomb en el sentido de daños celulares que no pueden adjudicársele de una forma certera al virus, por lo cual consideramos que es una alteración profunda la que el virus causa en Diabulus elimatus, pero de una manera indirecta.

Este proceso de autoregulación, consumo de reservas, inanición y por otra parte el virus multiplicándose de una manera activa y actuando en

las células de la cigarrita, trae como consecuencia que el metabolismo se altere, lo cual resultaría en un acortamiento de la longevidad e influye de alguna manera en la fertilidad del individuo.

Por otra parte, se ha demostrado que no hay transmisión transovarica, sin embargo el virus como ya se mencionó, si afecta la fertilidad o productividad de la cigarrita, pero pensamos que tal fenómeno se debe al estado de desnutrición en que se encuentra el cicadélido.

Para otros animales y para el hombre se sabe que la calidad y cantidad de nutrientes vá a influir en la fertilidad del individuo y aún cuando logre procrear, el crío será de un tamaño pequeño e inclusive podrá presentar cardiopatías o malformaciones u otras anomalías orgánicas (Galindo, M.E., comunicación personal).

Por ello es que de una manera indirecta el estado de inanición provocado por el virus influye en el decremento de la fertilidad.

Desde nuestro punto de vista deben existir factores inhibidores del desarrollo del virus en el embrión, ya que parecería fácil que el virus penetrara al ovocito tal como lo hace en todas las células del organismo prácticamente, sin embargo no es así, el huevecillo está aparentemente libre de virus y por otra parte el primero y segundo estadios ninfales y a veces el tercero, son "incapaces" de adquirir el virus, pueden existir desde factores de tipo químico como cambios de pH o inhibidores proteicos específicos o una diferencia en la secreción de las hormonas que controlan el desarrollo embrionario, o están presentes en los primeros estadios

ninfales, pudiendo suceder lo mismo que acontece con las células de los meristemos en las plantas, en donde por su totipotencialidad y no determinación el virus es incapaz de desarrollarse.

Finalmente podemos decir que el estudio histopatológico de Diabulus elimatus (Ball) coincide en algunos aspectos con los estudios histopatológicos realizados por Whitcomb en Colladonus montanus (Van Duzee) con el micoplasma del "Western X".

El estudio morfofisiológico abundado con el conocimiento de la actividad enzimática, nos ha dado mucha luz acerca de la interacción íntima entre el virus "Rayado fino del maíz" y su vector.

El estudio comparativo de la bioquímica de los insectos está en sus inicios, pero el campo está ganando ímpetu, no sólo por su interés inherente, sino por la contribución potencial de tales estudios al desarrollo de controles nuevos y específicos sobre el crecimiento de las poblaciones de insectos.

## VI. CONCLUSIONES

En México a los cultivos agrícolas en general les faltan estudios básicos de todos tipos, lo que ha impedido su rendimiento óptimo; se hace un especial énfasis en el aumento de la superficie de siembra, y en la aplicación de insecticidas en contra de las plagas que los afectan. De igual manera, se señala la importancia de su conservación y preservación, dejando a un lado estudios como el presente, en el cual los resultados indican claramente que el conocimiento de los vectores de las enfermedades a cultivos tan importantes como el maíz pueden ser incorporados a los programas de producción de alimentos. Tales programas representan un desafío y jugarán un papel muy importante en el mundo hambriento de hoy, en la protección de cultivos contra las enfermedades.

Esta es una Investigación multidisciplinaria que implica conocimientos diversos que hemos tratado de integrar en este estudio, ya que la infección de un cultivo por virus es un proceso dinámico que puede ser interrumpido si los conocimientos adecuados están disponibles y se hacen esfuerzos en una misma dirección. El balance puede ser tipificado en favor de la planta hospedera y por ello en un aumento en la disponibilidad de nutrimentos para el hombre; ello implica la colaboración de agrónomos, entomólogos, virólogos, fitopatólogos, patólogos, bioquímicos, etc.

Este es el primer trabajo integral que se realiza sobre las cigarritas en general y sobre un vector en particular, habiéndose hecho estudios de tipo anatómico, histológico fisiológico y bioquímico, en el que destaca el primer registro sobre enzimas digestivas, de los tres grupos básicos,

en diferentes órganos de Cicadellidae, glándulas salivales, mesenteron, túbulos de malpigio y micetomas. Con ello se demostró que el virus "Rayado fino del maíz" (VRFM), altera y afecta a Dalbulus elimatus (Ball), independientemente de la enfermedad que provoca en la planta del maíz, y que dicho daño no sólo afecta al órgano morfológicamente sino también fisiológicamente, lo cual puede afirmarse gracias al estudio enzimático que es un buen indicativo ya que las enzimas son catalizadores de procesos bioquímicos esenciales para la vida; el daño causado provoca baja en la nutrición y por lo tanto en la longevidad y fertilidad de esta plaga.

VII. LITERATURA CITADA.

- ADAMS, J.B. & J. W. MC ALLAN. 1958. Pectinasa in certain insects. Can J. Zool. 36: 305-308.
- AGRIOS, N.G. 1978. Plant Pathology. Academic Press, New York. San Francisco and London: 703. p.
- ARNOLD, G. & DELEGE-DARCHEN, B. 1978. Nouvelles données sur l'équipement enzymatique des glandes salivaires de l'ouvrière d'Apis mellifica (Hyménoptère-Apidé). Annales des Sciences Naturelles, Zoologie, Paris. 12 série, Vol. pp. 401-422.
- BLACK, L.M. 1950. A plant virus that multiplies in its insect vector. Nature (London) 166: 852-853.
- BAWDEN, F.C. 1950. Plant viruses and viruses diseases. Ed. 3, 335 pp. Waltham, mass.
- CHAPMAN, R.F. 1971. The insects structure and function. The English Universities Press Ltd. 2a. Ed: 819 (38-82).
- CHIYKOWSKI, L.N. 1981. Epidemiology of Diseases caused by leafhoppers Borne Pathogens. Plant Diseases and vectors. Ac. Press Inc. 105-159.
- CONCONI, J.R.E. 1982. Los insectos como fuente de proteínas en el futuro. Limusa. 144 p.

- DE LEON, C. 1974. Enfermedades del maíz. Guía para su identificación en el campo. Folleto de información No. 11 CIMMYT.
- DE LONG, D.M. 1950. The genera Balbulus and Dalbulus in North America including México (Hom-Cicadellidae) en Bull-Brooklyn Ent. Soc. 45: 105-116.
- DOBROSKKI, I.D. 1929. Is the aster yellows virus detectable en ist insect vector. Phytopathology 19:1009-1015.
- ESCOBEDO, B.L. 1984. Tablas de Vida y Fertilidad de Poblaciones de Dalbulus maidis De Long y Wolcott y Dalbulus elimatus Ball (Homoptera: Cicadellidae) Transmisoras y no Transmisoras del Virus del Rayado Fino del Maíz. Tesis. 57 p.
- FUKUSHI, T. 1935. Multiplication of virus in its insect vector. Imp. Acad. Japan. Proc. 11: 301-303.
- FUKUSHI, T. 1940. Further studies on the dwarf disease of rice plant. Hokkaido Univ. Facult. Agr. Jour. 45: 83-154.
- GAMEZ, R.E. 1977. Distribuição geográfica do virus da Risca (Rayado fino) do milho no Continente Americano. Fitopatologia Brasileira 2:
- GAMEZ, R.E. W. Kitajima & M.T. Lin 1979. The geographical distribution of maize rayado fino virus. Plant. Dis. Rep. 63: 830-833.
- GIL, F.C., and L.M. BLACK. 1965. Some Aspects of the Internal Anatomy of



the Leafhopper Agallia constricta (Homoptera:Cicadellidae) Annals of the Entomological Society of América Vol. 58. No. 3: 275-284 p.

GILMOUR, D. 1961. The Biochemistry of Insects. Academic Press N.Y.:343.

GRANADOS & MEEHAM. 1975. Pathogenicity of the corn stunt agent to an insect vector Dalbulus elimatus J. Invert. Path. 26: 313-320.

HAM, W.A. y LEESON, S.T. 1963. Tratado de Histología. Edit. Interamericana, S.A. 916 p.

HARLAN, J.R. 1976. Las plantas y los animales que alimentan al hombre. Investigación y Ciencia. Ed. Sci. Am.: 64-75.

HARRIS, K.F., 1979. Leafhoppers and aphids as biological vectors:vector-virus relations hips. In "Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents" (K. Maramorosch and K.F. Harris, eds). Academic Press, New York and Longon, 217-308 p.

HARRIS, K.F. and Maramorosch, K., 1980, Vectors of Plant Pathogens. Academic Press, New York. London, Toronto, Sidney and San Francisco. 467 p.

HERFORD, G.V.B., 1935. Ann. Appl. Biol. Tracheal pulsation, flea. 327-338.

LINNAVUORI, R. 1959. Revision of the neotropical Deltocephalinae and some related subfamilies (Homoptera) en Ann. Zool. Soc. "Vanamo" 20:1.

- LITTAU, V.C., and MARAMOROSCH, K. 1956. Cytological effects of aster-yellows virus on its insect vector. Virology, 2, 128-130.
- LOOMIS, R.S. 1976. Sistemas de Agricultura. Investigación y Ciencia. Ed. Sci. Am.: 76-84.
- MANGELSDORF. 1951. Los alimentos, cuestiones de bromatología. Selecciones de Sci. Am. H. Blume. Madrid: 134-154.
- MARAMOROSCH, K. 1952. Direct evidence for the multiplication of aster-yellows virus in its insect vector. Phytopathology 42: 59-64.
- MARAMOROSCH, K., and HARRIS, K.F., eds. 1979. "Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents". Academic Press, New York and London. 654 p.
- 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. Ent. Soc. Am. 73. No. 4 349-353.
- NIELSON, M.W. 1982. A synonymical list of leafhopper vectors of plant viruses. (Homoptera-Cicadellidae). U.S. Agr. Reserv. Serv. ARS-33-74, 12 p.
- NIELSON, M.W. 1968. The leafhopper vectors of phytopathogenic viruses (Homoptera-Cicadellidae) Taxonomy, Biology, and virus transmission. Tech. Bull. No. 1382. USDA. 386 p.

- NUORTEVA, P. (1954). On the significance of proteases and amylases in the life of Empoasca flavescens (F) Hom. Typhlocybinæ) in Ann. Entomol. Fennici 20: 76.
- OMAN, P.W. 1949. The nearctic leafhopper (Homoptera Cicadellidae) a generic classification and check list. Wash. Ent. Soc. Mem 3, 253 p.
- ORENSKI, S.W. & K. MERAMOROSCH. 1962. The uptake of  $C^{14}$  and  $P^{32}$  from labeled leaves by two species of leaf hopper vectors. Phytopathology 52: 1, 220.
- ORENSKI. 1964. Effects of a plant virus on survival, food acceptability and digestive enzymes of corn leafhoppers. in Ann. N.Y. Acad Sci. 118. 374-383.
- OSSIANELSSON F. 1938. Revision Von Zetterstedts lapplandischen Homopteres. I. Cicadena. Opusc. Ent. 3: 65-79.
- PEREZ, T.R. 1965. Principios de Patología. La Prensa Médica Mexicana 2a. Ed. 915 p.
- POLL, M., 1935. Rec. Inst. Zool. Torley-Rouss. Malpighian tubes, mealworm. 73-126 p.
- RAMIREZ, J.A. y P.A. CHAVEZ. 1973. Aspectos Socioeconómicos de los Alimentos y Alimentación en México. Revista Comercio Exterior del Banco de Comercio Exterior. 675-690 p.

- ROEDER, K.D. 1953. Insect Physiology. John Wiley & Sons. New York: 1100.
- SANCHEZ, S.O. 1976. La flora del Valle de México. Ed. Herrero S.A. México 520.
- SAXENA, K.N. 1954. Feeding habits and physiology of digestion of certain leafhoppers. Homoptera Jassidae. In Experientia 10, 3. 384-4.
- SHURTLEFF, M.C. 1980. Compendium of corn Diseases. The American Phytopathological Society. Minesota. 2a. ed. 105 pp.
- STONER, W.N. 1958. Field symptoms indicate occurrence of "alfalfa dwarf" or "Pierce's disease virus" of Rhode Island. U.S. Agr. Res. Serv. Plant Dis. Rptr. 42: 573-580.
- STOREY, H.H. 1932. The inheritance by a leafhopper of the ability to transmit a plant virus. Nature (London) 127: 928.
- STOREY, H.H. 1933. Investigations of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors. Roy. Soc. London, Proc., Ser. B. 113, 463-485.
- VAZQUEZ, G.L. 1980. Arthropoda Parte II. Mandibulata. UNAM. 680 p.
- TOTH, L., 1952. The role of nitrogen active micro-organisms in the nitrogen metabolism of insects. Tijdschr. Ent. 95: 43-62.

WHITCOMB, R.F. et al 1967. The infection of leafhoppers by Western X-disease virus III Salivary, neural and adipose histopatology. Virology 31: 539-549.

WHITCOMB, R.F., D.D. JENSEN, and J. RICHARDSON. 1968b. The infection of leaf-hoppers by Western X-disease virus. VI. Cytopathological interrelation-ships. J. Invertebr. Path. 202-221.

WHITCOMB, R.F. & D.R. WILLIAMSON 1975. Helical wallfree prokariotes in insects: multiplication and pathogenecity. Ann. N.Y. Acad. Sci. 266: 260-275.

WIGGLESWORTH V.B. 1939. The principles of insect physiology. London. Chapman & Hall 827 pp.

VIII. APENDICE.

Fig. 2. Aparato bucal picador chupador corte transversal.

Fig. 3. Proyección isométrica de la partes bucales (redibujado de Vázquez, 1980).

Figs. 4 y 5. Genitalia de la hembra y del macho de D. elimatus (redibujado de De Long, 1950).

Fig. 6. Ejemplos de cámaras filtrantes de homópteros.

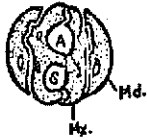


fig. 2

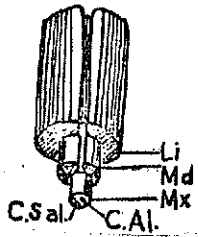


fig. 3

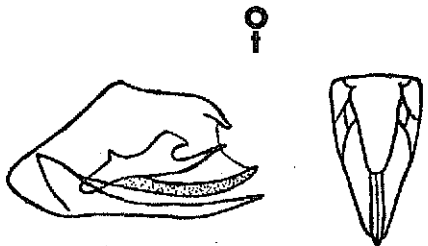


fig. 4

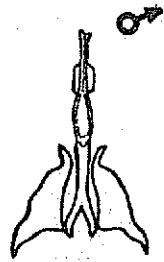


fig. 5

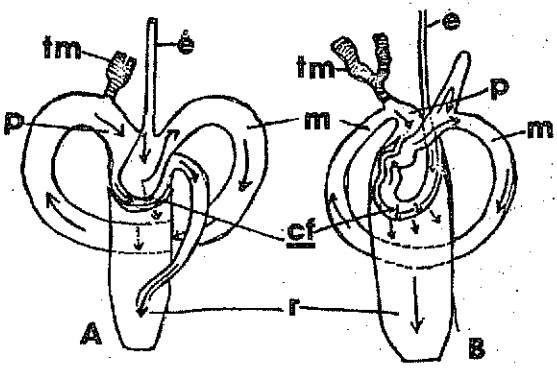


fig. 6



Figuras 7, 8 y 9. Diagramas de la anatomía interna de Dalbulus elimatus (Ball).

Fig. 7. m - músculo; cg - cuerpo graso.

Fig. 8. gs - glándula salival; tm - túbulos de malpigio.

Fig. 8a. lp - lóbulo principal; lm - lóbulo medio; li - lóbulo inferior.

Fig. 8b. rp - región proximal; rm - región media; rd - región distal.

Fig. 9. e - esófago; cf - cámara filtrante; me - mesenteron; p - proctodeo;

s - septo.

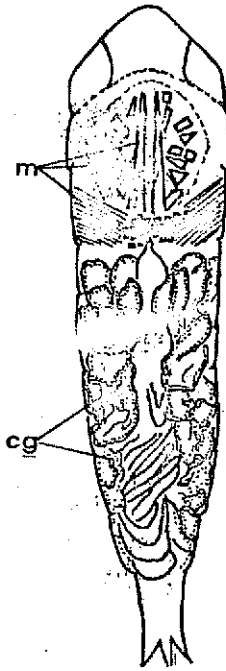


fig. 7

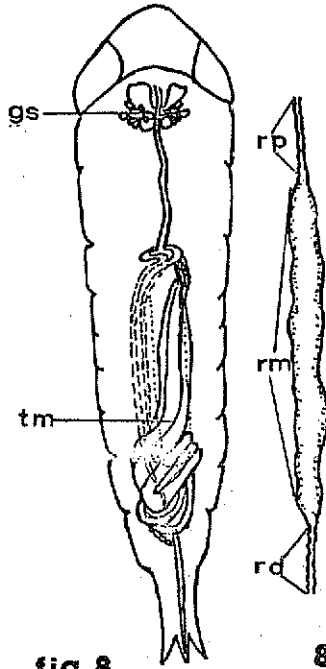


fig. 8

8b

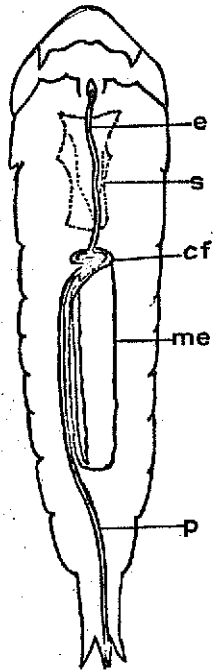
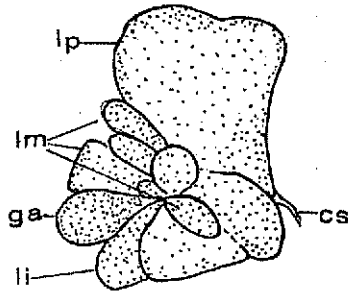


fig. 9



8a

Figuras 10, 11 y 12. Diagramas de la anatomía interna de Daibulus elimatus (Ball).

Fig. 10 ce - cerebro; ap - anillo periesofágico; gse - ganglio subesofágico; gta - ganglio torácico y abdominal; mi - micetomas.

Fig. 11. Aparato reproductor masculino. t - testículos; vs - vesícula seminal; ga - glándula accesoria; cey - canal eyaculador; f - folículos.

Fig. 12. Aparato reproductor femenino. o - ovarios; op - oviducto principal; ol - oviducto lateral; es - espermateca; ga - glándula accesoria.

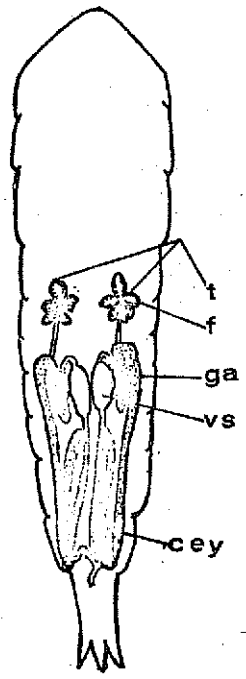


fig. 11

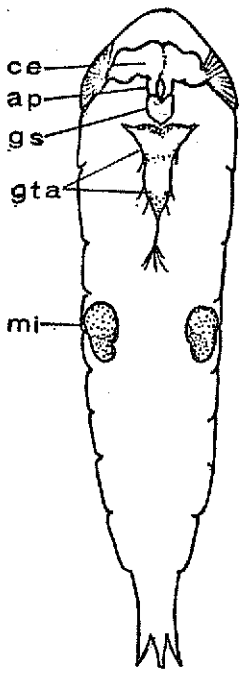


fig. 10

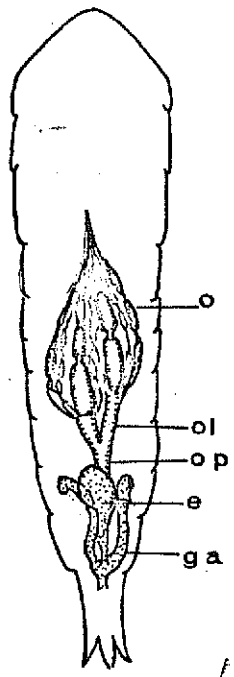


fig. 12

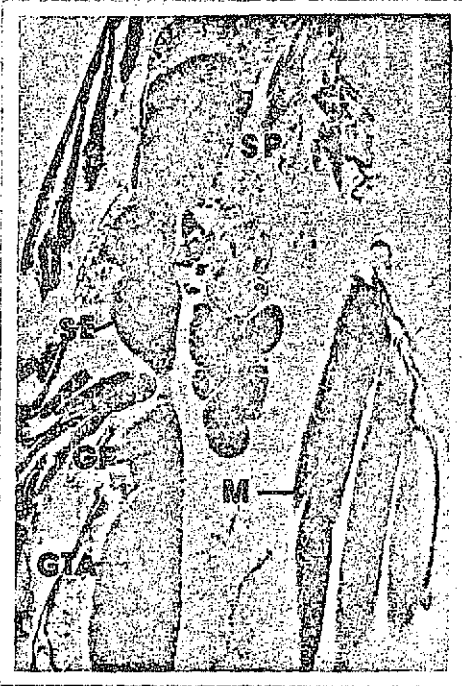
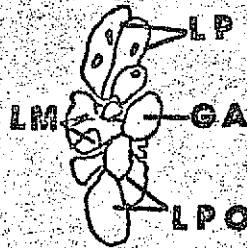


Foto 1. Vista panorámica de las glándulas salivales en condiciones sanas.

GP-ganglio protorácico; GTA-ganglio mesotorácico, metatorácico y abdominal; M-músculo; SP-ganglio supraesofágico; SE-ganglio subesofágico.

Recuadro de las glándulas salivales.  
 GA-glándula accesoria; LM-lóbulo medio;  
 LP-lóbulo principal; LPO-lóbulo posterior.



178



Foto 2. Acercamiento de las células del lóbulo principal.

C-citoplasma; N-núcleo. (100X).

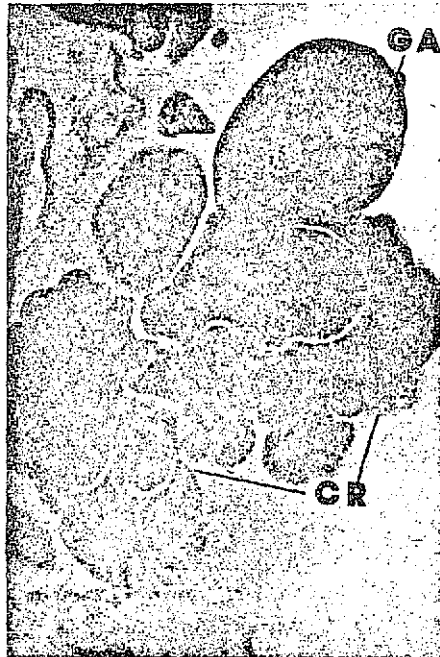


Foto 3. Vista sagital de la glándula accesoria (GA) y células en "roseta" (CR). (40X).



Foto 4. Células internas del lóbulo posterior, dispuestas en "roseta". (40X).



Foto 5. Aspecto de las células más internas de la formación en "roseta". (100X).

130



Foto 6. Vista panorámica de las glándulas salivales en condiciones virulíferas.

GSE-ganglio supraesofágico; M-músculo; O-ojo compuesto.

Recuadro de las glándulas salivales.

GA-glándula accesoria; LM-lóbulo medio; LP-lóbulo principal; LPO-lóbulo posterior.





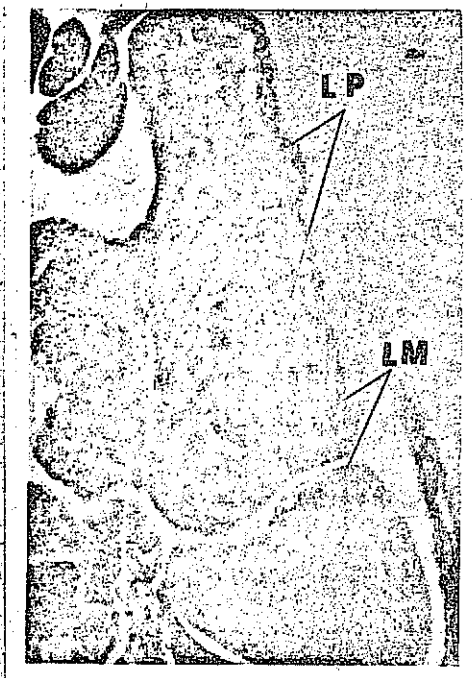


Foto 7. Acercamiento de los lóbulos principal (LP) y medio (LM). Condiciones virulíferas. (40X).

Foto 8. Acercamiento del lóbulo medio: Células superiores (CS), células medias (CM) células inferiores, (CI). Condiciones virulíferas. (40X).

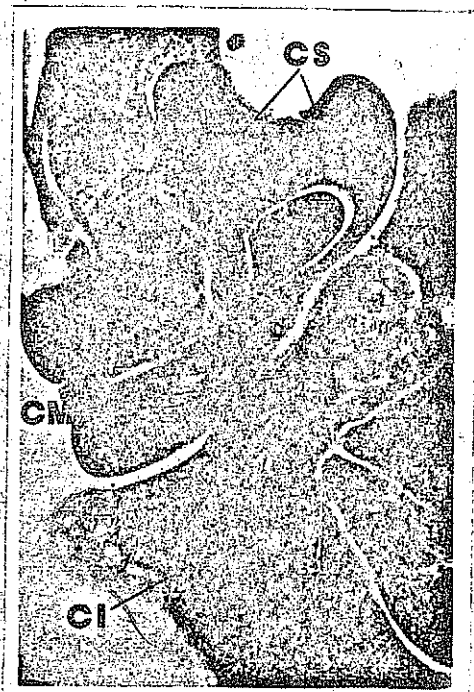
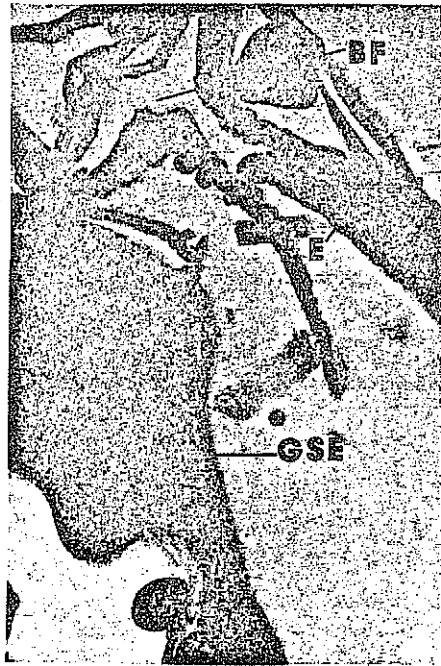




Foto 9. Acercamiento de la desembocadura de las células del lóbulo posterior en condiciones virulíferas. (100X).

Foto 10. Vista lateral de la bomba faríngea (BF). (40X). E-esófago; GSE-ganglio subesofágico.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
VALIA DE ORIGEN

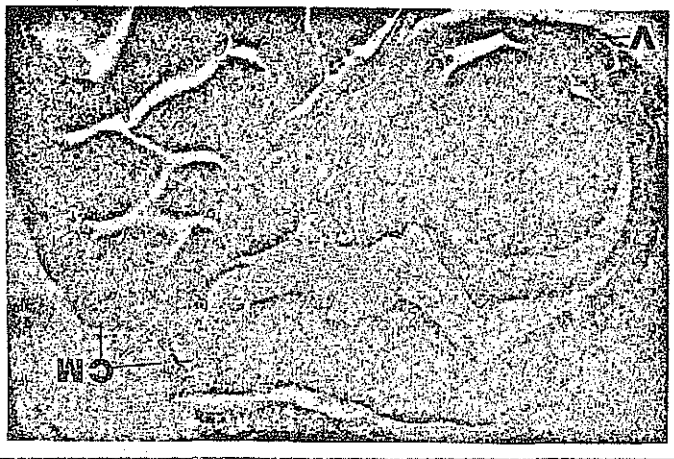


Foto 12. Vista par-  
cial de la cámara  
filtrante (40X).  
CM-células del mesen-  
teron; V-valvula.

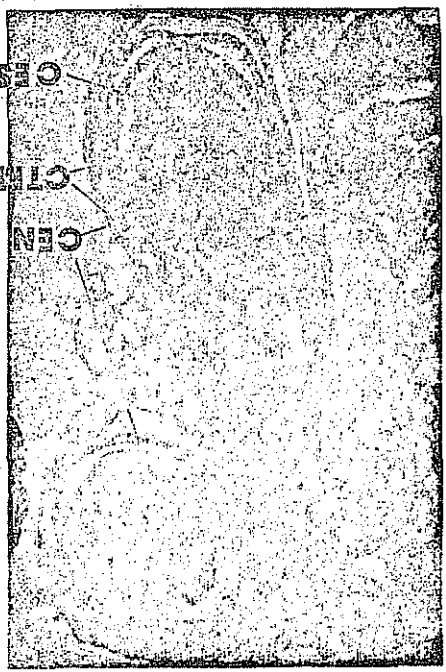


Foto 11. Corte lateral de la  
cámara filtrante.  
(40X).  
CES-célula esférica; CEN-célula  
envolvente; CTM-células de los  
tubulos de maipiglo.

134

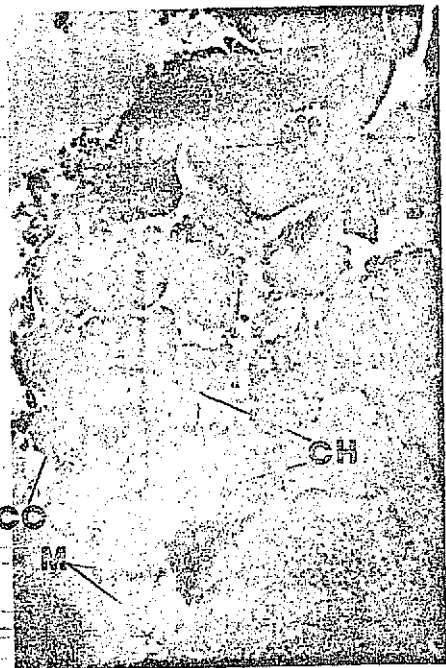


Foto 13. Células holócrinas (CH) del mesenteron, vertiendo su contenido a la luz del ventrículo.  
CC-células de las criptas regeneradoras; M-músculo (40X).



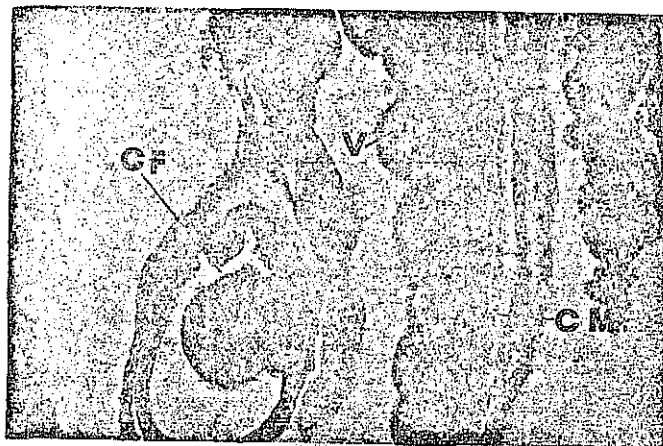
Foto 14. Vista transversal de 2 porciones del mesenteron.  
CG-células del cuerpo graso (40X).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Foto 15. Vista lateral de la región posterior del abdomen.  
 CG-cuerpo grasso; O-ovipositor;  
 P-proctodeo; TM-túbulos de malpigio. (40X).

Foto.16. Corte longitudinal de la cámara filtrante (CF) en condiciones viru líferas y células de la región proximal del ventrículo. (CM) presentado vascularización (V) (40X)



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INSTITUTO VASCO

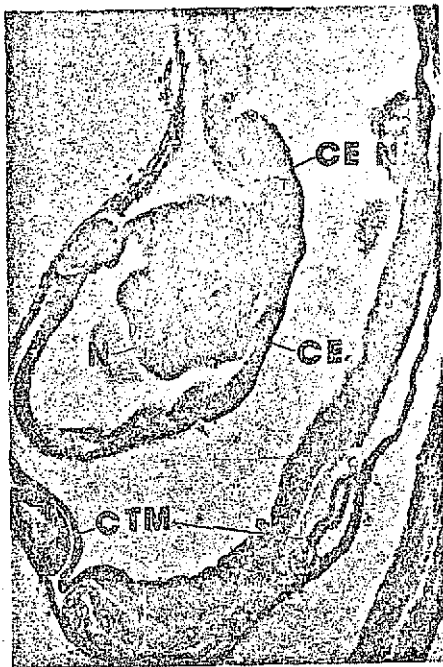
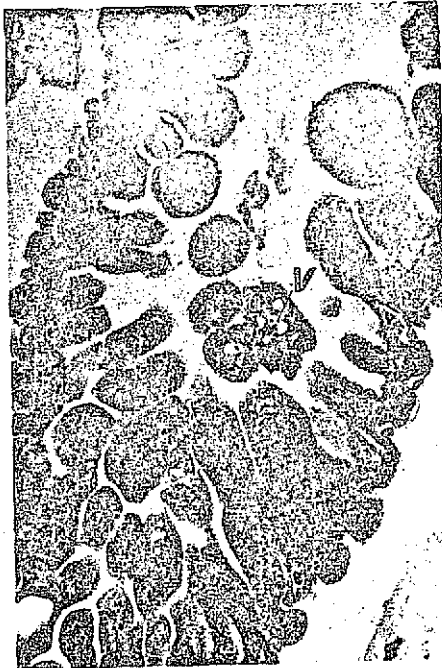


Foto 17. Vista parcial de la cámara filtrante en condiciones virulíferas. La célula esférica (CE) mostrando la modificación de su forma; los núcleos (N) están estallados; la célula envolvente (CEN) totalmente laxa. Las células de los túbulos de malpigio (CTM) han perdido citoplasma.

Foto 18. Acercamiento del ventrículo de un organismo virulífero. Las células presentan el proceso de vacuolización (V). Las células de las criptas regeneradoras se han minimizado. Incluso se han perdido. Se vé poco material en la luz del tubo, tanto de bolo alimenticio como de secreciones. (40X).



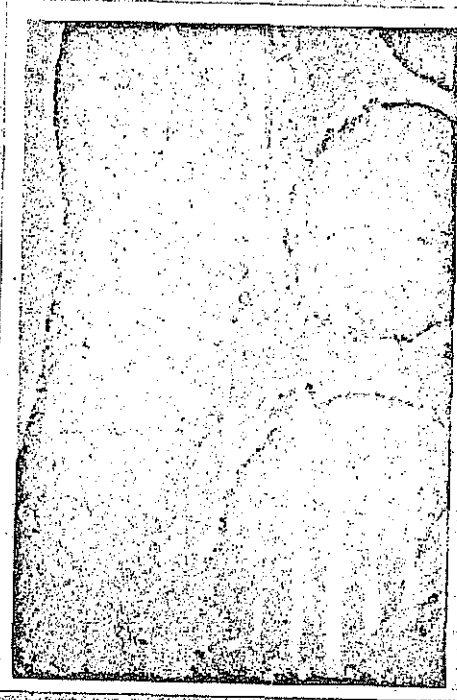


Foto 19. Vistas longitudinal y transversal de los túbulos de malpigio. (40X).

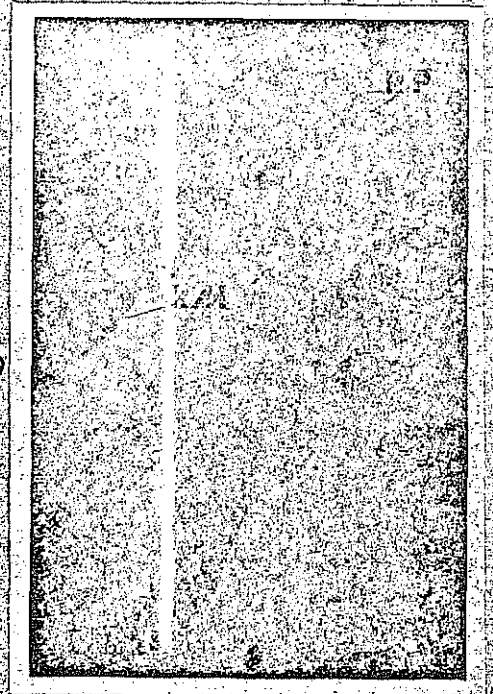


Foto 20. Región proximal (RP) y media (RM) de 2 túbulos de malpigio. (40X).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Foto 21. Corte longitudinal de los túbulos de malpigio (TM) en condiciones virulíferas. Puede apreciarse la inflamación excesiva de las células y la disminución del cuerpo graso. (CG). (10X).



Foto 22. Vista parcial de un micetoma mostrando las 3 capas celulares que lo conforman: Células externas (CE); células medias (CM) con los microorganismos en su interior; células internas (CI). (40X).







Foto 23. Acercamiento de la capa media del micetoma, mostrando la disposición irregular de los microorganismos (100X).



Foto 24. Vista de un micetoma de un organismo virulífero, en donde puede notarse la reducción de las células medias (CM), resaltando su borde festonado en unión con la capa externa (CE); además se puede apreciar que las células de tipo cuboide de la capa interna (CI) están dispersas. (40X)

180

Foto 25. Acercamiento de la capa media del micetoma. En este caso las células inclusive se vacían, quedando el plasmotocito sólo con el núcleo. (100X)



Foto 26. Acercamiento del micetoma en su capa media, nótase el borde festonado y la disminución en el número de microorganismos. (100X)



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN