



**BUAP**



# BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Maestría en Manejo Sostenible de Agroecosistemas

Tema de investigación para obtener el grado de maestría:

**“Revisión sistemática del rol patogénico de *Spiroplasma kunkelii*  
y del vector *Dalbulus maidis* en el cultivo de maíz: perspectiva  
agroecológica en México”**

**Alumna:** Ilse Evelyn Alarcón Jiménez

**Director de tesis:**

Dr. José Antonio Rivera Tapia

**Comité tutorial:**

Dr. Omar Romero Arenas

Dr. José Filomeno Conrado Parraguirre Lezama

Dra. Edith Chávez Bravo

09 de noviembre de 2023

## RESUMEN

La enfermedad del achaparramiento del maíz transmitida por la chicharrita *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae), puede llegar a reducir la producción hasta en un 100% (Jones y Medina, 2020), dependiendo de las condiciones del cultivo y patógenos asociados. Son pocos los estudios referentes a *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae), a pesar de que ya se han visto hallazgos y mayor distribución en distintas regiones de América. Es por ello por lo que el presente trabajo tiene como objetivo realizar una revisión sistemática que permita recopilar información referente a la interacción de *S. kunkelii* en maíz transmitido por el vector *D. maidis*, y por tanto entender un poco más sobre dicha enfermedad.

La revisión sistemática basado en la guía PRISMA permitió una búsqueda altamente sensible por incluir un número relativamente alto de estudios, 121 de 16 buscadores, pero poco precisa al no estar acotados en la interacción del patosistema que buscamos. El descubrimiento de diversos efectores involucrados en la virulencia, adherencia, y replicación de *S. kunkelii*, tales como skARP, genes *traK* y *traE*, *pE*, *AtA*, etc., pueden ser clave en su interacción con *D. maidis* y la planta de maíz.

Se ha notado una adaptación y sobrevivencia de *D. maidis* a condiciones de secano, incluyendo infectados con *S. kunkelii*, distribuyéndose a lugares con temperaturas más bajas y altitudes más altas. La resistencia a plaguicidas, nuevos genocultivares de maíz, y sistemas de irrigación, tecnologías características de la Revolución verde, incluyendo efectos del cambio climático son posibles causas del aumento de sobrevivencia del vector y por ende más riesgo de la enfermedad de achaparramiento. En México se han propuestos en mayor parte la creación de maíces resistentes como tratamiento, pero también el uso de parasitoides como control biológico; sin embargo, aún se plantean desde lo unilateral en lugar de la multilateralidad que considera la Agroecología.

Palabras clave: *S. kunkelii*, *D. maidis*, achaparramiento, Agroecología.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Universo por cada día, por cada oportunidad de levantarme con vida, de disfrutar, vivir y sobre todo de compartir parte de mi con mis allegados y no tan allegados.

A mi madre por escucharme, aconsejarme y no dejarme caer en el proceso. A mis padres y hermanos que he han brindado su amor, su apoyo en cualquier etapa de mi vida.

A mis amigos, por levantarme el ánimo, y darme energía para seguir trabajando en mis metas.

A mi Comité tutorial, en especial a los Dres. Rivera Tapia y Romero Arenas, por sus consejos, correcciones, reuniones, para hacer de este trabajo más completo.

A mis maestros de la Masagro por darme herramientas complementarias, no sólo para este trabajo sino también para mi carrera profesional.

Ilse Evelyn Alarcón Jiménez

## ÍNDICE

PORTADA .....	1
RESUMEN .....	2
AGRADECIMIENTOS .....	3
1. INTRODUCCIÓN .....	6
2. MARCO TEÓRICO .....	8
2.1. <i>Dalbulus maidis</i> .....	8
2.2. <i>Spiroplasma kunkelii</i> .....	10
2.3. <i>Zea mays</i> .....	10
2.4. Interacción vector, planta hospedadora y patógeno .....	11
2.5. Revisión Sistemática.....	13
3. ANTECEDENTES .....	15
4. JUSTIFICACIÓN .....	16
5. OBJETIVOS .....	17
5.1. Objetivo general.....	17
5.2. Objetivos particulares .....	17
6. HIPÓTESIS .....	18
7. METODOLOGÍA.....	18
7.1. Formulación de la pregunta de investigación .....	19
7.2. Protocolo de investigación .....	20
7.2.1. Criterios de inclusión.....	21
7.2.2. Criterios de exclusión .....	21
7.2.3. Selección de estudios .....	22
7.2.4. Evaluación de calidad de los estudios .....	23
7.2.5. Extracción de datos .....	24
8. RESULTADOS .....	25
8.1. Identificación, Elegibilidad e Inclusión de estudios.....	25
8.2. Análisis de descriptivo de los estudios incluidos.....	32
8.2.1. Análisis de descriptivo de los estudios incluidos en México .....	40
8.3. <i>Spiroplasma kunkelii</i> (CSS) .....	43
8.4. Detección de <i>Spiroplasma kunkelii</i> .....	50
8.3. Vector <i>Dalbulus maidis</i> .....	54
8.3.1. Variabilidad genética.....	55

8.3.2. Ciclo de vida conforme al entorno .....	56
8.3.3. Apareamiento y movimiento .....	59
8.3.4. Temporada de secas: Supervivencia .....	61
8.3.5. Migración .....	63
8.3.6. Interacción con <i>Spiroplasma kunkelii</i> .....	65
8.3.7. Plantas de maíz y su defensa.....	69
8.3.8. Respecto a otros vectores Cicadélidos.....	72
8.4. Distribución geográfica del vector <i>Dalbulus maidis</i> , <i>S. kunkelii</i> y la enfermedad.....	74
8.4.1. Argentina .....	80
8.4.2. Brasil.....	81
8.4.3. Estados Unidos y Colombia. ....	81
8.4.4. Nicaragua .....	82
8.4.5. México .....	82
8.4.6. Infecciones mixtas y distribución a futuro .....	83
8.5. Pérdidas de producción y rendimiento del maíz.....	84
8.6. Tratamientos propuestos.....	88
8.6.1. Maíces resistentes a la enfermedad .....	94
8.6.2. Parasitismo y depredación contra <i>Dalbulus maidis</i> .....	98
8.6.3. Estrategias uso de insecticidas.....	102
8.6.4. Otras propuestas para el control del vector o enfermedad .....	104
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	108
9.1. Revisión sistemática .....	109
9.2. Perspectiva agroecológica.....	112
10. CONCLUSIONES.....	119
11. REFERENCIAS .....	122

## 1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de maíz es considerado de los productos agrícolas más importantes del país, desde la cuestión económica, hasta aspectos socioculturales. Es el cultivo número uno tanto en superficie sembrada como en producción con casi 7 millones de hectáreas y 25 millones de toneladas, respectivamente (INEGI, 2019). En cuanto a cuestiones socioculturales, es valorado como patrimonio biocultural por lo que debe protegerse para garantizar su preservación y uso sustentable, además de evitar prácticas comerciales e industriales que afecten a las variedades de maíz criollo (Farías, 2011).

En México la producción del maíz se ve afectada por diversos factores, como los bióticos y abióticos, entre los bióticos se encuentra la enfermedad parasítica del achaparramiento del maíz o también llamada “Corn Stunt Disease” (CSD) transmitida por la chicharrita *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae), que en los últimos años ha sido un inconveniente y limitante en la producción, ya que en casos extremos la enfermedad puede llegar a reducirla hasta en un 100% (Jones y Medina, 2020).

Desde principios de los años 90’s ha sido importante económicamente no sólo en el país sino en parte de Centro América y el Caribe (Henríquez y Jeffers, 1997). En 1986, Urbina indica que en Nicaragua se cuantificaron 27,682 hectáreas con pérdidas parcial y total por dicha enfermedad (Urbina, 1987); en 1992, en la región de Azuero, Panamá se observó incidencia en híbridos nacionales (Gordón *et al.*, 1993); en Argentina se observó un 7% en muestreos de lotes comerciales y 30% en ensayos comparativos de rendimiento (Laguna *et al.*, 1996; Giménez-Pecci *et al.*, 1997). En el capítulo de “Pérdidas de producción y rendimiento de maíz” se detallan más casos.

En México, es común observar a la enfermedad en los estados de Sonora y Sinaloa, en la Mesa Central y en la vertiente del Golfo de México, incluyendo la península de Yucatán, donde la enfermedad persiste en forma endémica; además, en el estado de Tabasco, se ha colectado cepas más agresivas a las conocidas (Castañón *et al.*, 2000). Aguilera *et al.*, 2019, encontraron infecciones simultáneas con más de dos virus en plantas de maíz con Spiroplasmas en Veracruz, aumentando la severidad de la enfermedad en los campos mexicanos.

El patógeno una vez presente en la planta produce síntomas característicos como enanismo de las plantas, estrías cloróticas en la base de las láminas, acortamiento de entrenudos, proliferación de mazorcas y enrojecimiento de márgenes de hojas adultas, siendo las estrías cloróticas y entrenudos cortos los más persistentes (Giménez-Pecci *et al.*, 2002; Hidalgo *et al.*, 1998), lo que conlleva a una disminución notable en los rendimientos. La sintomatología varía según las condiciones climáticas y el cultivar (Giménez-Pecci *et al.*, 2002).

Los patógenos que han sido asociados con el achaparramiento son *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae) (CSS, por sus siglas en inglés), fitoplasmas del enanismo arbustivo del maíz (MBS, por sus siglas en inglés), y el virus rayado fino (MRFV, por sus siglas en inglés) (Mendoza *et al.*, 2002). El CSS es uno de los patógenos más importantes que afectan a la productividad del maíz en México y se sabe muy poco de su distribución e incidencia en el país. (Alcántara-Mendoza *et al.*, 2010).

Los síntomas producidos por los patógenos que provocan “achaparramiento”, suelen mezclarse o enmascararse, y el diagnóstico de la enfermedad bajo condiciones de campo resulta inapropiado y a menudo dudoso, y más aún si los niveles de poblaciones del vector son altos. Además, se desconoce la reacción de diferentes germoplasmas de maíz a los componentes individuales del complejo que pueden influir en los síntomas observados (Henríquez y Jeffers, 1997).

Debido a que CSS está presente en la planta enferma antes de que los síntomas sean aparentes, CSS puede ser adquirido por las chicharritas antes que la enfermedad sea reconocida por síntomas en el campo (Henríquez y Jeffers, 1997).

Actualmente el achaparramiento del maíz ocasionado por *Spiroplasma kunkelii* se ha notado cada vez más en los campos agrícolas; sin embargo, aún existen numerosos cuestionamientos sobre la enfermedad, ¿Qué factores provocan su aparición? ¿Afecta solamente al cultivo de maíz? ¿Por qué *S. kunkelii* prefiere a *D. maidis* como vector sobre otros? ¿Qué mecanismos biológicos están involucrados? ¿Cuáles son los efectores que hacen de *S. kunkelii* patogénica? ¿Existe algún tratamiento efectivo? Algunas investigaciones o estudios científicos han tratado de responder a estas y más preguntas.

Dada su alta incidencia en el cultivo, el interés del área de la investigación sobre el tema ha crecido en los últimos años, pero al tratarse de algo relativamente nuevo, no existen revisiones sistemáticas que prevean los estudios que se han abordado sobre el tema, por lo que sería muy útil la recopilación de dicha información para lograr un entendimiento más eficaz y contundente, y con ello encontrarle un tratamiento adecuado conforme a cada región.

Es por ello por lo que, la presente investigación tiene como objetivo realizar una revisión sistemática que permite recopilar información referente a la interacción de *Spiroplasma kunkelii* con el cultivo de maíz, el vector *Dalbulus maidis* y su entorno. Esto en buscadores de relevancia académica en las áreas de interés, evaluando la calidad de los estudios, seleccionándolos y extrayendo datos más relevantes, para su posterior análisis y crítica desde una perspectiva agroecológica.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. *Dalbulus maidis***

La chicharrita es el principal transmisor de los agentes causales de la cinta roja (conocida así en Ecuador y regiones cercanas) o achaparramiento del maíz. Su ciclo de vida se inicia cuando las hembras ovipositan los huevos en la nervadura central de las hojas del maíz, después de 9 días eclosionan y luego se transforman en 5 estados ninfales con una duración promedio de 19 días, pasando al estado adulto en el cual viven alrededor de 44 días las hembras y 22 días los machos (Valarezo, 2009) (Figura 1)



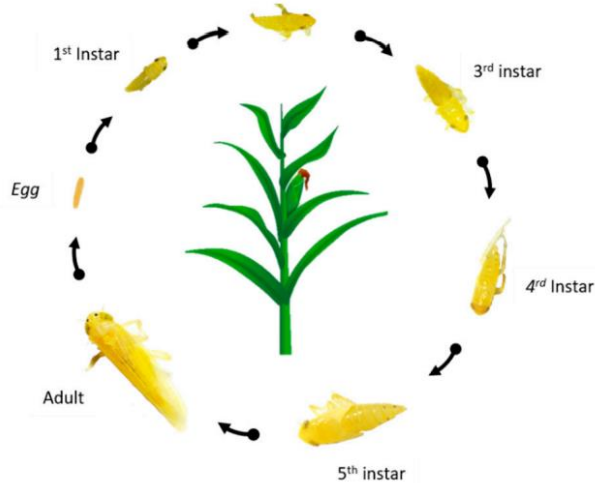


Figura 1: Ciclo de vida completo de *Dalbulus maidis*. Comienza por un huevo, pasando por 5 estados ninfales hasta convertirse en adulto. La ovoposición puede variar hasta el 1° estado ninfal entre 4-9 días. Cada estado ninfal ocurre entre 3-4 días. Las hembras pueden ovopositar un promedio de 15 huevos por día la mayor parte de su vida adulta. Fuente: Jones y Medina, 2020.

Su clasificación taxonómica ha cambiado en los últimos años debido a características similares a otras especies, siendo clasificada como Orden Hemiptera para algunos autores y Homóptera para otros. Las características principales de este orden es que tiene dos pares de alas membranosas iguales y un aparato bucal succionador, lo que le confiere fácil acceso al tallo y savia (floema) de la planta. Son insectos exclusivos de maíz y algunas otras gramíneas (Henríquez y Jeffers, 1997) como pastos “gamagrass” o “Jonhson grass” y teosintes (Jones y Medina, 2020).

*Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) se considera el único fitófago resistente al patógeno CSS dentro del género *Dalbulus* (Henríquez, y Jeffers, 1997), por lo que su período de latencia con la planta aumenta. Su ciclo de vida es de tipo paurometábolo, es decir, pasan por una metamorfosis incompleta. Su desarrollo depende también de la temperatura de acuerdo con Tsai (1988), quien reporta cinco estadios ninfales, los cuales se acortaron con el aumento de la temperatura.

En Centroamérica se ha visto desarrollos favorables de altas poblaciones de *D. maidis* con siembras tardías, precipitación escasa, baja humedad relativa y altas temperaturas (Henríquez y Jeffers, 1997).

## **2.2. *Spiroplasma kunkelii***

La especie *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae) o CSS (por sus siglas en inglés, Corn Stunt Spiroplasma) se ha identificado como la que presenta más relación con el achaparramiento en maíz mediante el vector “chicharrita”, *D. maidis*. Esta bacteria fue nombrada y descubierta por primera vez por Whitcomb y colaboradores en 1986 utilizando la cepa E275, la cual fue depositada a “the American Type Culture Collection” como ATCC 29320 (Whitcomb *et al.*, 1986).

La bacteria *Spiroplasma kunkelii* tiene como características principales su forma helicoidal, móvil, mide entre 5-10  $\mu\text{m}$ . de longitud, posee una membrana, no tiene pared celular, y contiene un citoesqueleto, una capa interna compuesta por fibrillas bajo la membrana. Algunos de sus vectores naturales son *D. maidis*, *D. elimatus*, y *D. guevari*, pero también se ha comprobado su transmisión por otras especies como, *D. gelbus*, *D. quinquenotatus*, *D. tripsacoides*, *D. longulus*, etc. bajo condiciones de laboratorio (Henríquez y Jeffers, 1997; Jones y Medina, 2020).

Taxonómicamente se encuentran dentro de la clase Mollicutes, de orden Mycoplasmatales, familia Spiroplasmataceae, género Spiroplasma y finalmente *Spiroplasma kunkelii*. Algo a señalar es que los procariontes agrupados dentro de la clase Mollicutes se han categorizado como *Candidatus*, que son todos aquellos organismos que no han podido ser cultivados en medios artificiales (*in vitro*) (Reveles *et al.*, 2014).

*S. kunkelii* tiene estrecha relación con otras especies de Spiroplasma, desde su comportamiento hasta información genética. *S. kunkelii* se encuentra en el mismo grupo de *S. melliferum*, patógeno de las abejas, lo que podría proveer información sobre patogenicidad de ambos organismos. Dada su importancia económica en cítricos, *S. citri* ha sido estudiada con más frecuencia, pero se ha notado que provoca patogenicidad en el vector *D. maidis*, comparado con *S. kunkelii*, quien tiene un efecto positivo o neutral (Jones y Medina, 2020).

## **2.3. *Zea mays***

*Zea mays* mejor conocido como maíz, es miembro de la familia Poaceae, su origen es de México, pero se ha esparcido más al norte y sur. Tiene una capacidad de adaptación y

crecimiento en todos los continentes, excepto Antártida. (Jones y Medina, 2020). En México el cultivo de maíz se puede observar desde los 15 msnm hasta los 2100 msnm, generalmente es cultivado anualmente y cosechado por única ocasión (Pinedo-Escatel y Moya-Raygoza, 2018); además, es el cultivo más importante por su superficie sembrada, valor de la producción, por ser el alimento principal de la población y por ocupar el 20 % de la población económicamente activa (Sierra *et al.*, 2007).

En cuanto a nutrición, juega un papel muy importante ya que contiene entre 60-68% de almidón, 7-15% de proteína y es rico en aminoácidos y minerales como fósforo y potasio. Lo que le confiere un extenso uso no sólo para la alimentación humana, sino como alimento para animales, y además como fuente de producción de biocombustibles y otros productos industriales (Jones y Medina, 2020).

El maíz cuenta con 4 estados fenológicos durante su ciclo de vida, el crecimiento de la plántula, el crecimiento vegetativo, la floración y el llenado de grano y madurez.

Durante muchos años el maíz ha sido modelo genético de plantas monocotiledóneas, lo que lo convierte en la opción ideal para estudiar las interacciones entre diversos vectores y sus asociaciones con fitopatógenos en cultivos de monocotiledóneas (Jones y Medina, 2020).

#### **2.4. Interacción vector, planta hospedadora y patógeno**

La enfermedad de “achaparramiento” o CSD en maíz se facilita cuando existe un ambiente apropiado para la interacción entre el vector *D. maidis*, la planta de maíz y *S. kunkelii* (Figura 2). La infección comienza cuando el vector tiene contacto directo con el floema de la planta enferma que, por medio de la ingesta a través del canal alimenticio llega a las glándulas salivares del insecto, desde donde es inoculado nuevamente a una planta sana cuando éste se alimenta. La eficiencia de *D. maidis* para transmitir CSS alcanza hasta un 100 % (Henríquez y Jeffers, 1997).

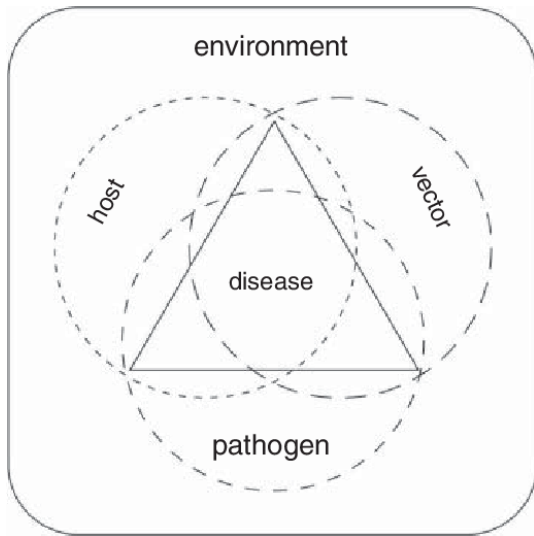


Figura 2. Esquematación de la interacción entre planta hospedadora, fitopatógeno y el vector. La enfermedad ocurre cuando los 3 componentes del triángulo se complementan, y dependerá del ambiente que conduce a la resolución de la relación. Fuente: Finlay, 2018.

Al interactuar *D. maidis* con el cultivo de maíz puede dañarlo de dos maneras: al succionar la savia provoca lesiones en las hojas, pero el de mayor importancia es el daño ocasionado por la transmisión de fitopatógenos. Los primeros síntomas fueron reportados por Aistat en 1945 en Texas (Celorio, 2011). Para 1946, Kunkel reporta como primer síntoma bandas cloróticas en la base de las hojas y conforme avanza la enfermedad se extiende a lo largo de la mismas (Henríquez y Jeffers, 1997).

La interacción comienza cuando existe una respuesta de defensa por parte de la planta de maíz ante el ataque del vector, patógeno o agentes externos. Una vez hacen contacto, se producen moléculas llamadas elicitores, ya sean generales o específicos. Dentro de los generales se encuentran los DAMPs, asociados a insectos, y PAMPs, asociados a patógenos, desencadenan una resistencia general, provocando la primera cascada de reacciones en la planta para activar inmunidad innata primaria (PTI) (Jones y Medina, 2020).

Los elicitores específicos como proteínas de avirulencia (Avr) son formadas por diferentes tipos de cepas patogénicas, quienes inducen respuestas de resistencia a genes de resistencia a la enfermedad de la planta (genes R). El reconocimiento de estas proteínas y la expresión de los genes R, permite la inmunidad innata secundaria (ETI) (Jones y Dangl, 2006; Jones y Medina, 2020).

Ambas respuestas, PTI y ETI, reducen la infección dentro de la planta, en el caso del maíz ya se han caracterizado algunas vías de DAMPs y PAMPs, como especies reactivas a oxígeno (ROS), proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAPK), señalización con Ca<sup>2+</sup>, así como receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs, como RLK, RLP, etc.) (Jones y Dangl, 2006; Jones y Medina, 2020).

Aunque ya se conoce a detalle algunas estrategias de la planta de maíz, aún no hay información suficiente de cómo *S. kunkelii* y el insecto *D. maidis* evaden y manipulan la expresión de la resistencia del maíz. La identificación de proteínas efectoras que suprimen la respuesta de defensa de la planta y con ello promueven la susceptibilidad a la enfermedad, pueden ser la clave en el desarrollo de estrategias de control genético contra dichos agentes patogénicos (Jones y Medina, 2020).

## **2.5. Revisión Sistemática**

Así como esta investigación, existen artículos científicos que aplican diferentes fuentes de información bibliográfica para obtener y/o fundamentar teóricamente sus resultados de investigación; y con ello lograr mayor fuerza o robustez en sus trabajos. Sin embargo, la diferencia radica en que el contenido de algunos artículos puede llegar a ser subjetivo y por tanto ser propensos a mayor número de sesgos y errores (Donato y Donato, 2019).

La revisión sistemática (RS) también conocida como “síntesis de investigación” (Aromataris y Pearson, 2014), es una revisión planeada para responder una pregunta específica y que utiliza métodos explícitos y sistemáticos para identificar, seleccionar y evaluar críticamente los estudios, y para recolectar y analizar los datos de estos estudios incluidos en la revisión (Terezinha, 2007); y que tiene como objetivo proveer una síntesis comprensiva y objetiva de algunos estudios relevantes en un solo documento (Aromataris y Pearson, 2014).

La revisión sistemática tiene varias ventajas comparadas con la tradicional, por lo que ésta última al ser más rápida y fácil de realizar, podría ser propensa a mayor número de sesgos y errores, por lo que no describe el proceso de investigación de la literatura, selección de artículos o la evaluación de la calidad de los estudios, son parciales y representa la opinión de los autores sobre el tema (Donato y Donato, 2019).

En contraste la revisión sistemática es reproducible, su objetivo es reducir el sesgo mediante métodos claros para realizar una búsqueda bibliográfica exhaustiva y evaluar de forma crítica los estudios individuales. De esta manera, la revisión sistemática responde a preguntas de investigación bien definidas y se caracteriza por utilizar metodologías integrales, transparentes y replicables (Donato y Donato, 2019).

Aunado a lo anterior Terezinha, 2007 menciona que, “los trabajos de Revisiones Sistemáticas son considerados trabajos originales, pues, además de utilizar como fuente, datos de la literatura sobre determinado tema, están elaborados con rigor metodológico”.

Para que una revisión sistemática esté bien definida y sea aceptada internacionalmente debe cumplir con las siguientes características (Aromataris y Pearson, 2014):

- Objetivos claramente articulados y preguntas a resolver.
- Criterios de inclusión y exclusión que son estipulados a priori, en un protocolo, que determinan la elegibilidad de los estudios.
- Búsqueda exhaustiva para identificar todos los estudios relevantes, publicados y no publicados.
- Evaluación de la calidad de los estudios incluidos, evaluación de la validez de sus resultados e informe de cualquier exclusión basada en la calidad.
- Análisis de los datos extraídos de la investigación incluida.
- Presentación y síntesis de los hallazgos extraídos.
- Informe transparente de la metodología y métodos utilizados para realizar la revisión.

El primer paso para llevar a cabo la RS es formular la pregunta de investigación, la cual es crucial por lo que es el eje de toda la investigación. Existen modelos que ayudan a formularla tales como SPIDER y PICO. Este último es el más común y significa “Participants, Interventions, Comparators, and Outcomes” (por sus siglas en inglés), que se traduce en Participantes (¿Qué población de estudio?), Intervenciones (¿Qué propiciará el estudio?), Comparaciones (¿Con qué comparará la intervención?), y Resultados (¿Qué resultados se buscan?) (Donato y Donato, 2019).

Actualmente ya existen grupos o plataformas que brindan guías para realizar una RS, como Colaboración Cochrane, o el Centro para Revisiones y Disseminaciones de la Universidad de York, etc. que están enfocados hacia estudios clínicos y el área de salud en general.

Estos modelos recomiendan herramientas y metodologías que hagan de la RS más eficiente. Una de esas metodologías es PRISMA (Preferred Reporting Items for Systemic Review and Meta-Analyses, por sus siglas en inglés), quien estipula una serie de pasos a seguir para lograr una buena redacción del protocolo de la RS y además de ofrecer herramientas para el entendimiento de la síntesis de resultados.

Además de lo anterior, la agrupación de los diferentes estudios incluidos puede enviarse a metaanálisis, el cual se define como “el uso de técnicas estadísticas para combinar y resumir los resultados de múltiples estudios”. Esto puede proporcionar estimaciones más precisas de los efectos de lo que se quiere resolver que las proporcionadas por los estudios individuales (Donato y Donato, 2019).

Una pregunta de investigación bien formulada y un protocolo bien fundamentado aumentan la eficacia de la RS (Donato y Donato, 2019).

### **3. ANTECEDENTES**

El achaparramiento del maíz comenzó a notarse durante la década de los 70's, pero Kunkel en 1946 ya había reportado a *D. maidis* como vector de patógenos causantes del achaparramiento del maíz (Tsai, 1988). Algunos estudios comenzaron a enfocarse meramente en el vector y no en el patógeno, tales como Davis, 1966 quien realizó un pequeño estudio sobre la biología de *D. maidis* sometido a 6 temperaturas; Pitre *et al.*, 1966 y Pitre, 1970 quienes reportaron a *Tripsacum dactyloides* como nuevo hospedador de *D. maidis* y otras especies nuevas de plantas susceptibles a CSS.

Aunque existen estudios relacionados con el achaparramiento del maíz, no se han reportado un gran número de revisiones sistemáticas acerca del tema o sobre la interacción de los actores involucrados en dicho sistema. Sin embargo, sí se han reportado algunos trabajos enfocados en la biología de *S. kunkelii*, como la taxonomía, origen genómico, clasificación o biodiversidad.

Bové *et al.*, 1998 reportan la clasificación taxonómica conforme a su estructura y actividad en los ecosistemas, si tiene o no pared celular y si son patógenos restringidos, por ejemplo. Yu *et al.*, 2009 por su parte mencionan los avances de su clasificación y biodiversidad hasta ese momento.

Bendix y Lewis, 2018 realizan una revisión de patógenos limitados al floema, dentro de los cuales mencionan a *S. kunkelii*. Mencionan algunas características específicas como ser un patógeno que puede estar presente durante todo el año debido a la resistencia de sus vectores durante el invierno, que tiene baja diversidad genética y que se ha investigado más sobre su transmisión, a través de ciertas moléculas envueltas en este mecanismo como factores de virulencia, de adherencia a sus hospedadores, o elementos de sus plásmidos.

De las revisiones sistemáticas más recientes y a afines con este trabajo es la que realizan Jones y Medina, 2020, enfocada en la enfermedad de Achaparramiento del maíz, quien es protagonizada por el patosistema maíz-*Dalbulus maidis*-*Spiroplasma kunkelii* y proponen a este como modelo ideal para determinar los mecanismos moleculares que permiten una transmisión persistente del patógeno mediante un vector especializado en un cultivo económicamente importante.

En dicha revisión enfatizan las características más importantes de cada participante y algunos aportes que se han publicado que puedan ayudar a un mejor entendimiento de los mecanismos de interacción patogénica, algunos de éstos se hacen mención en este trabajo.

#### **4. JUSTIFICACIÓN**

Debido a que la literatura científica publicada ha aumentado a un ritmo exponencial año con año, las revisiones sistemáticas que recopilan la evidencia disponible se han convertido en una herramienta indispensable. De acuerdo con Donato y Donato, 2019, desde 1989 ha crecido el uso de las revisiones sistemáticas como metodología de investigación, y con este incremento también lo han hecho las recomendaciones para realizar este tipo de investigación.

Además, pese a que las revisiones sistemáticas han ido en aumento, existen muy pocas registradas en el área de Agrociencias, por lo que se requiere un historial actualizado de diferentes temas para mejorar las condiciones del campo. Bases de datos como Registro



Prospectivo de Revisiones Sistemáticas (PROSPERO, por sus siglas en inglés) y Cochrane brindan protocolos de revisiones sistemáticas en proceso de publicar o revisiones completadas de distintas áreas, pero la mayor parte va dirigida hacia áreas de ciencias de la salud o educación.

Aunado a lo anterior en México son pocos los estudios referentes a *Spiroplasma kunkelii*, a pesar de que ya se han visto hallazgos de la enfermedad de causa en maíz, principalmente en estados de la meseta central y vertiente del Golfo de México (Castañón *et al.*, 2000), por lo que este trabajo sería la base de inicio de nuevas investigaciones en el país.

Aunque actualmente la situación ante la pandemia ocasionada por SARS-COV-2 ha mejorado parcialmente, aún existen dificultades para llevar a cabo de forma experimental las investigaciones, tanto de campo como en el laboratorio, por lo que la revisión sistemática es una oportunidad para abordar el tema de investigación.

Ante este panorama es indispensable entonces recopilar información relevante de diversos temas agrícolas, como lo son las enfermedades en los cultivos ya que representan un gran problema para los agroecosistemas. Puesto que la enfermedad del achaparramiento del maíz ocasionado *S. kunkelii* ha ido en aumento, es necesario seleccionar información más relevante que pueda aportar a la comunidad científica un mejor entendimiento y con ello hacer un análisis desde una perspectiva agroecológica, proponiendo tratamientos viables que puedan aportar a los agroecosistemas.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. Objetivo general**

Realizar una revisión sistemática que permita recopilar información referente a la interacción de *Spiroplasma kunkelii* en maíz transmitido por el vector *Dalbulus maidis*.

### **5.2. Objetivos particulares**

1. Identificar los buscadores de literatura específicos de las áreas de interés (Agrícola, Agrociencias, Ciencias Naturales, Microbiología, Fitopatología, etc.).
2. Desarrollar estrategias de búsqueda mediante un protocolo basado en la guía PRISMA de tal forma que sea sensible y precisa.

3. Realizar un listado de los artículos seleccionados conforme a su título y resumen de cada buscador.
4. Depurar información duplicada, sin acceso al texto completo e ilegible por contenido.
5. Extraer los datos de cada estudio que sean relevantes al tema central, utilizando herramientas provistas por la guía PRISMA.
6. Analizar la tendencia de los datos conforme a su comportamiento y desde una perspectiva agroecológica.

## **6. HIPÓTESIS**

La información seleccionada relacionada con *Spiroplasma kunkelii*, su vector *Dalbulus maidis* y del cultivo de maíz proporcionará datos relevantes sobre su interacción y patogenicidad.

## **7. METODOLOGÍA**

La metodología de la revisión sistemática se basó en la guía proporcionada por Donato y Donato, 2019, la cual menciona características que son aceptadas en cualquier RS y conlleva los siguientes pasos.

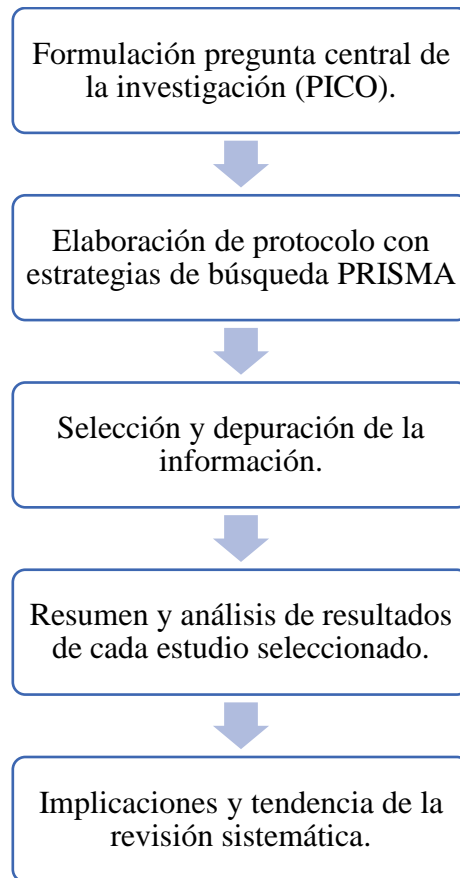


Figura 3. Diagrama de flujo de la metodología de investigación.

### 7.1. Formulación de la pregunta de investigación

Para la formulación de la pregunta de investigación se utilizó el método “Participants, Interventions, Comparators, and Outcomes” (PICO, por sus siglas en inglés), del cual se toman en cuenta los Participantes y la Intervención para dicho estudio. Siendo los Participantes *S. kunkelii*, vector *D. maidis*, y cultivo de maíz; mientras que la Intervención del estudio sería aportar tanto para el diagnóstico, prevención de la enfermedad, e implicaciones que ha tenido en los agroecosistemas para futuras investigaciones desde una perspectiva agroecológica. Entonces acorde a esto, la pregunta de investigación quedaría de la siguiente forma: *¿Qué relación tiene Spiroplasma kunkelii con la alta incidencia de la enfermedad de achaparramiento en maíz y su vector Dalbulus maidis?*

## 7.2. Protocolo de investigación

El protocolo de la investigación se basó en “Preferred Reporting Items for Systemic Review and Meta-Analyses Protocols” (PRISMA, por sus siglas en inglés), el cual menciona algunas estrategias para una búsqueda y organización de la información más efectiva.

De acuerdo con Donato y Donato, 2019 la parte clave de una revisión sistemática es una búsqueda bibliográfica exhaustiva, por lo que la estrategia a seguir debe ser altamente sensible y precisa. La sensibilidad se define como “el número de informes relevantes identificados dividido por el número total de informes relevantes existentes”, mientras que la precisión es la capacidad de excluir tantos artículos irrelevantes como sea posible. Por lo anterior, se decidió utilizar distintas tácticas, que se mencionan a continuación.

Se realizó una búsqueda de palabras clave conforme a la pregunta de investigación en 16 buscadores durante el periodo agosto-septiembre 2022: Redalyc, Research-Gate, Proquest, Europa PMC, Springer Link, Oxford Academic, Wiley Online Library, Microbiology Society, Science Direct, Pubmed, American Phytopathological Society (APS), SEDICI, Agris-FAO, eScholarship de la Universidad de California, Canadian Science Publishing, y Scielo.

La búsqueda se realizó con lenguaje controlado y no controlado, es decir, introduciendo palabras clave como: *Spiroplasma kunkelii*, Corn Stunt Spiroplasma, Vector CSS, Spiroplasma Corn, o combinando palabras en texto libre. Para ciertos buscadores se acotó la información con la aplicación de filtros hacia las áreas de interés tales como: Agrociencias, Ciencias Naturales, Microbiología y Agronomía.

En el caso del texto libre se utilizaron operadores booleanos “AND” y “OR” para encontrar escritos más precisos o estudios que manejan conceptos de diferente manera o utilizar sinónimos. Por ejemplo, “Spiroplasma” AND “Corn”; “CSS” AND “Pathology”; “Corn Stunt” AND “Leafhopper”; “CSS” OR “*Spiroplasma kunkelii*”; “leafhopper” OR “corn vector”; “Salta hojas” OR “*Dalbulus maidis*” etc. (Resultados, Tabla 2).

Además de lo anterior a continuación se mencionan algunos otros criterios de inclusión y exclusión.

### **7.2.1. Criterios de inclusión**

Conforme a la guía propuesta por Donato y Donato, 2019 una revisión sistemática debe contemplar no sólo trabajos publicados en revistas científicas, sino también tomar en cuenta la llamada “literatura gris”, que se refiere a todo documento no publicado o disponible en medios habituales; por lo que para este estudio se consideró tanto artículos publicados como no publicados, pero sí revisados para ser divulgados en revistas científicas, así como algunas tesis y disertaciones académicas relevantes al tema de interés.

Además, se tomaron en cuenta aquellos que contienen información que podría aportar de forma indirecta a la pregunta de investigación, y que están enfocados a áreas como genética, distribución geográfica, informática, y química.

Debido a que la mayoría de la literatura reportada se encuentra en el idioma inglés, las palabras clave se manejaron en tal idioma; no obstante, también se tomaron en cuenta aquellos trabajos reportados en algún otro idioma tales como español y portugués. Esto con el fin de evitar sesgos en la revisión y ampliar el panorama de la investigación.

De igual forma, se abarcaron aquellos buscadores que tienen poca relación con las áreas de interés, pero que podrían contener información distinta a los principales. Algunos de estos son pertenecientes a algunas universidades en todo el mundo tales como, Oxford Academic, eScholarship de la Universidad de California, SEDICI (Servicio de Difusión de la Creación Intelectual de la UNLP- Universidad Nacional de La Plata) en Argentina; así como Pubmed y Scielo.

Finalmente, se tomaron en cuenta trabajos citados en el contenido de algunos estudios seleccionados, sin importar el año de publicación o si tenía relevancia directa o no con el tema central, con el fin de que su información fuera de aporte a esta revisión.

### **7.2.2. Criterios de exclusión**

Los criterios de exclusión se determinaron en 2 etapas de acuerdo con el contenido de los estudios encontrados. En una primera etapa, se fueron descartando aquellos que no contenían en su título y/o resumen las palabras clave antes mencionadas o que no fueran relevantes al tema central de investigación; y también aquellos que estaban duplicados o repetidos en diferentes buscadores.

En cuanto a los años de publicación sólo se tomaron en cuenta los divulgados a partir de los años 80's a la fecha, ya que son pocas las publicaciones antes de esas fechas y su experimentación fue confirmada por estudios posteriores. Aunque para los trabajos citados en los artículos seleccionados publicados en años previos, con aportación al tema central, sí se tomaron en cuenta, tal como se mencionó en la sección de criterios de inclusión

Igualmente se eliminaron los trabajos que no se encontraban disponibles para acceso al texto completo; aunque si los resúmenes estaban disponibles, se tomó datos importantes de los mismos.

En una segunda etapa, se examinó de forma superficial su contenido ya en texto completo y se fueron eliminando los de poca relevancia al tema central o que podrían aportar poco. Por ejemplo, se eliminaron aquellos que sólo mencionan el tema central en su introducción o antecedentes.

### ***7.2.3. Selección de estudios***

Conforma a los criterios antes mencionados se hizo la búsqueda exhaustiva y se fueron seleccionado los estudios e información de interés. Para ello, se utilizó el formulario Excel donde se registró el total de trabajos por buscador, así como detalles de cada trabajo como el año de publicación, país de publicación, autores responsables, título de la investigación, tipo de documento (artículo, revisión, tesis, boletín, capítulo de libro, etc.). Esto aplica para los 16 buscadores antes mencionados.

Se contemplaron 3 etapas para la selección de estudios, desde la *Identificación* en los buscadores, pasando por *Elegibilidad* y finalmente la *Inclusión* de trabajos con aporte de datos (Figura 4). Durante la etapa de *Identificación* se descargó todos los datos de los trabajos, tal como se mencionó en el primer párrafo de esta subunidad.

Para la etapa de *Elegibilidad* se tomaron en cuenta los criterios de inclusión y exclusión antes mencionados y se dividió en 3 fases. Para la primera fase, se eligieron conforme al título del trabajo, subrayando con color rojo aquellos que no eran relevantes al tema de investigación, con color amarillo aquellos que se repetían en otros buscadores y con color verde eliminados por otras razones (sin acceso al texto completo, falta de información, etc.). Para la segunda y tercera fase, se eligieron conforme al resumen y texto completo, respectivamente, y se

marcaron con color rojo los que no aportaban gran relevancia al tema central y con color beige los que no tenían gran relevancia, pero que podrían aportar datos importantes.

Posteriormente se hizo una inspección más profunda de cada estudio, evaluando su calidad y obtención de datos y resultados.

Dado que nuestra revisión sistemática contempla a 3 participantes, cultivo de maíz, Spiroplasmas y la chicharrita del maíz, los artículos revisados se clasificaron conforme al tema central abordado, en relación con la patogenicidad de *S. kunkelii*, indicados con una “S”; sobre el vector *Dalbulus maidis*, indicados con una “V”; sobre la distribución de la enfermedad, CSS o vector, indicados con una “D”; los posibles tratamientos, indicados con una “T”; dada la importancia del diagnóstico de la enfermedad, sobre la detección de CSS, indicados con “SD”, y algunos otros enfocados sólo en los daños ocasionados por el achaparramiento del maíz, indicados con “E”. Esta clasificación también se basó acorde a las tendencias de los 121 estudios incluidos sobre los temas abordados.

#### **7.2.4. Evaluación de calidad de los estudios**

Aunque los artículos y trabajos de investigación pueden tener distintos tipos de diseño (aleatorios, observables, descriptivos, analíticos, etc.) es posible identificar la calidad de su contenido.

Para la evaluación de la calidad de los estudios se examinaron los textos completos de la literatura seleccionada contemplando los siguientes aspectos (Tabla 1).

Tabla 1. Aspectos para evaluar en la calidad de los estudios seleccionados para la revisión sistemática.

<b>ASPECTO</b>	<b>EVALUACIÓN</b>	<b>CUMPLIMIENTO</b>
<i>Coherencia entre el título del trabajo y su contenido</i>	¿El título del trabajo abarca todo su contenido?	Si/No
<i>Legibilidad del texto</i>	¿El texto es legible y entendible?	Si/No
<i>Va conforme al método científico</i>	¿Contiene las etapas que rigen al método científico?	Si/No

<b>Relación entre objetivos, diseño metodológico y resultados</b>	¿La metodología y resultados van conforme a los objetivos?	Si/No
<b>Riesgo de sesgo</b>	¿Existe sesgo de notificación? *	Si/No
<b>Referencias bibliográficas</b>	¿Las referencias bibliográficas son confiables?	Si/No
<b>Identificador de publicación (Si Aplica)</b>	¿Cuenta con algún identificador digital (DOI, ISSN, ISBN, etc.)?	Si/No

\*Nota: El sesgo de notificación omite información o notifica parcialmente en los resultados (Blanco, 2018)

### 7.2.5. Extracción de datos

Una vez que se aplicaron los criterios y aspectos previamente indicados, en el formulario de Excel se van depurando y dejando los trabajos elegibles, de los cuales se tomaron los datos más importantes para la revisión en otro archivo.

Los resultados extraídos se compararon entre ellos para determinar si existe una tendencia o armonía que puedan aportar a futuras investigaciones.

#### 7.2.5.1. Síntesis de datos

Mediante gráficas y tablas se representaron la tendencia de los estudios conforme al año de su publicación y tema abordado, así como la síntesis de los estudios seleccionados que aluden a la pregunta de investigación, encontrando relación entre los participantes, *S. kunkelii*, la enfermedad del achaparramiento del maíz y el vector *D. maidis*.

#### 7.2.5.2. Verificación de las listas de referencias de los estudios

Para algunos estudios seleccionados se realizó una verificación del listado de referencias, esto con el fin de aumentar la eficacia a la revisión y además de ayudar a identificar trabajos adicionales relevantes que pueden sumar a la búsqueda exhaustiva. Para este análisis se utilizaron las bases de datos Web of Science y SCOPUS para determinar los autores de las



referencias bibliográficas más citados encontrados en los trabajos seleccionados en esta investigación.

## **8. RESULTADOS**

### **8.1. Identificación, Elegibilidad e Inclusión de estudios**

La primera etapa de la búsqueda sistemática contempló el uso de operadores booleanos “AND” y “OR” en los 16 buscadores mencionados con palabras clave que podrían aportar respuestas a la pregunta de investigación (“Spiroplasma” AND “corn”, “Corn Stunt” AND “leafhopper”, “CSS” OR “*Spiroplasma kunkelii*”, “Leafhopper” OR “corn vector”, etc.) y que se muestran en la tabla 2, a continuación.

La mayoría de los resultados mostraron un comportamiento muy variado, obteniendo desde cero resultados hasta mayores a 12,000, por lo que no existe una tendencia entre los diferentes buscadores. Por ejemplo, para el buscador APS para el operador booleano AND arrojó resultados de entre 100 y 150, pero para el booleano OR no arrojó ningún resultado.

Lo anterior se atribuye a que pueden arrojar resultados que no son necesariamente relacionados con el tema central de esta investigación, ya que algunos buscadores también contienen información de otras áreas de investigación como salud, alimentos, etc. Además, para los buscadores que arrojaron cero resultados, en su mayoría fueron para el operador booleano OR, no reconocen las palabras clave de una u otra manera, por lo que fue más útil realizar una búsqueda más simple, sin operadores booleanos.

Para dichas búsquedas, se usaron palabras que fueran más acertadas a la pregunta de investigación, como “*Spiroplasma kunkelii*”, “Corn Stunt Spiroplasma”, y “Corn Stunt Spiroplasma vectors”. Algunos buscadores como ResearchGate, APS, SEDICI, Proquest y eSCHOLARSHIP de la Universidad de California, arrojaron casi la misma cantidad de resultados para los tres casos. Sin embargo, en algunos otros los resultados variaron demasiado; por ejemplo, para el caso de Redalyc con “*Spiroplasma kunkelii*” aportó 50 resultados, mientras que para “Corn Stunt Spiroplasma” y “Corn Stunt Spiroplasma vectors” 10,137 y 11,742, respectivamente.

Tabla 2. Número de resultados obtenidos en los diferentes buscadores usando operados booleanos “AND” y “OR” manejando texto libre.

<b>BUSCADOR</b>	<b>AND</b>		<b>TOTAL DE RESULTADOS</b>	<b>OR</b>		<b>TOTAL DE RESULTADOS</b>
<b>SCIELO</b>	Spiroplasma	Corn	9	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	147
	Spiroplasma	Pathology	0	Leafhopper	Corn vector	107
	Corn Stunt	Leafhopper	6	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	12
<b>Canadian Science Publishing</b>	Spiroplasma	Corn	24	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	0
	Spiroplasma	Pathology	23	Leafhopper	Corn vector	0
	Corn Stunt	Leafhopper	10	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	0
<b>eSCHOLARSHIP (Universidad de California)</b>	Spiroplasma	Corn	33	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	0
	Spiroplasma	Pathology	68	Leafhopper	Corn vector	0
	Corn Stunt	Leafhopper	11	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	0
<b>AGRIS-FAO</b>	Spiroplasma	Corn	34	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	503
	Spiroplasma	Pathology	14	Leafhopper	Corn vector	1,694
	Corn Stunt	Leafhopper	10	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	13

(Tabla 2, continuación)

<b>SEDICI (Servicio de Difusión de la Creación Intelectual de la UNLP)</b>	Spiroplasma	Corn	834	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	361
	Spiroplasma	Pathology	1,498	Leafhopper	Corn vector	12,705
	Corn Stunt	Leafhopper	1,899	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	1,075
<b>APS (American Phytopathological Society)</b>	Spiroplasma	Corn	103	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	0
	Spiroplasma	Pathology	130	Leafhopper	Corn vector	0
	Corn Stunt	Leafhopper	150	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	0
<b>PUBMED</b>	Spiroplasma	Corn	7	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	1,204
	Spiroplasma	Pathology	10	Leafhopper	Corn vector	2,531
	Corn Stunt	Leafhopper	5	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	1
<b>SCIENCE DIRECT</b>	Spiroplasma	Corn	379	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	48,533
	Spiroplasma	Pathology	475	Leafhopper	Corn vector	4,599
	Corn Stunt	Leafhopper	184	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	168
	Spiroplasma	Corn	65	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	79

(Tabla 2, continuación)

<b>MICROBIOLOGY SOCIETY</b>	Spiroplasma	Pathology	90	Leafhopper	Corn vector	215
	Corn Stunt	Leafhopper	22	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	7
<b>Wiley ONLINE LIBRARY</b>	Spiroplasma	Corn	193	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	20,812
	Spiroplasma	Pathology	352	Leafhopper	Corn vector	2,800
	Corn Stunt	Leafhopper	308	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	130
<b>OXFORD ACADEMIC</b>	Spiroplasma	Corn	148	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	19
	Spiroplasma	Pathology	155	Leafhopper	Corn vector	583
	Corn Stunt	Leafhopper	350	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	0
<b>REDALYC</b>	Spiroplasma	Corn	23	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	1,303
	Spiroplasma	Pathology	12	Leafhopper	Corn vector	100
	Corn Stunt	Leafhopper	12	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	53
<b>SPRINGER LINK</b>	Spiroplasma	Corn	315	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	45,582
	Spiroplasma	Pathology	493	Leafhopper	Corn vector	5,853
	Corn Stunt	Leafhopper	159	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	181
<b>EUROPE PMC</b>	Spiroplasma	Corn	234	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	11
	Spiroplasma	Pathology	402	Leafhopper	Corn vector	0
	Corn Stunt	Leafhopper	73	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	0
<b>PROQUEST</b>	Spiroplasma	Corn	1,067	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	830,495
	Spiroplasma	Pathology	1,599	Leafhopper	Corn vector	8,650

(Tabla 2, continuación)

	Corn Stunt	Leafhopper	302	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	432
	Spiroplasma	Corn	177	CSS	<i>Spiroplasma kunkelii</i>	1000
<b>Research-Gate</b>	Spiroplasma	Pathology	19	Leafhopper	Corn vector	1000
	Corn Stunt	Leafhopper	187	Salta hojas	<i>Dalbulus maidis</i>	318

Al realizar una inspección general de lo anterior, se notó que los resultados para “*Spiroplasma kunkelii*” eran mucho más convenientes que los que se obtuvieron con Corn Stunt Spiroplasma”, y “Corn Stunt Spiroplasma vectors”, por lo que se dispuso a trabajar con estos resultados en una revisión más exhaustiva.

En una primera etapa de *Identificación*, conforme a las estrategias propuestas por PRISMA, se obtuvieron un total de resultados para “*Spiroplasma kunkelii*” de 992 en los 16 buscadores antes referidos, de los cuales incluyen artículos, revisiones, boletines, capítulos de libros, fragmentos de enciclopedias, noticias, incluso minutas de congresos y reuniones (Tabla 3). Cada buscador aportó un porcentaje de resultados conforme al total, siendo el que menos aporta el buscador Scielo y el que más Proquest; sin embargo, aún no se aplicaron los criterios de exclusión y la decisión definitiva de contribución.

Tabla 3. Resultados obtenidos refiriendo a “*Spiroplasma kunkelii*” en 16 buscadores diferentes con su respectivo porcentaje de aportación.

<b>BUSCADOR</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>%</b>
SCIELO	5	0.5
Canadian Science Publishing	8	0.8
eSCHOLARSHIP (Universidad de California)	12	1.2
AGRIS-FAO	30	3.0
SEDICI (Servicio de Difusión de la Creación Intelectual de la UNLP)	33	3.3
PUBMED	33	3.3
MICROBIOLOGY SOCIETY	36	3.6
OXFORD ACADEMIC	49	4.9
REDALYC	50	5.0
APS (American Phytopahological Society)	52	5.2
Wiley ONLINE LIBRARY	58	5.8
SCIENCE DIRECT	91	9.2
RESEARCH-GATE	100	10.1
SPRINGER LINK	103	10.4
EUROPE PMC	112	11.3
PROQUEST	220	22.2
<b>TOTAL</b>	<b>992</b>	<b>100</b>

De ese total, se aplicaron algunos criterios de exclusión como repetibilidad, inelegibilidad por el título del trabajo no relacionado, y por nulo acceso, al menos al resumen del trabajo (Figura 4). De un total de 992, se descartaron 143 duplicados, 556 por inelegibilidad y 23 por otras razones, permaneciendo un total de 263 resultados.

En una segunda etapa de *Elegibilidad* se aplicaron los criterios en el contenido del resumen y un primer vistazo al texto completo, excluyendo de este modo 94 trabajos. De los 169 restantes se analizó el texto completo, excluyendo 49 de ellos.

Y finalmente, en una tercera etapa de *Inclusión* se analizaron 121 trabajos de los cuales se incluyeron aquellos con gran relevancia a la pregunta central de investigación y aquellos que no tenían gran relevancia, pero que podrían aportar algún dato importante.

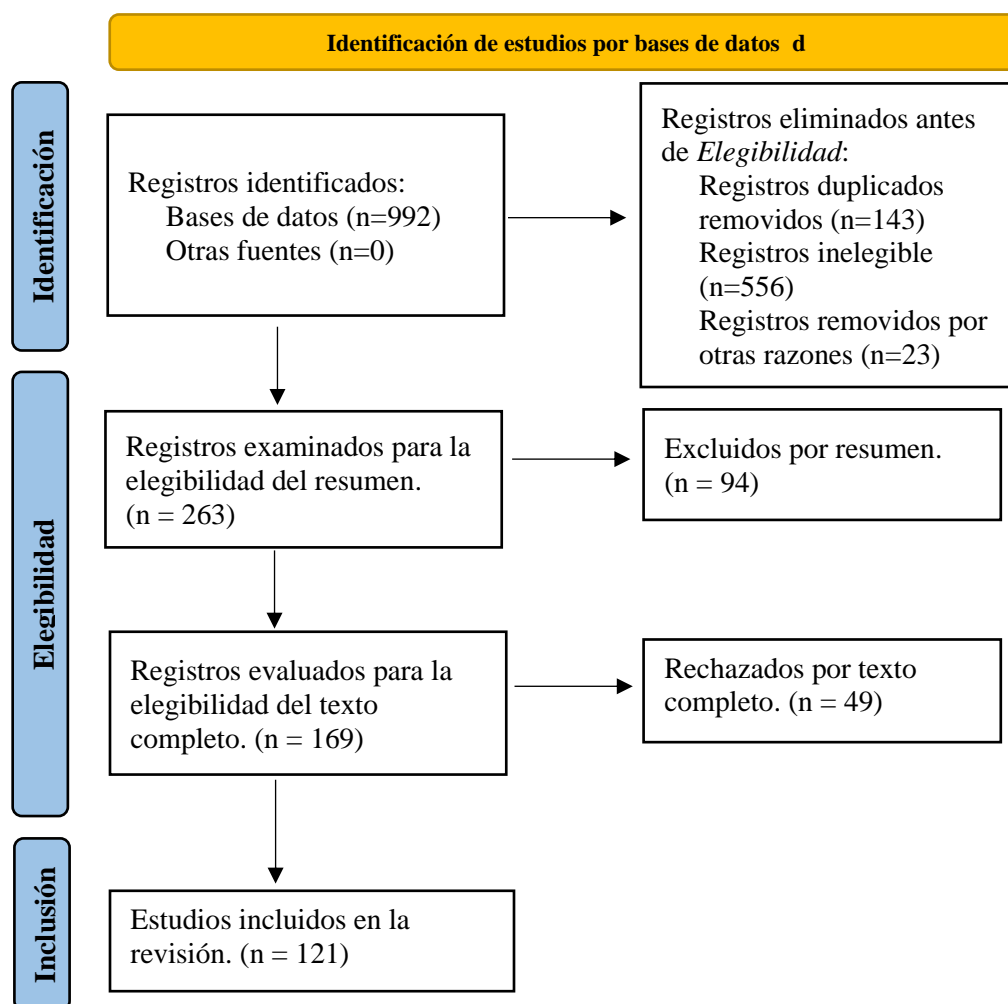


Figura 4. Diagrama de flujo para la selección de estudios de investigación, desde la etapa de Identificación, Elegibilidad e Inclusión, conforme a la estrategia PRISMA, 2020.

## 8.2. Análisis de descriptivo de los estudios incluidos

De los 121 estudios incluidos, hubo una tendencia creciente después de los 2000's en cuanto a su publicación o elaboración, siendo los años 2002 y 2004 los que más aportaron con 10 estudios encontrados cada uno para esta revisión (Figura 5). Asimismo, la inclinación hacia el estudio tanto del vector como del patógeno se ha mantenido durante los años, aunque con mayor número también en los años 2002 y 2004.

En el caso de los estudios sobre los tratamientos propuestos comenzaron a notarse después de los 2000's, siendo el año 2019 el de mayor auge. En cuanto al estudios de la distribución geográfica y en especial los daños en producción y económicos ocasionados por la enfermedad sólo se notan en ciertos años.

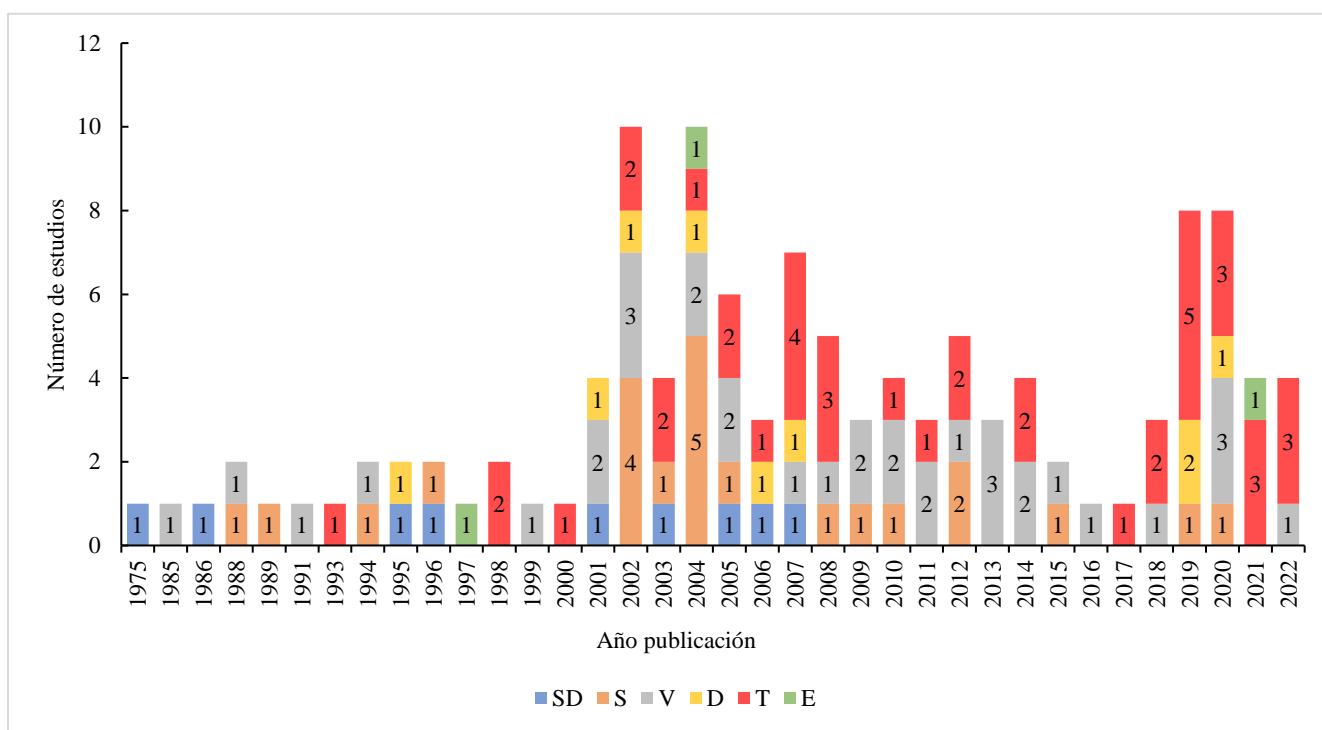


Figura 5. Número de estudios incluidos y clasificados en temas conforme al año de publicación o elaboración. Detección de *Spiroplasma kunkelii* (SD); Spiroplasma (S); Vector (V); Distribución geográfica (D); Tratamientos a la enfermedad (T); Pérdidas de producción por la enfermedad (E).

En cuanto a los temas abordados, fueron los temas del “Vector” (V) y “Tratamientos” (T) hacia la enfermedad los de mayor aportación para esta revisión, con un 28% y 35%, respectivamente, seguidos de “Spiroplasma” (S) con un 20%, “Distribución geográfica” (D)



con un 7%, “Detección de CSS” (SD) con un 6% y finalmente “Pérdidas de producción por la enfermedad” (E) con un 4% (Figura 6).

Aunque fueron clasificados de esta manera, no significaba que trataran meramente ese tema, sino que también abordaron y aportaron datos importantes de algún otro tema. Por ejemplo, en el estudio de distribución del vector mencionan ciertas características de sobrevivencia de este mismo dependiendo las zonas de estudio.

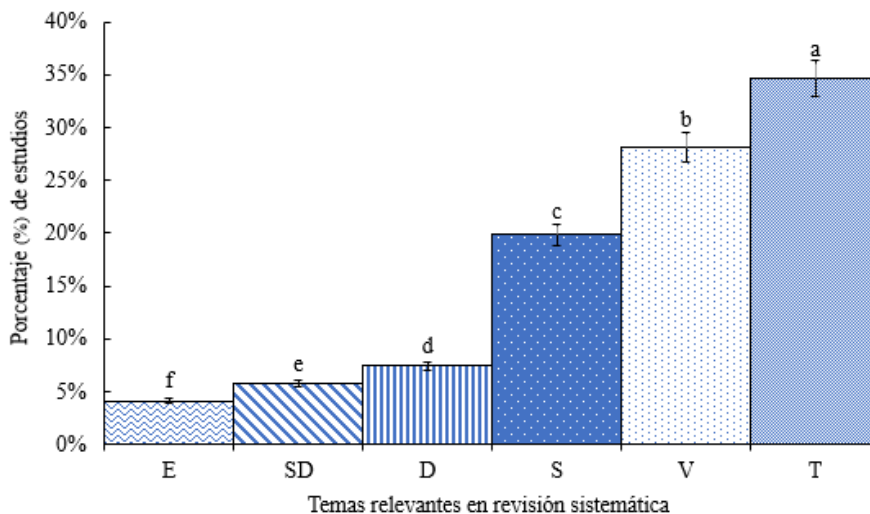


Figura 6. Porcentaje de aportación por “Tema” a esta revisión sistemática. Tratamientos a la enfermedad (T); Vector (V); Spiroplasma (S); Distribución geográfica (D); Detección de *Spiroplasma kunkelii* (SD); Pérdidas de producción por la enfermedad (E).

En dicha RS también se tomó en cuenta los países de estudio de cada trabajo, por lo que con ello se puede notar el interés por abordar la enfermedad, ya sea para fines de investigación o porque se ha presentado en dichas regiones a menor, mediana o gran escala. Los países con mayor influencia en la RS fueron México con 28%, Estados Unidos con 23%, Brasil con 21%, y Argentina con 19%. Posteriormente con poca contribución se presentan Ecuador, Francia, Nicaragua, Australia, Colombia, Egipto, y Perú, sin diferencias significativas (Figura 7a).

Aunque estos últimos parecen aportar poco, cabe destacar, que en los países de Nicaragua y Colombia reportaron epidemias por dicha enfermedad, generando pérdidas significativas para los productores de ciertas regiones (ver capítulo de “Pérdidas de producción y rendimiento del maíz”, más adelante), por lo que representan un área de oportunidad para su estudio y mejorar las condiciones del cultivo.

Además de los países de estudio, los buscadores en los cuales se encontró la información se consideraron para hacer de las investigaciones futuras más rápidas y eficientes (Figura 7b). En este

caso fue el buscador ResearchGate superior en porcentaje de estudios encontrados relacionados con el achaparramiento del maíz, con un 21%, seguido de Otros con 14%, Redalyc y Oxford Academic con 9%, Proquest y Springerlink con 8%, AgrisFao y ScienceDirect con 5%, etc. Cabe recalcar que “Otros” se refiere a distintitos buscadores utilizados, incluidos algunos aquí mencionados, en el pasado para buscar información sobre la enfermedad, y que dicha información se creyó adecuado incluir a esta RS.

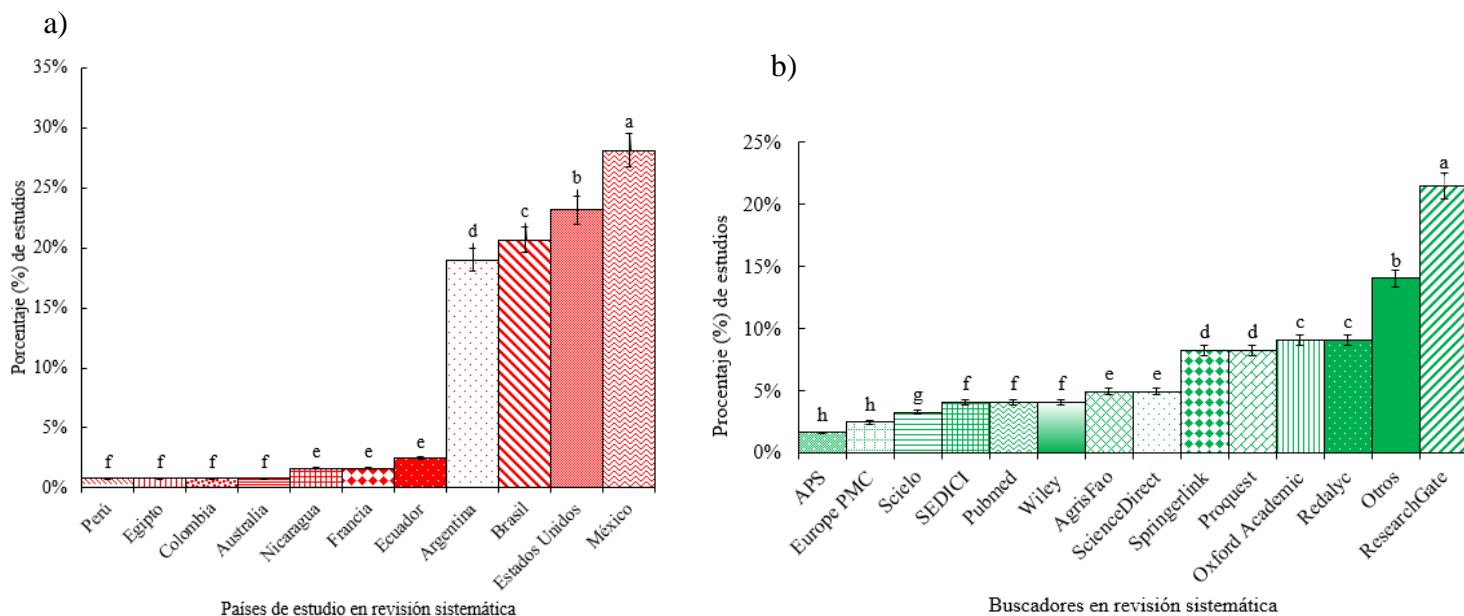


Figura 7. Porcentaje de estudios incluidos en la RS a) divididos por países de estudio, siendo los países México, Estados Unidos, Brasil, y Argentina con mayor influencia y diferencia significativa; y b) clasificados en los buscadores encontrados, donde ReserchGate y Otros aportaron más que los demás.

Por otro lado, para hacer un análisis de la información más profundo los porcentajes de estudios incluidos fueron divididos en 3 periodos, entre los años 1975 hasta 2022, de acuerdo con los temas abordados, los países de estudio, y los buscadores donde fueron encontrados, indicando la correlación entre las mismas variables.

Así como se mencionó previamente, en la Figura 8 se puede observar mayor porcentaje de estudios publicados después de los 2000's, en el segundo periodo 1999-2010, mostrando diferencia significativa con los otros dos periodos.

En el caso de los temas abordados (Figura 9), el mayor porcentaje de estudios por mucho fue “Tratamientos” en el periodo 2011-2022 con un 49%, mostrando diferencia significativa con

respecto a los otros periodos. Posteriormente “Vector” fue el siguiente en aportar más con un 29%, pero sin diferencia significativa entre el segundo y tercer periodo.

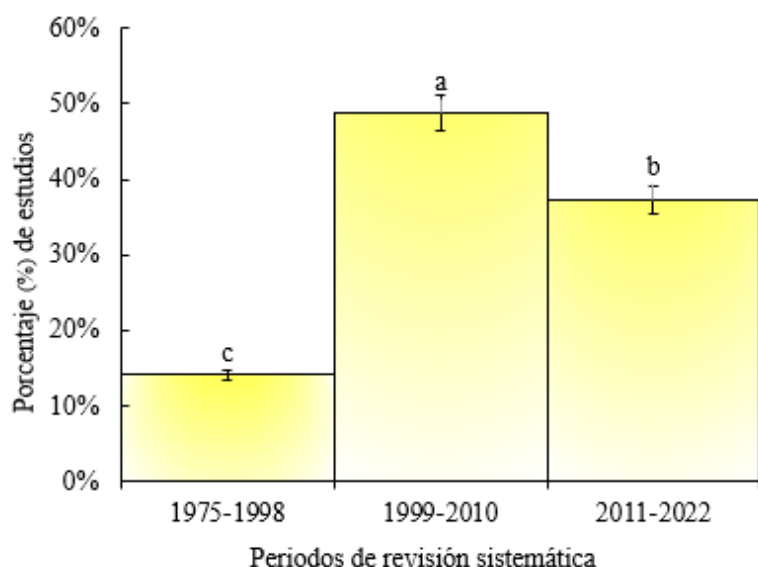


Figura 8. Porcentaje de estudios incluidos en la RS dividido en 3 periodos.

Consecutivos a estos, el tema “Spiroplasma” tuvo un mayor porcentaje en el periodo 1975-1998, con un 29% y fue decreciendo en los siguientes periodos con diferencias significativas. En cuanto a su detección se comportó de la misma manera, donde ocupaba un 12% de estudios en el primer periodo, decreciendo a 8% y finalmente 0%.

Este último comportamiento fue similar al tema “Pérdidas de producción por la enfermedad”, donde se registraron mayor número de estudios en el periodo 1975-1998, y fue decreciendo a 3% y 2% en los siguientes periodos, respectivamente.

Finalmente, aunque “Distribución geográfica” tuvo diferencias significativas, el porcentaje de estudios no estuvieron tan alejados entre los periodos, siendo el de mayor aporte del periodo 2011-2022 con un 9%, seguido del segundo y primer periodo.

Para el periodo 1975-1998 el tema de mayor dominio fue “Spiroplasma”, esto pudo ser a consecuencia de que comenzaba a resonar la enfermedad y el patógeno era difícilmente identificado. Para 1999-2010, los temas más populares fueron “Vector” y “Tratamientos”, ya que posiblemente se percataron que *D. maidis* era en efecto uno de los vectores más favorables en la transmisión de la enfermedad y comenzaban a surgir tratamientos contra este. Y para el 2011-2022 la mayoría de los estudios se enfocaron en la postulación de tratamientos.

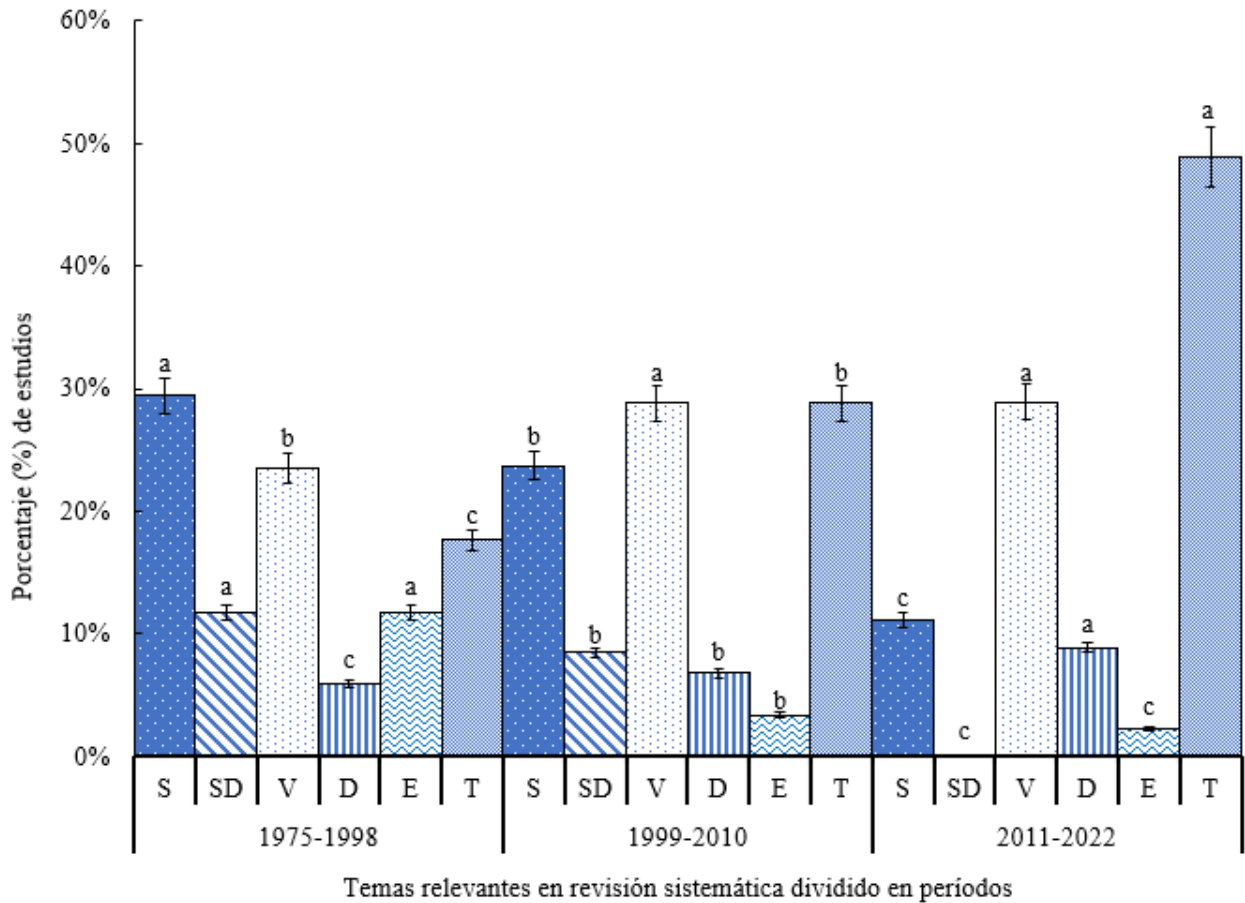


Figura 9. Porcentaje de estudios incluidos en la RS clasificados en los temas más frecuentes en 3 periodos. Temas: Detección de *Spiroplasma kunkelii* (SD); Spiroplasma (S); Vector (V); Distribución geográfica (D); Tratamientos a la enfermedad (T); Pérdidas de producción por la enfermedad (E).

Por otro lado, la atribución que han tenido los países sobre el Achaparramiento del maíz a lo largo del tiempo es sugestivo. Como se puede observar en la Figura 10, Estados Unidos (EUA) tuvo gran interés sobre la enfermedad causada por CSS entre el periodo 1975-1998 con un 59% de participación, después disminuyó significativamente. En el caso de México, tuvo una mayor participación en el segundo periodo con un 32%, siendo el principal de ese periodo, seguido del tercer y primer periodo, con 27% y 18%, respectivamente, y aunque tuvo diferencias significativas entre estos, no es tan notable como la de EUA.

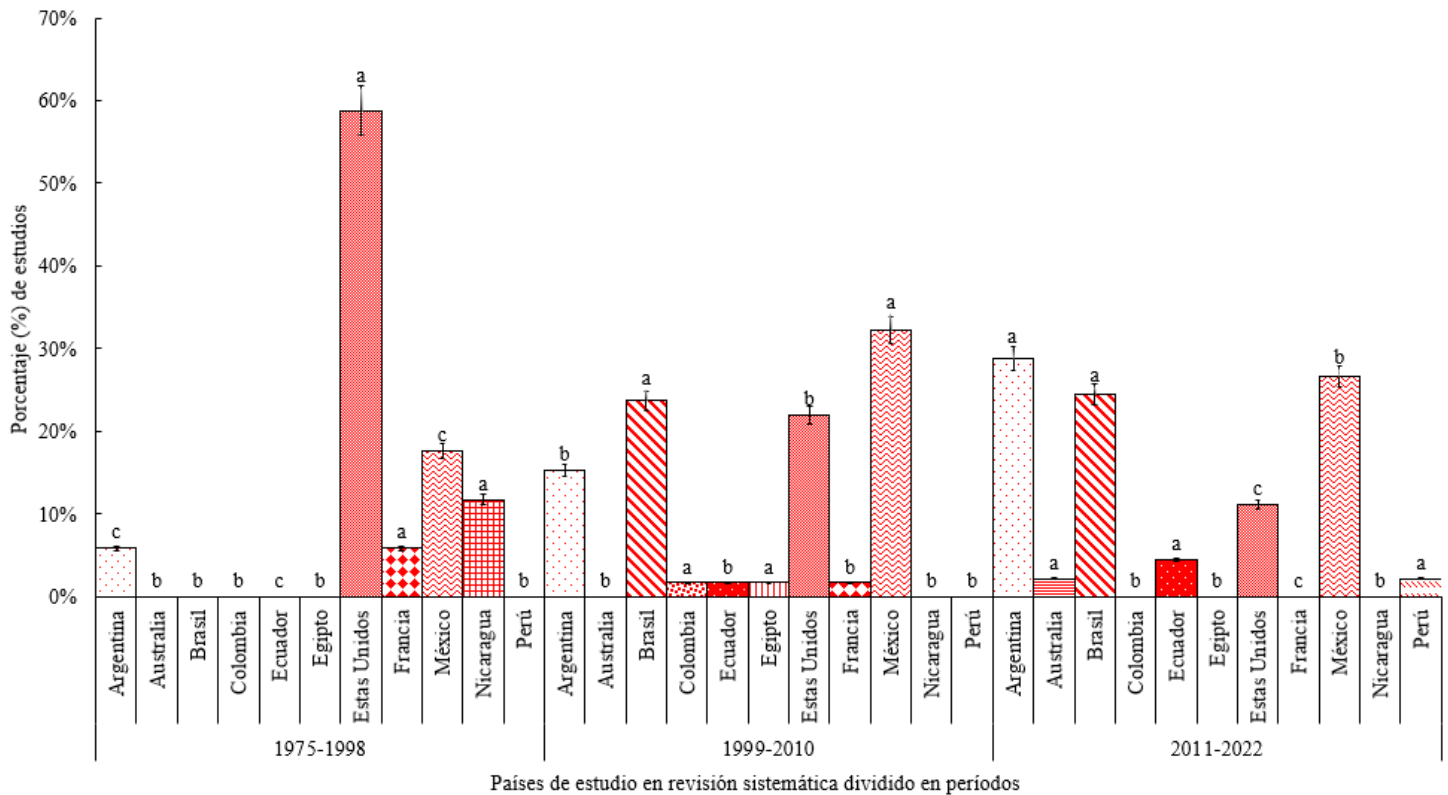


Figura 10. Porcentaje de estudios incluidos en la RS conforme a sus países de estudio divididos en 3 periodos. Los países Estados Unidos, México, Argentina, y Brasil son los más influyentes.

Para el caso de Argentina, al contrario de EUA, se nota su intervención en el tema a lo largo del tiempo, con poco porcentaje de estudios en el periodo 1975-1998, seguido del segundo periodo y con mayor participación en el último periodo con un 29%, siendo el primordial. Esto podría ser por los casos constantes de aparición de la enfermedad y en algunos casos pérdidas cuantiosas del cultivo de maíz (véase capítulo “Pérdidas de producción y rendimiento del maíz”).

En cuanto a Brasil, tuvo nula participación en el primer periodo, pero en los siguientes años aumentó considerablemente a un 24% y se mantuvo así hasta el 2022. Ese cambio sustancial podría atribuirse, al igual que Argentina a ciertos casos de productores reportados, lo que provocó el aumento del estudio del vector de enfermedad. Conforme a estos y algunos otros casos de estudio, hubiera sido conveniente ahondar más en las noticias o medios con este tipo de información.

Nicaragua por su lado, tuvo una epidemia importante entre el periodo 1975-1998 por lo que el mayor porcentaje de estudios aparece en este periodo, con un 12%, posterior a ello no se

encontró información relacionada con la enfermedad. Al igual que Nicaragua, Francia tiene mayor participación en el primer periodo con un 6%, pero sus estudios enfocados más en la bacteria como tal que en su relación compleja con el cultivo y vector.

Los demás países como Colombia, Perú, Australia, y Egipto tienen poca significancia en el aporte de información a la RS, pero que podría valer a futuras investigaciones.

Por último, la información encontrada en los diversos buscadores usados en esta RS fue variada con el tiempo. Del principal buscador que aportó más a esta RS sobre el achaparramiento del maíz, ResearchGate, no varió tanto con el tiempo siendo los periodos entre 1999-2010 y 2011-2022 los más altos con un 22% cada uno y el primer periodo con 18%. En cuanto Springerlink, el porcentaje de estudios en los 3 periodos tuvo diferencias significativas, ya que varió bastante con el tiempo, en el primer periodo aportó 18% de los estudios, en el segundo disminuyó significativamente a un 2% y en el tercero se recuperó a un 13%.

Como se mencionó antes, “Otros” buscadores fue de los principales en aportar a la RS. Dicha información fue recabada con anterioridad para fines de investigación, por lo que podría aseverarse que la búsqueda de antecedentes fue exitosa por la amplia distribución que presenta durante el tiempo. El periodo 1975-1998 fue el que tuvo mayor porcentaje, con un 24%, seguido de 16% entre 2011-2022, y 10% entre 1999-2010.

Así como Otros existen buscadores como Oxford Academic y SEDICI que variaron poco con el tiempo, aunque con diferencias significativas, es decir aportaron un porcentaje similar de estudios en los 3 periodos. Para Oxford Academic durante el primer periodo fue con un 12%, 8% para el segundo, y 9% para el tercero. En cuanto a SEDICI comenzó con un 6%, seguido de 5% y finalmente 2%.

Aunque no aportaron en los 3 periodos como los anteriores, Redalyc y Proquest tuvieron una considerable participación en los periodos 1999-2011 y 2011-2022 con un 19% y 20%, respectivamente, algo en que años anteriores no tuvieron en absoluto, de modo que para Proquest sólo aportó un 2% en el segundo periodo y ambos nulo en los demás periodos.

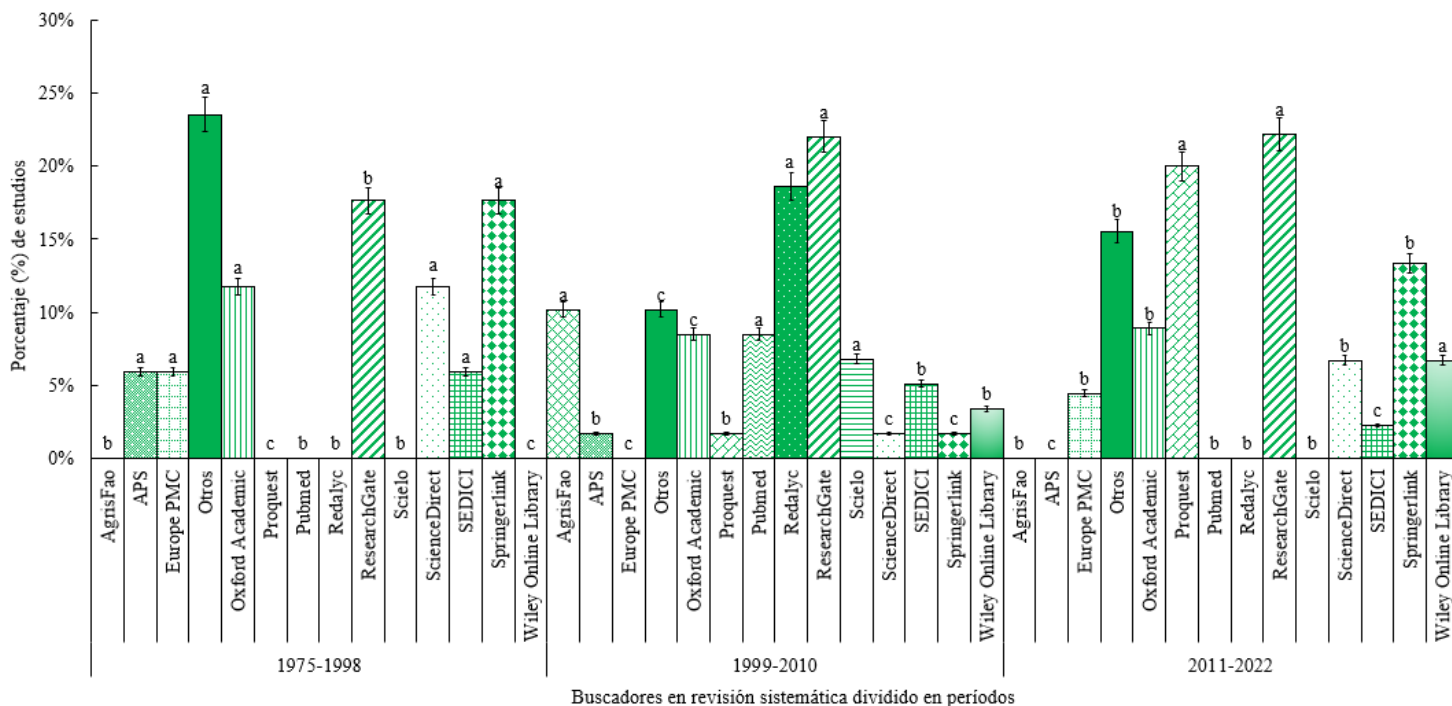


Figura 11. Porcentaje de estudios incluidos en la RS clasificados en los buscadores encontrados divididos en tres periodos. ResearchGate y Otros son los que dominan.

Además, también están los que sólo presentaron estudios en un solo periodo, tales como Pubmed, Scielo, y AgriFao, con un 8%, 7%, y 10%, respectivamente en el periodo 1999-2010. Y Wiley Online Libraly, APS, Eurupe PMC quienes aportaron poco porcentaje en uno o dos periodos, pero no es los tres.

Asimismo, para hacer un poco más visual lo dicho previamente, los porcentajes de estudios relacionados con las variables de temas, países y buscadores, con ayuda del programa VosViewer, se esquematizaron en un mapa por densidad, señalando con más intensidad aquellas palabras con más frecuencia y/o contribución en la revisión sistemática (Figura 12).



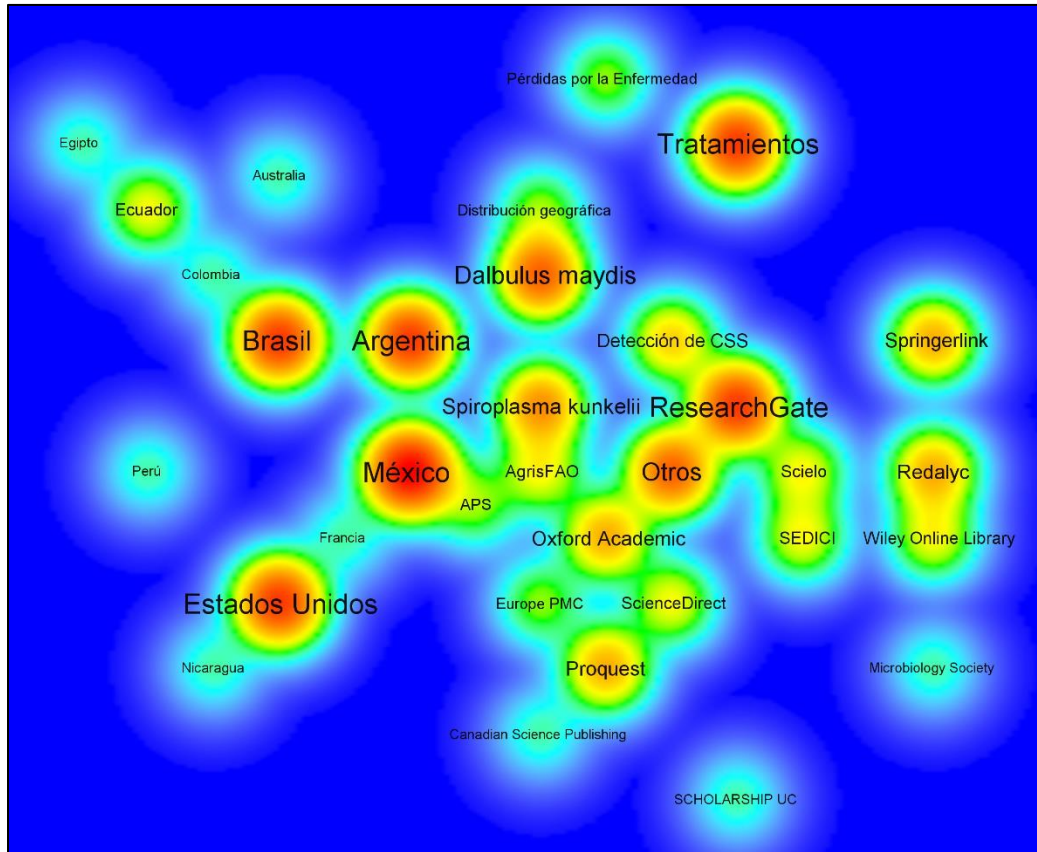


Figura 12. Esquema de palabras relacionadas con la revisión sistemática ordenadas por densidad, siendo las más intensas las más frecuentes y/o con mayor aporte de información. Programa utilizado: Vosviewer.

### **8.2.1. Análisis de descriptivo de los estudios incluidos en México**

Dada la importancia que tiene México sobre esta RS, se abordó su análisis de las mismas variables, periodos, buscadores y temas más frecuentes, así como los estados con mayor participación en el tema de achaparramiento del maíz. Durante el transcurso de la RS, los estados donde realizaban investigación en relación con el tema central fueron Jalisco con un 44% de estudios, Veracruz con 26%, Estado de México con 9%, Morelos, Colima, Yucatán, Sonora, Puebla, entre otros cubrieron el resto (Figura 13).





Figura 13. Representación de los estados con mayor porcentaje de contribución en el tema de achaparramiento del maíz en México.

En cuanto a los años de publicación, fue en el periodo 1999-2010 los años con mayor auge en México con un 56% de trabajos publicados, seguido del tercer y primer periodo con 35% y 9%, respectivamente, mostrando diferencias significativas (Figura 14). De esos trabajos, los temas mayormente abordados fueron el “Tratamiento” de la enfermedad y el “Vector” que la trasmite, con un 56% y 32%, respectivamente, y en menor grado le siguen el estudio del patógeno y la distribución geográfica de la enfermedad (Figura 15).

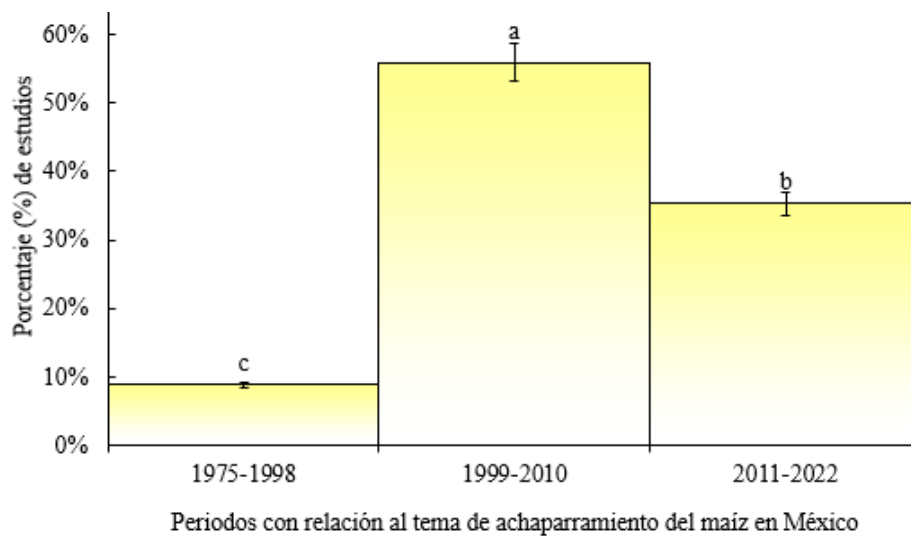


Figura 14. Porcentaje de estudios con relación a su año de publicación en México.

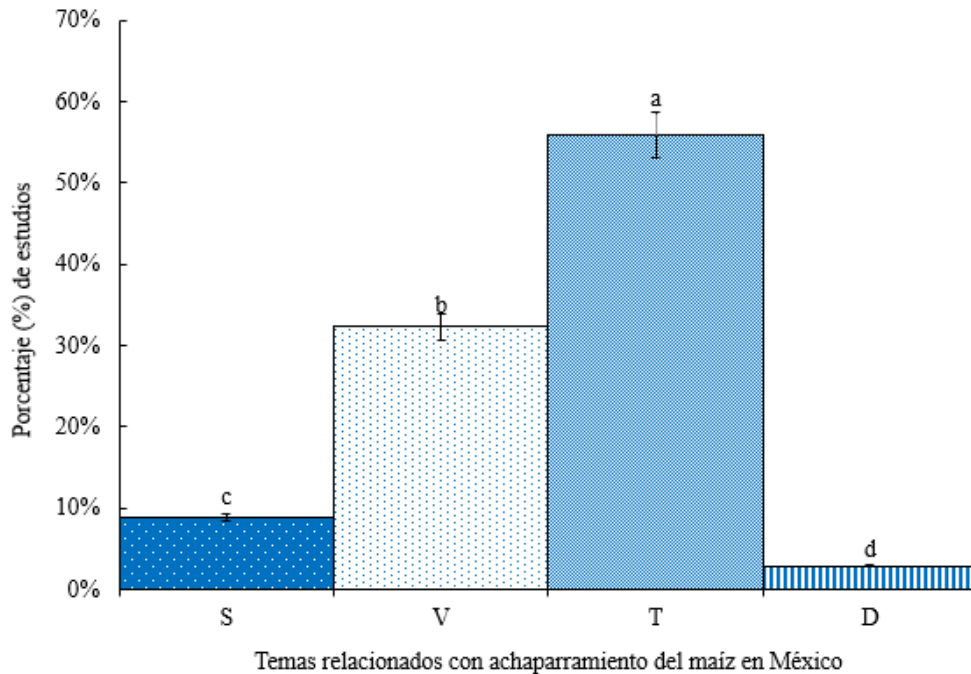


Figura 15. Porcentaje de estudios con relación los temas más frecuentes sobre el achaparramiento del maíz en México.

En el caso de los buscadores que arrojaron más información del tema central en México fueron Otros con un 24%, y Redalyc con 21%. Esto puede ser porque, en Otros la búsqueda de información se realizó con fines de investigación en México; Redalyc por su parte es un buscador que se originó en México. Y en menor medida están Proquest con 15%, Oxford Academic con un 12%, y los demás que variaron entre 3-6% de aportación (Figura 16).

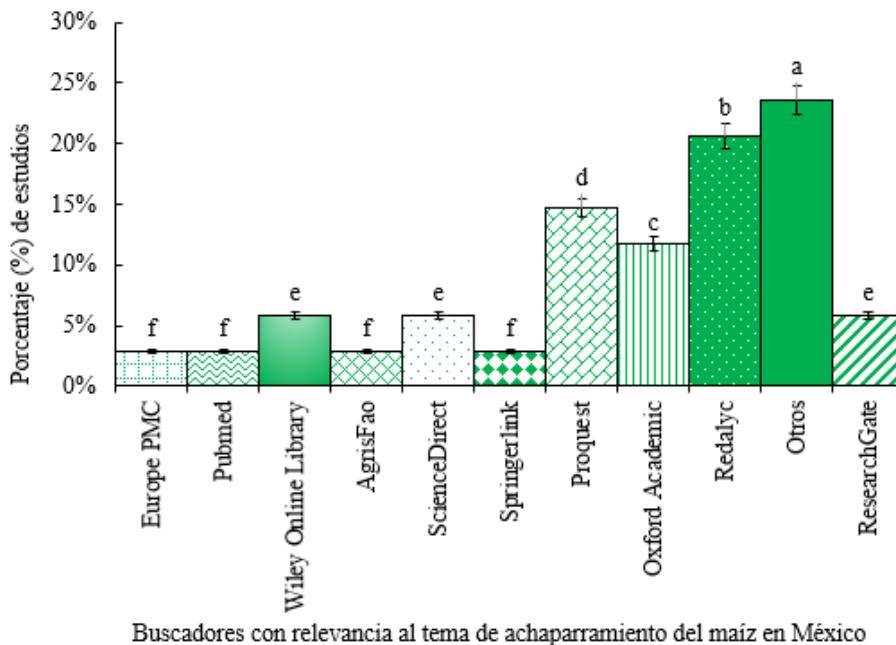


Figura 16. Porcentaje de estudios con relación a los buscadores donde se encontraron.

Por otro lado, en cuanto a la información recabada, a continuación, se sintetizó y tomó lo más relevante de los estudios incluidos, la cual se dividió a su vez en los temas ya mencionados. De forma resumida, para el caso de “*Spiroplasma kunkelii*” se enfoca en su patogenicidad, como la detección de genes o moléculas que pueden interactuar con *D. maidis*. Para el “Vector” se enfocan en su sobrevivencia ante ciertas condiciones como temporada de sembradío, temperatura, altitud de la zona de estudio, así como su interacción con *Spiroplasma kunkelii* ante dichas condiciones.

En el caso de “Distribución geográfica” menciona tanto nivel países como localidades de la distribución del vector, patógeno o la enfermedad como tal. Posteriormente se mencionan las pérdidas de producción y económicas en algunos casos de América.

Y finalmente “Tratamientos” que se subdividen en categorías y consisten en la creación de nuevos germoplasmas de maíz, la presencia de parasitoides, aplicación eficiente de insecticidas, control biológico, métodos agroecológicos, entre otros, tomando como objetivos tanto al vector como el patógeno para su control o erradicación. Además de presentar porcentajes de cada una de dichas categorías y los países con más contribuciones al tema.

### **8.3. *Spiroplasma kunkelii* (CSS)**

Uno de los primeros estudios sobre *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae) en México fue el de Bajet y Renfro en 1989, quienes en un periodo de octubre 1985 a marzo de 1988 en diferentes regiones del país observaron plantas de maíz con síntomas como manchas rojizas-púrpuras y rayas cloróticas, amarillentas en todas las zonas con elevación alta y usualmente aparecieron 7 días antes o después de la antesis. Conforme a sus resultados mencionan que dichos síntomas indican frecuentemente infección por CSS.

Tiempo después Oliveira *et al.*, 2002 informan que la etapa de llenado de grano también se considera adecuada para la detección tanto de CSS como fitoplasmas. Cabe señalar que, durante sus pruebas, en su evolución CSS mostró predominancia y mayor efecto perjudicial en el crecimiento y producción en comparación con la infección por fitoplasma, no se detectó sinergia entre ambos patógenos, y los síntomas fueron más evidentes a los 100 días después de la inoculación.

Actualmente, se sabe que dichos síntomas pueden también ser generados por otros patógenos, como fitoplasmas o diversos virus, por lo que es aún más tedioso diagnosticar con certeza a la enfermedad de achaparramiento, y se requiere de un análisis más exhaustivo como el análisis genético o genómico.

De los artículos seleccionados enfocados a *Spiroplasma kunkelii*, como se mencionó previamente, se orientaron hacia la patogenicidad o interacción con el vector que transmite CSD. La mayoría de los cuales enfatizaron su investigación en un análisis genómico y/o metabolómico y su posible rol en la interacción con *Dalbulus maidis* o la planta de maíz ya sea forma directa o indirecta, o su rol intrínseco en la bacteria como componentes clave para su control o erradicación; así como las implicaciones de factores externos como la temperatura o nutrientes como rol potencial de la bacteria.

En la tabla 4 se pueden observar la recopilación de datos más distinguidos reportados por dichas investigaciones, donde recalcan a genes, proteínas, enzimas, sistemas proteicos completos y fragmentos de ADN viral, como componentes relacionados a patogenicidad o parte de la interacción con el patosistema.

A mediados de este periodo de estudio, del otro lado del mundo en Francia Ranhand *et al.*, 1987 estudiaron el genoma de CSS, donde demostraron que el ADN cromosomal contenía secuencias homólogas a secuencias de plásmidos (pRA1) y secuencias de virus (SV3), lo que podría representar secuencias de inserción o sitios de recombinación genética.

De la misma manera Renaudin y Bové, 1994 indican que existen partículas de virus en forma de ADN circular o de cadenas simples que forman parte de algunas especies de Spiroplasmas. Los tipos SpV1 y SpV3 han sido observados en cepas de *S. kunkelii*, sin cápside o poliedros con cola corta son algunas de sus características. Más tarde, Bai y Hogenhout, 2002, reportan secuencias de ADN de SpV1 en su genoma, además de encontrar al gen homólogo *traK*, cuyas proteínas están envueltas en el transporte de factores patogénicos de forma extracelular.

Tabla 4: Recopilación de datos genómicos distinguidos para la categoría “Spiroplasma” relacionados con patogenicidad y/o con la interacción con *Dalbulus maidis*.

<b>Cita</b>	<b>País origen cepa.</b>	<b>Gen/biomoléculas vinculadas con la interacción o patogenicidad</b>	<b>Función</b>
Carpane <i>et al.</i> , 2012	Estados Unidos, Argentina, Brasil, Costa Rica, México, Marruecos.	<i>Skarp</i>	Gen que codifica una proteína membranal implicada en la fijación a células del insecto.
Zhao <i>et al.</i> , 2004	Costa Rica	FtsZ	Proteína del citoesqueleto clave en la división celular.
		FtsA <sup>1</sup>	Proteína de unión a ATP similar a actina con posible acción en división celular.
Davis <i>et al.</i> , 2004	Costa Rica	SkARPI	Proteína implicada en la fijación a la membrana intestinal del insecto vector.
		TraE y Mob	Proteínas transmembranales que actúan en sistema de secreción tipo IV.
		Sistema de secreción tipo IV	Proteínas de dominio involucradas en sistema de translocación de macromoléculas y conjugación.
		<i>oriT</i> y <i>palSK1</i>	Genes característicos en la familia de plásmidos conjugativos IncP.
Ozbek <i>et al.</i> , 2002	México	Fimbrias y pili	Estructuras proteicas con capacidad de adherencia a superficies.
Ammar <i>et al.</i> , 2004	México	Estructuras de puntas, similar a pili	Orientación y adherencia en la superficie de los hospedadores.
Zhao <i>et al.</i> , 2004	Costa Rica	Sistemas ABC	Involucrados en los mecanismos de resistencia a antibióticos naturales.
		SufB, SufC (proteína ABC), SufD, SufS	Recepción de hierro con posible vinculación a virulencia.
		Sistema PstABCS	Recepción de fosfato con posible vinculación a virulencia.
Bai <i>et al.</i> , 2004	México, Estados Unidos, Perú.	<i>traE</i>	Genes que podrían estar implicados en la formación de pili y por ende a la

(Tabla 4, continuación)

				adhesión, en la codificación de ATPasas, y la recombinación de ADN.
Ranhand <i>et al.</i> , 1987	Estados Unidos	pRA1 y SV3		Secuencias de ADN viral en Spiroplasmas
Renaudin y Bové, 1994	NM*	SpV1 y SpV3		Partículas de virus observados en cepas de <i>S. kunkelii</i> .
Breton <i>et al.</i> , 2008	Estados Unidos	Gen <i>pE</i> y proteína PE, polipéptido codificado por <i>soj</i>		Replicación y partición del plásmido pSKU146 implicado en la trasmisión.
Bai <i>et al.</i> , 2004	Costa Rica	PNPasa		Exorribunucleasa que podría estar envuelta en la regulación factores de virulencia.
		Factor de unión a <i>cmp</i> , CBF		Proteína requerida en la regulación de la replicación de plásmidos.
		Gen AtA		Podría estar implicado en la transferencia horizontal.
Bai y Hogenhout, 2002	México	SpV1 (ORFs)		Secuencias de ADN de fago observadas en genoma de CSS.
		Homólogo <i>traK</i>		Gen reportado en el transporte de factores patogénicos de forma extracelular.
		Sistema fructosa fosfotransferasa (PTS),		Se ha asociado a patogenicidad en <i>S. citri</i> .

<sup>1</sup>Primera vez reportado; \*NM: No lo menciona.

La implicación de componentes virales en CSS fue de los primeros hallazgos en determinar su rol patogénico, y podría pensarse a primeras instancias que la inserción de nuevo material genético podría proporcionarle gran variabilidad genética. Sin embargo, los resultados de Carpane *et al.*, 2012 indican que la variabilidad de sus aislados fue similar a la de los aislados de diferentes países, por lo que mencionan que la composición genómica de CSS de los aislados es altamente conservada.

Esta información es de vital importancia ya que con ello se puede descartar variables que vayan en contra de la estabilidad de los maíces resistentes a CSS, por lo que los autores indican que la probable inestabilidad de dichos maíces no es debido a nuevos patotipos de la bacteria, sino que de otros componentes del patosistema.

En ese mismo estudio, se reportan algunos polimorfismos en común, dentro de los cuales está *Skarp*, un gen que codifica una proteína membranal implicada en la adherencia a células de insectos (Carpane *et al.*, 2012). Una de esas proteínas es SkARP1, muy similar a la adhesina SARP1 de *S citri* envuelta en la adherencia a la membrana intestinal del vector (Davis *et al.*, 2004).

De los componentes fenotípicos con relación a la adherencia, Ozbek *et al.*, 2002 reportan por primera vez en Mollicutes fimbrias y estructuras de adherencia en células musculares, hemolinfa, en epitelio de túbulos, etc. de *D. maidis*, similares al pili las cuales también parecían conjugarse. Por su parte, Ammar *et al.*, 2004 también observaron “estructuras de punta” similares al pili en el lumen del intestino medio de algunas especies de Spiroplasmas, incluida *S. kunkelii* en *D. elimatus* y *D. gelbus*.

Bai *et al.*, 2004 reporta una serie de genes *traE* que podrían estar implicados en la formación de dichas estructuras y adhesión de estas, así como la codificación de ATPasas y recombinación genética. De los 4 subtipos de genes que reportan, *traE1*, *traE2*, *traE3* y *traE4*, *traE2* mostró ser el más conservado en diferentes cepas de *S. kunkelii*, además de ser encontrado para algunos casos en cromosoma y para otros en plásmidos.

Aunado a eso, encontraron una similitud de 62.3-89.9% con los dominios conservados VirB4, dominios encontrados en TraE y Mob reportados posteriormente por Davis *et al.*, 2005. Dichas proteínas son similares a componentes del sistema de secreción tipo IV, implicado en la transferencia de macromoléculas y que evolutivamente se ha relacionado con la maquinaria de conjugación en bacterias Gram-negativas y la liberación de efectores virulentos a células hospedadores eucariontes (Davis *et al.*, 2004).

Otros elementos característicos de otras bacterias patógenas encontrados en CSS fueron las secuencias de ADN *oriT* y palSK1 (palindrómica) por Davis *et al.*, 2004, quienes mencionan que son característicos en la familia de plásmidos conjugativos IncP. Bai *et al.*, 2004 reportan a fosforilasas de polinucleótidos conservadas, PNPasas, envueltas en la degradación de ARNm y observadas en *Salmonella enterica* en la regulación de factores de virulencia, lo que podría conferirles regulación en la expresión de genes y por tanto adaptación a múltiples ambientes (nichos, células de insectos, floema de plantas, etc.).

En ese mismo año Zhao *et al.*, también reportan complejos proteicos con posible relación a virulencia como PstABCS, identificado en *E. coli*, y SufBCD, en *Erwinia chrysanthemi*. Además, algo que podría aumentar su adaptabilidad de CSS es la existencia de sistemas ABC transmembranales, dominios de unión a ATP, a quienes vincularon en su mayoría con resistencia a antibióticos (MDR, por sus siglas en inglés).

Por su parte, Bai y Hogenhout 2002 encontraron 2 secuencias similares a las del sistema fructosa fosfotransferasa (PTS), quien ha sido asociado a patogenicidad en *S. citri*. Al realizar una mutagénesis dirigida a dicho operón bajó significativamente la patogenicidad en planta, por lo que al utilizar la fructosa de la planta interfiere con su fisiología normal, provocando clorosis, marchitez y atrofia como síntomas.

Por otro lado, algunos componentes que podrían ser clave para la regulación o control de poblaciones de *S. kunkelii*, se han relacionado con la replicación o crecimiento celular. Zhao *et al.*, 2004 clonaron el gen *ftsZ*, implicado en la división celular y cuya proteína FtsZ forma parte del citoesqueleto, y a FtsA (reportada por primera vez) una proteína de unión a ATP similar a la actina mostrada en bacterias incluyendo a *E. coli* y *B subtilis*, en la síntesis de peptidoglicanos y la esporulación, respectivamente. Sin embargo, *S. kunkelii* no lleva a cabo ninguna de esas rutas metabólicas, por lo que posiblemente la relacionan con la división celular o como una reliquia evolutiva.

Breton *et al.*, 2008 informan sobre las proteínas PE, encargadas de la replicación de plásmidos, cuyo gen *pE* se encuentra en el plásmido pSKU146 de *S. kunkelii*. Asimismo, reporta polipéptidos codificados por *soj*, implicados en la partición del mismo plásmido, como lo mencionan de igual forma Davis *et al.*, 2004. Y algunas proteínas requeridas en la regulación de dicha replicación, las reporta Bai *et al*, 2004, como factores de unión a *cmp* (CBF).

Cabe señalar que Bai *et al.*, 2004 encontraron al gen *AtA* en un análisis filogenético tanto en fitoplasmas (AY-WB) como en *S. kunkelii*, que podría estar envuelto en la transferencia horizontal, y que se sugiere puede ocurrir entre vectores por la contaminación de algunos patógenos en la boca con savia u otras excreciones, como los “Spiroplasma Like Organisms” (SLOs) (Ammar *et al.*, 2010). Este hecho hace más interesante el estudio del tiempo de transmisión.



Estos componentes aseguran ser claves en el entendimiento de su comportamiento fisiológico y patogenicidad, por lo que es posible con ello lograr un control antes o después de una prolongada interacción con su insecto vector. El uso de vectores como herramientas tal como pSci (Breton *et al.*, 2008), prometen un estudio más claro sobre dichos fitopatógenos.

En cuanto a la influencia de factores externos sobre la incidencia de *S. kunkelii*, se han reportado en mayor parte afines a la temperatura y nutrición. Galvao *et al.*, 2020 señalan que la temperatura podría ser un importante factor en la prevalencia de Spiroplasmas en áreas cálidas (25-30 °C), ya que encontraron 35% de Spiroplasma en muestras de maíz colectadas de diferentes locaciones de Brasil con ese tipo de clima.

Konai *et al.*, 1996 estudiaron las temperaturas óptimas de crecimiento de diferentes grupos de Spiroplasmas, incluyendo la del subgrupo I-3, donde pertenece CSS, quienes reportan un rango de 25-30 °C; mientras que los demás grupos crecieron en un rango más amplio. En un estudio más reciente, Sabato *et al.*, 2020 experimentaron el efecto de la temperatura en invierno-primavera (promedio 17 °C) y primavera-verano (promedio 23 °C) sobre la transmisión y periodo latente de fitoplasmas y CSS mediante el vector *D. maidis*. A los 30-40 días del periodo latente casi el 100% de las plantas presentaron síntomas; y además indican que la temperatura influye en la tolerancia de los patógenos, siendo que fitoplasma fue más tolerante a bajas temperaturas que *S. kunkelii*.

También se ha observado un cambio de composición nutrimental de plantas de maíz al ser expuestas con CSS. Oliveira *et al.*, 2002 mencionan que plantas de maíz infectadas por Mollicutes contienen menos proteína que plantas sanas, además de que muestran menor capacidad de consumir nutrientes; Spiroplasma específicamente mostró un efecto perjudicial en el consumo de magnesio, y por tanto efectos adversos en su crecimiento.

Este hecho se comprobó con Nome *et al.*, 2009, quienes compararon los cambios asociados a infecciones por Spiroplasma en la planta de maíz, dos niveles de magnesio en el suelo y sus combinaciones. Como resultados se obtuvieron que las plantas con bajo Mg mostraron síntomas similares a las plantas infectadas y con bajo Mg.

Estudios previos han mostrado que infecciones con *S. kunkelii* reduce la concentración de magnesio en plantas de maíz. Sugieren entonces que la expresión de síntomas podría estar

relacionado a la competición del catión entre la planta y el patógeno. Además, proponen que el magnesio pudiera influenciar la vía en que el patógeno invade la planta, permitiendo que el *Spiroplasma* entre a células jóvenes y permanezca vivo, proliferando dentro del citoplasma (Nome *et al.*, 2009).

#### **8.4. Detección de *Spiroplasma kunkelii***

Dada la importancia que ha tenido *S. kunkelii* en los últimos años en la incidencia de la CSD y su poca colaboración por su lento crecimiento en condiciones de laboratorio, la detección de CSS ha sido foco de varios investigadores, debido a lo cual se decidió recopilar algunos métodos postulados para un mejor manejo de CSS y de esta manera hacer más eficientes los ensayos (Tabla 5). Se exponen desde los indicios de su detección hasta métodos más recientes.

Chen y Liao, 1975 fueron los primeros en aislar satisfactoriamente a *Spiroplasma* del maíz que causaba CSD. Al cultivarlos en medio líquido y sólido C-3 modificado y microscopía de campo oscuro descubrieron la típica forma que hoy se conoce como “huevo frito” o colonias granuladas. También probaron que era una especie distinta a *S. citri* y comprobaron su patogenicidad en maíz mediante los postulados de Koch.

Posteriormente fue Whitcomb *et al.*, 1986 quienes propusieron el nombre “*Spiroplasma kunkelii*”, con el que se conoce hoy en día. Para llegar a identificarla utilizaron diversos métodos como medio de cultivo M1D a 20-30 °C, microscopía electrónica y de campo oscuro, pruebas bioquímicas, serológicas (ELISA), gel de poliacrilamida (PAGE), y análisis genómico. A partir de ese tiempo se comenzó a utilizar más frecuentemente la técnica de ELISA para la detección de CSS.

Gussie *et al.*, 1995 fueron unos de los primeros en observar el movimiento y multiplicación de *S. kunkelii* en la planta de maíz inoculada por *D. maidis* mediante la técnica ELISA (sándwich) de forma cuantitativa. La probabilidad en detectar CSS en diferentes órganos de la planta creció con el tiempo; mencionan que la edad y tamaño de la planta al tiempo de infección afectó el movimiento del patógeno, por lo que concluyen que debido a que CSS puede estar presente en varios órganos de la planta antes de que los síntomas aparezcan, CSS puede ser adquirida por las chicharritas antes de que los síntomas sean notables en campo.

Tabla 5: Recopilación de datos distinguidos para la categoría “Detección” relacionados con el agente etiológico, *S. kunkelii*.

<b>Cita</b>	<b>País de estudio</b>	<b>Método postulado</b>	<b>Parámetros de detección</b>	<b>Resultados</b>
Wei <i>et al.</i> , 2006	Estados Unidos	PCR tiempo real	Primers diseñados sobre secuencia del gen <i>SkApr2</i> (similar a adhesina) de 213 pb y prueba Taqman.	100 veces más sensible que PCR convencional. Altamente específico y confiable para <i>S. kunkelii</i> . Aplica para detección en vector y planta.
Bajet y Renfro, 1989	México	ELISA y Microscopía de campo oscuro (DFM)	Observación y Absorbancia.	ELISA es mejor que DFM.
Nome <i>et al.</i> , 2007	Argentina	Coloración de Edwardson y Christie para microscopía de luz	Coloración azul y reacción positiva a CSS.	Reacción positiva en células de floema en una nervadura de hoja de maíz.
Ammar y Hogenhout, 2005	Estados Unidos	Microscopía confocal láser de barrido con inmunofluorescencia (iCLSM)	Inmunomarcador verde con Alexa fluor para CSS, y yoduro de propidio rojo para los núcleos celulares.	>95% de tejidos y órganos de insectos infectados (Un reporte más completo)

(Tabla 5, continuación)

Barros <i>et al.</i> , 2001	Estados Unidos	Diseño de primers de gen espiralina para PCR.	Diversos tamaños de amplicones: 0.35-0.7 kpb.	Alta sensibilidad de detección. Mejores en campo: CSSF1/R1 y CSSF2/R6.
Carneiro <i>et al.</i> , 2003	Brasil	Protocolo de extracción de ADN	Conforme a la cantidad y calidad de ADN extraído.	Mayor cantidad y calidad de ADN comparado con los protocolos comerciales, además de ser rápido, versátil y de bajo costo.
Galvao <i>et al.</i> , 2020	Brasil	PCR Mutiplex	Amplicones de distintos patógenos (Spirplasma y fitoplasma)	de 89 de 100 muestras fueron positivas con 40%, 35% y 25% para fitoplasma, Spiroplasma y la mezcla de ambos, respectivamente.

Igualmente, Bajet y Renfro en 1989 utilizaron la técnica ELISA comparándola con Microscopía de campo oscuro (DFM, por sus siglas en inglés) para detectar a *S. kunkelii*. Como resultados obtuvieron que el método ELISA detectó mayor número de muestras positivas al patógeno que DFM. Esto porque ELISA puede detectar al patógeno completo o sólo componentes de éste, mientras que DFM es incierto lo que se puede observar con muestras con pocas poblaciones o dañadas, por lo que concluyen que es mejor ELISA que DFM.

Aunque la técnica ELISA fue muy innovadora en ese entonces y utilizada hasta la fecha, los diferentes tipos de microscopía siguen siendo un método complementario muy bueno para realizar diagnósticos de enfermedades ocasionados por diversos patógenos. Uno de los más utilizados hasta la fecha es la Microscopía de luz o de campo claro que, si bien no es tan eficiente como otros tipos de microscopía de hoy en día, sigue siendo de gran aporte.

Nome *et al.*, 2007 por ejemplo plantearon la detección de CSS mediante este tipo de microscopía de luz complementado con tinciones tipo Edwardson y Christie que permiten visualizar una coloración azul para reacción positiva. Con ello lograron observar dichos patógenos en células de floema (sin material genómico) en la nervadura de hojas de maíz.

O en el caso de Ammar y Hogenhout en 2005 quienes usaron un tipo de microscopía más avanzada y conveniente para este tipo de patógenos debido al tamaño que tiene, Microscopía Confocal Láser de Barrido con Inmunofluorescencia (iCLSM, por sus siglas en inglés), para observar su distribución en su vector *D. maidis*.

Este tipo de microscopía permite observar imágenes con mayor resolución en 3D con marcadores fluorescentes, por lo que les permitió descubrir más a detalle su distribución en diferentes órganos como en el intestino medio y posterior, cámara de filtración, túbulos de Malpighi, tejidos grasos, hemocitos, etc. Con ello pudieron concluir que el porcentaje de chicharritas con CSS detectado en varios órganos o tejidos fue mayor al 95%, y un 75% inocularon CSS en plántulas de maíz antes de ser observadas en iCLSM (Ammar y Hogenhout, 2005).

Los autores mencionan que iCLSM tiene ventajas sobre la microscopía de transmisión electrónica (TEM, por sus siglas en inglés) porque la examinación es más rápida, pueden ser procesadas mayor número de muestras, y la distribución de los patógenos pueden ser estudiados en todos los órganos o incluso el insecto entero. Además, provee imágenes 3D comparado con microscopía de epifluorescencia.

Otra técnica que en la actualidad es de las más usadas es la Rección en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en sus diferentes variantes, debido a la alta especificidad y eficiencia en detectar cualquier tipo de organismo mediante su material genético. Para ello se debe complementar con protocolos para extraer dicho material genético, que de igual forma ya existen una gran variedad de kits que hacen este proceso.

Sin embargo, dado a que CSS son bacterias muy pequeñas y difíciles de cultivar en laboratorio no existe algún kit comercial que haga más eficiente el proceso, por lo que Carneiro *et al.*, 2003 establecieron un protocolo práctico para la extracción de ADN específicos de Spiroplasma, con calidad adecuada para su uso en el análisis de la variabilidad

de este patógeno a través de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). Dicho protocolo obtuvo mayor cantidad y calidad de ADN comparado con los protocolos comerciales, además de ser rápido, versátil y de bajo costo. El uso de AFLP permitió confirmar la calidad de ADN.

Aunado a eso, se realizan las pruebas de PCR diseñando primers o cebadores específicos para amplificar ciertas zonas del genoma de CSS. Barros *et al.*, 2001 por ejemplo, diseñaron varios pares de primers del gen espiralina con tamaños de producto de entre 0.35-0.7 kpb, quienes obtuvieron buenos resultados, en muestras de campo y cepas de laboratorio, al mostrar alta sensibilidad con cantidades muy pequeñas de ADN como muestra (hasta 100 fg). Los pares de primers que hasta la fecha se usan por otros investigadores con muy buena eficiencia en muestra de campo fueron CSSF1/R1 y CSSF2/R6 (con tamaño de 0.5 kpb).

Wei *et al.*, 2006 por su parte, diseñaron primers para el gen *SkApr2* (similar a adesina), antes no reportado, con un tamaño de 213 pb usando PCR en tiempo real y complementada con prueba Taqman (fluorogénico). Con muestras, tanto en vector como planta, de hasta 5 fg. mencionan que fue 100 veces más sensible que la PCR convencional, altamente específico y confiable para *S. kunkelii*, por lo que no hizo reacción cruzada con la especie más parecida, *S. citri*.

Debido a que el achaparramiento puede ser causado por varios patógenos, la técnica más viable es la PCR multiplex, ya que detecta simultáneamente varios microorganismos en una sola reacción, favoreciendo además otros parámetros de similitud de cuadros clínicos (Bolívar *et al.*, 2013). Los síntomas de la enfermedad de achaparramiento pueden variar conforme al tipo de maíz, clima, periodos de siembra y tipos de vectores infectados (Sabato, 2017), por lo que esta técnica resulta ser simple y rápida (Galvao *et al.*, 2020).

### **8.3. Vector *Dalbulus maidis***

Como se mencionó anteriormente el vector *D. maidis* es el principal transmisor de los agentes causales de la enfermedad achaparramiento del maíz ya que, a comparación de otros vectores, los patógenos tienden a perdurar durante todo su ciclo de vida y llegar a expandirse ampliamente, por lo que su relación es de forma persistente-propagativa (Giménez-Pecci *et al.*, 2012).

Conforme a lo anterior, su rol en el cultivo de maíz ha sido foco de atención por los altos riesgos que puede representar en la producción y en lo económico. Es por ello que, en este capítulo se exponen algunas características a cerca de su evolución, ciclo de vida, morfología, apareamiento, su interacción con *S. kunkelii* y el cultivo de maíz a diversas condiciones, además de otros vectores que han sido reportados con actividad similar a *D. maidis*, con el fin de conocer las posibles causas que puedan ser clave en el aumento de sus poblaciones y por ende a la expansión de CSD.

Se sugiere que el centro de origen de *D. maidis* fue en los Valles del centro de México con una evolución estrechamente arraigada a los antecesores del maíz. (Nault, 1983), y que con el tiempo y dispersión del cultivo fue llegando a otros territorios. Sin embargo, no está definidas las razones por las cuales ha llegado a otros países (distribución del vector mostrado en el siguiente capítulo).

### **8.3.1. Variabilidad genética**

Diversos estudios han optado por encontrar una respuesta a ello, de manera que se han enfocado en el estudio de variación genética entre poblaciones de diversos sitios geográficos y evolución conforme al tiempo y espacio. Por ejemplo, a nivel genético en regiones ITS2 y genes mitocondriales mtCOI (genes que se han usado para evaluar la relación entre poblaciones de insectos, incluyendo hemíptera) no se encontró variación entre poblaciones de México y Argentina, aunque sí se han encontrado entre la morfología y reproductividad (Moya-Raygoza y Garcia-Medina 2010), esto ha sido asociado a cambios en la temperatura y no necesariamente en la genética (Palomera *et al.*, 2012). Aunado a eso en Brasil, Oliveira *et al.*, 2013 encontraron a poblaciones de *D. maidis* genéticamente similares.

Incluso, también encontraron fuerte similitud entre secuencia de ADN del patógeno entre países como Argentina, Brasil, California, Costa Rica, Florida y México (Palomera *et al.*, 2012, Aparecida *et al.*, 2004), tal como lo reporta Carpane, 2007 y *et al.*, 2012 encontrando gran similitud genética entre varias cepas de CSS, específicamente transmitida por *D. maidis* en el norte y sur de América. Esta poca variación del vector y patógeno sugiere la ausencia de barreras de espacio-tiempo entre poblaciones.

Lo anterior, podría ser el resultado de un corto tiempo evolutivo, a un número limitado de plantas hospederas, y por tanto también a un cambio limitado en la asociación bacteria y *D. maidis* e inclusive por la actividad monófaga de *D. maidis* (Palomera *et al.*, 2012).

Pese a lo dicho, existen algunos autores quienes reportan cierta variación genética. En regiones del centro-sur de Brasil reportan tasas relativamente altas de flujo genético entre poblaciones, con un 78% de polimorfismo loci (estudio detallado más adelante) mencionando que podría ser debido a su reproducción sexual, comparado con áfidos con poco porcentaje de polimorfismo que se reproducen por partenogénesis (Oliveira *et al.*, 2007).

Particularmente en México, entre cultivos de maíz separados a más de 800 km no encontraron diferencias genéticas entre poblaciones, pero sí en regiones separadas a sólo 4 km, donde fueron colectados en maíz y teosinte perenne *Zea diploperennis*. Esto sugiere que existen influencias ecológicas y antropogénicas, y no necesariamente geográficas (Medina *et al* 2012). Además, sugieren que la similitud genética entre poblaciones sea por la migración en temporadas bajas o secas (Triplehorn *et al.*, 1990).

Aunque se ha encontrado gran similitud genética en la mayoría de los estudios entre poblaciones de *D. maidis*, aún existen diferencias morfológicas y en ciertos hábitos, que les podrían conferir adaptación y sobrevivencia al entorno en el que se encuentren. Algunos factores a los cuales se lo atribuyen son cambios en la temperatura (T), latitud, altitud (A), germoplasmas de maíz, tipos de hospedadores, e incluso al tipo de agroecosistema (temporal, irrigación, sin cultivar, etc.)

### **8.3.2. Ciclo de vida conforme al entorno**

Anteriormente se mencionó el tiempo de ciclo de vida, desde la eclosión de los huevos hasta longevidad en estado adulto aludido por Valarezo *et al.*, 2009; sin embargo, se ha observado acortamiento o alargamiento de este conforme a cambios en la temperatura. Tsai, 1988 reporta un acortamiento de vida en cuanto aumentaba la temperatura, en especial el instar IV, la longevidad también se notó afectada tanto para hembras como para machos a 32.2 °C a comparación de la más alta que fue a 15.6 °C, por lo que concluye que el ciclo de vida del insecto depende de la temperatura.



Waquil *et al.*, 1999 corrobora esta tolerancia a la temperatura estudiando la incubación de huevos a diversas temperaturas y el desarrollo de ninfas a condiciones constantes, dando resultados un 70% de la eclosión en 9 días a 26 y 29 °C, la mayoría de las ninfas pasaron por cuatro estadios (76% población) a 26.5 °C, alcanzando el estado adulto en 15.7 días (~3.14 días por estadio); además de promediar una longevidad en adultos de 51.4 días y 26.3 días pasando de huevo a adulto. Con ello mencionan que para mantener la colonia de insectos es importante considerar los límites de temperatura máxima y mínima.

Tanto Walquill *et al.*,1999 como Tsai,1988 no observaron eclosión de ninfas por debajo de 20° C, el desarrollo embrionario se paralizaba totalmente. Estos resultados indican que el desarrollo embrionario de *D. maidis* es muy sensible a las variaciones de temperatura. Aunque ambas publicaciones obtuvieron resultados similares, variaron un poco por lo que se lo atribuyen a las plantas o cultivares usados, así como pequeños cambios en la T.

A pesar de no observar un desarrollo favorable a temperaturas mayores a 30 °C y menores de 20 °C, sí se han reportado sobrevivencia de chicharritas en campo de regiones con ese rango de T. Virla *et al.* 2003 reporta adultos de *D maidis* durante el invierno en elevaciones altas de Argentina (Santa María y Amplimpa); Summers *et al.* 2004 reporta también hallazgos en invierno y menciona que pueden sobrevivir largos periodos sin maíz.

En México también se reporta presencia en invierno, cuando las temperaturas bajan, y se observó cambios en su morfología, donde adultos hembras y machos fueron más oscuros y grandes (de Octubre y Marzo) que aquellos colectados en primavera (Mayo) (Larsen y Nault, 1994). En Brasil, también observaron que eran más grandes en época de secas (Agosto, Septiembre y Octubre) que en época de lluvias, y mantuvieron sus poblaciones en todo el ciclo fenológico, siendo las de mayor número a los 77 días pos-emergencia del maíz (Meneses *et al.*, 2016).

Y hablando de morfología, igualmente se registran algunas características distintivas en relación con latitud y altitud, y que difieran significativamente. Oliveira *et al.*, 2004 encontraron que individuos de regiones de Brasil con latitudes más altas (centro-sur) fueron más grandes, oscuros, y pesados que aquellos de bajas latitudes (noreste); y en cuanto a elevaciones más altas hubo una tendencia de aumento en peso, ancho de la cabeza, y longitud

de alas, además suelen ser más oscuros a comparación de zonas bajas que son más claros con manchas (Triplehorn y Nault 1985; Oliveira,1996).

Incluso notaron que las hembras siempre eran más grandes y pesadas que los machos en la misma localidad. Esto se relacionó con su sobrevivencia especialmente en temporada de secas invierno, lo que significaba mayor almacenamiento de energía (Larsen y Nault 1994). La temperatura de las localidades del grupo del noreste es más alta de que las del grupo del sur-centro, por tanto, la temperatura parece ser entonces un factor importante en la inducción de polimorfismo de *D. maidis*.

Dada las diferencias geográficas y condiciones climáticas, cabe señalar que Oliveira *et al.*, para el 2007 estudiaron la diversidad genética de estas poblaciones, obteniendo tasas relativamente altas de flujo genético entre poblaciones del centro-sur, sugiriendo migración por fuertes vientos dentro de la región y por el cultivo de maíz temporal. En cuanto a la parte de noroeste, Mossoro en Rio Grande do Norte, hubo similitud entre poblaciones, por lo que parece estar genéticamente aislada. No obstante, puesto que usaron poca muestra del noreste, tiene poca robustez, además de algunas inconsistencias en el análisis genético.

Por su parte, Moya-Raygoza y García-Medina, 2010 compararon la fecundidad y tamaño de cuerpo (longitud de alas y anchos de cabeza), de poblaciones de *D. maidis* en el centro de México (El Grullo y Zapopan) con poblaciones de Argentina (Los Nogales y El Mollar) ambos con elevaciones de altas y bajas. Las poblaciones argentinas de elevaciones altas mostraron mayor fecundidad que las mexicanas a altitudes altas; además, las hembras de Argentina de elevaciones altas fueron más grandes en tamaño de cuerpo que las argentinas de elevaciones bajas y mexicanas de altas y bajas altitudes.

Esto confirma lo que han encontrado otros estudios donde existe una relación positiva entre el cuerpo y fecundidad, particularmente en Hemíptera (Honek, 1993; Denno y McCloud, 1985; Rossi y Strong, 1991). De esta forma, conforme a lo anterior, coinciden en que existe una correlación entre altitud y ciertas características morfológicas de *D. maidis*.

La adaptación de poblaciones en elevaciones altas es esperada ya que, ellos han tenido que sobrevivir localmente o migrar o ambos, por las bajas temperaturas y falta de maíz en invierno. Su plasticidad en su fenotipo podría haber contribuido a su sobrevivencia, causado

por factores abióticos y bióticos (Moya-Raygoza y García-Medina, 2010). Además, conforme Triplehorn y Nault, 1985 las especies de *Dalbulus* más avanzadas ocupan elevaciones altas (tienen cambios en su morfología y fisiología, como se señaló), mientras que las especies tropicales son más plesiomórficas.

### **8.3.3. Apareamiento y movimiento**

Muy pocos estudios de han enfocado en determinar el comportamiento durante el apareamiento y movimiento de *D. maidis*, sobre todo en diferentes épocas del año o diferentes etapas del cultivo de maíz. Y es que estas dos cuestiones podrían ser clave en el control o manejo de poblaciones plaga.

El fitófago puede estar presente desde la plántula de maíz hasta su maduración y senescencia, dependiendo de las condiciones externas. Bajo condiciones de invernadero, Todd *et al.*, 1991 estudiaron el crecimiento y distribución espacial de 3 especies de *Dalbulus*, incluyendo a *D. maidis* en el ciclo completo de maíz. *D. maidis* completó 2 generaciones completas antes de la senescencia del maíz, se movían de forma vertical (a lo largo de la planta) y horizontal (hacia otra mata); mientras que *D. gelbus* y *D. quinquenotatus* no se movían de forma horizontal tan frecuente y sólo produjeron una generación sin moverse ni de forma vertical ni horizontal, respectivamente. Con ello, concluyen que el movimiento horizontal parece ser crítico para establecer una 2da. generación grande.

Aunado a lo anterior, comparando poblaciones de diversos países se ha observado que las de Brasil y México se mueven más rápido que las de Perú, Costa Rica y Colombia en respuesta a la agitación de la planta y también que los machos se mueven más rápido que las hembras de la misma especie (Heady y Nault 1985). Esto puede ser debido a su entorno y al tamaño de los especímenes, dado a que las hembras resultan ser más grandes y pesadas y podrían moverse más lentamente.

Con esto se podría explicar la asociación de algunas especies de *Dalbulus*, como *D. maidis*, como plagas potenciales y reafirmar lo mencionado por Summers *et al.*, 2004 sobre su dinámica al pasar de ser una plaga cíclica a persistente por cambios en el ambiente, e incluso su relación con el patógeno CSS, con el cual no se ve perjudicado, que es de forma persistente-propagativa (Giménez-Pecci *et al.*, 2012).

Este atributo hace de las poblaciones más frecuentes durante más tiempo en el año, y no sólo durante la temporada de cultivo de maíz. En la región sur del estado de Mato Grosso do Sul en Brasil se observaron dos picos de *D. maidis*, uno durante el período seco (entre julio y septiembre) y el otro durante el verano (entre diciembre y enero) en los años 2001 y 2002 (Ávila y Arce, 2008); caso similar fue reportado en el municipio de Anastácio, en un área de cultivo de maíz donde *D. maidis* fue capturado en período seco (abril y octubre) de 1998 y 1999 (Oliveira y Lopes, 2004).

Además, mismo Oliveira en el 2000 también observó capturas de *D. maidis* fuera de temporada en áreas de pastoreo en el municipio de Anastácio, donde el maíz no había sido cultivado por más de cinco años.

En México, Moya-Raygoza (1993) también encontró que *D. maidis* fue más abundante durante la estación seca, entre los meses de septiembre y febrero, mientras que Hernández-Vázquez *et al.* (1992) observaron dos picos poblacionales: uno en octubre, cuando el maíz estaba en la fase reproductiva, y otro más acentuado en enero, durante el período seco, cuando el cultivo ya había completado su ciclo.

Cabe señalar que, durante el estudio de fluctuaciones del vector usaron en su mayoría a trampas amarillas pegajosas como método de captura, siendo reportadas como mejores las instaladas a 0.5 m que las colocadas a 1.5 m de altura, tanto en zonas de cultivo de maíz como en pastizales (Oliveira, 2000; Ávila y Arce, 2008); aunque Meneses *et al.*, 2016 en sus ensayos obtuvo mayor número a 1.5 m, pero dependerá la etapa en la que se encuentre el cultivo ya que la chicharrita suele moverse (Todd *et al.* 1991). Además de que el color amarillo es un gran estimulante y atractor para *D. maidis* (Todd *et al.*, 1990a).

Por otro lado, para llegar a entender parte de la generación de dichos picos de poblaciones de *D. maidis*, es indispensable tomar en cuenta otros factores, además del ambiente, como la reproducción sexual. Muy pocos estudios se han enfocado en estudiar esta actividad tan minuciosa, y más aún porque las hembras sólo se aparean una vez en su vida (Heady *et al.* 1986) de modo que vuelve su estudio todavía más retador.

Ramírez *et al.*, 2014 por ejemplo, registraron la duración y movimientos desde el cortejo hasta el apareamiento, pasando por un comportamiento de transición, obteniendo un

promedio de 110.04 min y 51.61 min, respectivamente; sin embargo, reportes previos de otras especies de *Dalbulus*, registran una duración de 8-16 min para el cortejo y 1-4 min para el apareamiento (Heady *et al.* 1989). Estas diferencias de duración mencionan que podrían ser por el riesgo de depredación y competencia entre machos durante la actividad.

En el transcurso del cortejo, se observó que el contacto físico no es esencial, por lo que podría haber una posible comunicación acústica y química durante este proceso. Los machos mostraban comportamientos de transición con más frecuencia que las hembras, siendo las alas en abanico, caminar y acercarse las principales; mientras que las hembras estaban más en descanso o con movimiento de abdomen (Ramírez *et al.*, 2014).

### **8.3.4. Temporada de secas: Sobrevivencia**

Conforme a lo anterior, se sugiere entonces que las condiciones climáticas, la temperatura altitud y latitud principalmente, influyen en el comportamiento y fenotipo de las chicharritas, sobre todo en etapas ninfales y que se ve reflejado en etapas adultas (Oliveira *et al.*, 2004). ¿Pero qué pasa en condiciones muy extremas? ¿Con temperaturas muy bajas o poca disponibilidad de alimento?

Puesto que se ha presenciado a *D. maidis* en invierno (Virla *et al.* 2003; Summers *et al.* 2004; Larsen y Nault, 1994), algunos han experimentado su tolerancia a bajas temperaturas y han encontrado que podría sobrevivir a una exposición de -5 °C (en un máximo de 8.7 hrs., LT50) (Larsen *et al.*, 1992, 1993; Pitre 1966).

Además, puede durar periodos arriba de 9 semanas con pura agua, o sobrevivir en arena húmeda por al menos 2 meses (Larsen *et al.*, 1992), entonces podría sobrevivir en campos de cultivo con periodos en ese rango entre siembras. Incluso se ha reportado mayor resistencia en condiciones de secas al estar infectado con CSS u otros Mollicutes, comparado con individuos no infectados (Nault 1990, Ebbert y Nault 1994, Hogenhout y Ozbek 2002).

Para probar esta resistencia, Ebbert y Nault, 1994 usaron a la avena (como hospedador alimenticio) y arena húmeda como reservorio de ninfas de *D. maidis*, expuestas a *S. kunkelii* a 10-20 °C y con ello probar si aumentaba o no su sobrevivencia; durante 8 semanas en condiciones controladas creció su sobrevivencia. Y efecto similar encontraron los mismos en 2001 con ninfas expuestas a 15°C y 31°C durante 6 semanas en arena húmeda. Pero no

concuera con los ensayos de Moya-Raygoza *et al.*, 2007, quienes obtuvieron números similares de adultos infectados o no, por lo que indican que posiblemente sobreviven más cuando CSS es adquirido en estado ninfal y no adulto.

En cuanto a hospederos, Summers *et al.*, 2004 mencionan que algunas hierbas, plantas sentiles y voluntarias desarrolladas en invierno son el punto crítico para prolongar la sobrevivencia de los vectores, por lo que acortan el tiempo en que se encuentran sin alimento. Para pasar a ser una plaga cíclica a persistente, menciona que es muy probable que sea por cambios en su genética causados a su vez por bajas temperaturas y cambios en la forma de cultivo en la región.

Al igual que Summers *et al.*, 2001, Moya-Raygoza *et al.*, 2007 mencionan que los pastizales o hierbas perennes muy probablemente le sirven a *D. maidis* durante el invierno para alimentarse o refugiarse, más no para reproducirse. Aunado a eso, en el caso de México han prevalecido en lugares de cultivos de maíz con irrigación, más no en hábitats libre de maíz en elevaciones altas en la estación seca; aunque si prevaleció en pastos silvestres después de la cosecha. Y en este caso, cabe señalar, no hubo diferencia significativa en su supervivencia al exponerse o no a *S. kunkelii* en las estaciones secas.

Y aunque no encontraron en gran número al vector en sitios con altitud alta en la estación seca, Moya-Raygoza y García-Medina, 2010 indican que los adultos pueden sobrevivir sin maíz por algunos meses, por ejemplo, Poza Rica, El Batán o Tlaltizapan (Ebbert *et al.*, 2001); mientras que en los sitios con elevación baja tienen maíz disponible para las chicharritas todo el año.

Los ecosistemas perennes permiten que sea un parche importante para que puedan mantenerse en refugio a los cambios del ambiente, protección contra enemigos naturales y estados de hibernación (Moya-Raygoza, 1994; Moya-Raygoza, 2002). Algunos son pastos silvestres como *Cynodon plectostachyum*, *C. bromoides*, *C. gayana*, *C. dactylon*, y *P. plicatulum* (Moya-Raygoza *et al.*, 2007), vegetación espontánea: *Bromus* sp., *Cynodon* sp., *Cyperus* sp., *Digitaria* sp., y *Sorghum* sp., así como plantas de maíz voluntario (Pitre 1967, Virla *et al.* 2003, Summers *et al.* 2004, Moya-Raygoza *et al.* 2007a; Carloni *et al.*, 2013).

Y en algunas áreas donde siembran otro tipo de cultivo, también pueden ubicarse en épocas de invierno, cultivos como alfalfa, triticale, pasto Jonhson, y en hierbas adyacentes o dentro de campos de maíz (Summers *et al.*, 2004). Y algunas otras que han sido reportadas como hospederas para alimento y reproducción (de Agudelo *et al.*, 2001): avena (*Avena fatua* L.), sorgo (*Sorghum halepense* L. Pers.), cebada, (*Hordeum vulgare* L.), *Rottboelia* spp. y aster (*Callistephus chinensis* Nees) (Purcell, 1988). Y otros donde no se especifica su rol: el apio (*Apium graveolens* L.), otros pastos, *Solanum marginatum* L (Tsai y DeLong 1989) y papa (*S. tuberosum* L.) (Stoner 1965).

Adicionalmente, algunos hospedantes alternativos han sido probados como posibles opciones para reproducción de *D. maidis*, como el sorgo, pero no parece ser un hospedante adecuado (Waquil *et al.*, 1999). Sin embargo, en un experimento de campo, se han encontrado adultos (Waquil 1997) y huevos (Waquil *et al.* sin publicar) de *D. maidis* en plantas de sorgo, lo que sugiere la existencia de biotipos.

En México se reporta a *Tripsacum dactyloldes* apropiado como hospedador de reproducción, tanto para crianza y oviposición (Tsai, 1988), al demostrarse que pudo mantener a *D. maidis* por 5 generaciones, aunque el desarrollo fue más lento y la longevidad se redujo significativamente (Pitre *et al.*, 1966).

Oliveira *et al.*, 2013 por su parte, no encontraron a *D. maidis* en hospederos alternativos adyacentes como lo proponen Larsen *et al.*, 1992; Summers *et al.*, 2004; y Moya-Raygoza *et al.*, 2007. Sin embargo, proponen que, en lugar de ubicarse en dichas hierbas, especies de *Zea* y *Tripsacum* que son comunes en México y Centroamérica (Nault, 1990), su estrategia de *D. maidis* en Brasil es migrar largas distancias en busca de nuevos cultivos.

### **8.3.5. Migración**

Como posibles estrategias de sobrevivencia de *D. maidis* hasta ahora conocidas se resumen en el uso de hábitats adyacentes a campos de maíz, en cultivos por irrigación, o uso de restos culturales o vegetación cerca de plantaciones; además de migración y dispersión (Nault, 1990 y Larsen *et al.*, 1992).

Esta hipótesis de migración es consistente con los estudios realizados por Taylor *et al.*, 1993, quienes evaluando la actividad de vuelo de *D. maidis* a diferentes temperaturas de crianza,

luminosidad y condición de la planta hospedera, sugirieron un posible comportamiento migratorio para esta especie. Asimismo, en condiciones simuladas al final del ciclo de maíz, han encontrado que, con un viento adecuado en campo podría permitirle recorrer grandes distancias (Nault 1990, Taylor *et al.*, 1993).

Además, Oliveira *et al.*, 2013 sugieren que los individuos de *D. maidis* que migran son capaces de diferenciar entre el suelo arado y con vegetación como pista visual para ubicar nuevos cultivos de maíz. Nault, 1985 en México y Gámez y León, 1985 en Centroamérica observaron aparición repentina de *D. maidis* sobre siembras de maíz después de la germinación.

En cuestión de México, si bien sólo hay 10% de maíz irrigado del total sembrado en México, los sitios están bien distribuidos en el país. Esto provoca que las chicharritas no necesitan viajar largas distancias para colonizar nuevos cultivos. Por ejemplo, en Zapopan, Jalisco su tipo de cultivo del maíz es de forma temporal, pero está rodeado de 4 sitios con maíz irrigado (mínimo a 70 km del lugar) (Moya-Raygoza *et al.*, 2007).

Las poblaciones de *D. maidis* en Zapopan, además, han sido reportadas con el agente etiológico CSS por lo que también proponen que vectores de altitudes bajas pudieron haber migrado hasta ahí, ya que el tamaño de su cuerpo le permitiría moverse grandes distancias. (Moya-Raygoza *et al.*, 2007, 2012).

Aunque existen características que le pueden conferir habilidades de migración a *D. maidis* y que incluso han concluido migración de México hacia California, EUA en primavera (Purcell, 1988; Petri *et al.*, 1967), que conlleva recorrer grandes distancias, Summers *et al.*, 2004 lo ve improbable por la distancia y latitudes que hay a través de estos.

Finalmente, el fenómeno de migración podría explicar los resultados que han obtenido sobre la similitud genética de *D. maidis* mencionados por Oliveira *et al.*, 2007, 2013, Triplehorn *et al.*, 1990 y Palomera *et al.*, 2012. Aunque no sus cambios en su morfología y algunas funciones fisiológicas, que están más relacionados a cambios en el ambiente, y que sin duda es respuesta de su resiliencia y adaptación a dichos cambios.



### 8.3.6. *Interacción con Spiroplasma kunkelii*

La penetración del estilete de *D. maidis* mientras se alimenta de plantas de maíz es similar al contacto e ingesta de floemas de otros hemípteros, pero el hallazgo más importante encontrada por Carpane *et al.*, 2011 fue la larga duración de la actividad, probablemente por periodos de observación más largos, esto mediante un análisis con la técnica de Gráfico de Penetración Eléctrica (EPG, por sus siglas en inglés). Aunque sólo se necesitan períodos cortos de entre 15 o 30 minutos para que inocule el patógeno a las plantas (Ramirez *et al.*, 1975; Alivizatos y Markham 1986a; Carpane, 2007)

Como se mencionó anteriormente, *S. kunkelii* tiene una relación persistente propagativa con su vector *D. maidis* (Giménez-Pecci *et al.*, 2012), por lo que sugiere una transmisión más efectiva, con periodos de adquisición, latencia e inoculación más cortos y por tanto más expansión de la enfermedad a hospedantes.

Los periodos antes dichos, serán conforme a las condiciones del entorno, pero se ha registrado para el periodo de adquisición un promedio de 7 días, para el de incubación 21 días, e inoculación 7 días, en cuanto a latencia en el vector se reporta en 17-23 días a  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  (Nault, 1980).

Estos periodos han sido evaluados para determinar la efectividad de transmisión de CSS mediante *D. maidis*. En regiones templadas y subtropicales de Argentina, donde se ha visto la enfermedad durante todo el año (Giménez Pecci *et al.*, 2002a,b; Giménez Pecci y Laguna, 2004), fueron colectados algunos especímenes tanto del vector y plantas de maíz (*Zea mays* cv pop zélia) para evaluar esta transmisión en condiciones controladas; con una densidad de 5 insectos por planta se observó una transmisión de CSS del 39% de los casos; y observaron una relación directa entre la concentración del patógeno y la severidad de los síntomas de la planta (Carpane *et al.*, 2005; Gussie *et al.*, 1995)

Los síntomas comienzan a manifestarse aproximadamente después de 40 días de la transmisión. Aunque otros autores como Bradfute *et al.*, 1981; Bajet y Renfro, 1989 han reportado periodos más cortos, 15-30 días, esto podría ser por una temperatura más alta (Carpane *et al.*, 2005).

Además, otras causas posibles, en un estudio de transmisión, entre la variación entre los síntomas severos y la concentración del patógeno son: la cantidad inicial del inóculo, los insectos colectados no todos están enfermos, la agresividad de las variantes de patógeno difiere, o variación genética del hospedador (Carpane *et al.*, 2005).

El uso de diferentes genotipos de maíz también podría manifestar diferentes síntomas en las plantas, pues en el estudio de Carpane *et al.*, 2005 se observó sólo clorosis bien marcada o no a comparación de las plantas colectadas que tenían franjas rojas en los márgenes.

La habilidad de transmisión de Spiroplasmas por *D. maidis* también se ha notado que puede diferir conforme a la altitud, siendo que en altitudes bajas tienen un periodo medio de latencia corto, mayor capacidad vectorial total (100%, individuos transmiten por lo menos una vez después que lo adquieren) y a través del tiempo, lo que explica por qué se encuentra distribuido preferentemente en altitudes bajas a través de América Latina (Moya-Raygoza *et al.*, 2002). Además, Ebbert *et al.*, 2001 sugiere que las poblaciones de altitudes altas tienen menos probabilidad de infectar a maíz sano con CSS que las colectadas de otras poblaciones.

Aunado a eso, Ebbert y Nault, 1994 reportan que las poblaciones de *D. maidis* con CSS de altitudes bajas en México sobrevivieron más en condiciones ambientales adversas. Expusieron tres poblaciones de *D. maidis* a CSS y encontraron que la población del Grullo (970 msnm) tuvo mayor porcentaje de sobrevivencia comparativamente con poblaciones de elevaciones altas como Las Joyas (1,950 msnm) Jalisco y Tepexpan (2,250 msnm), cuando fueron mantenidas bajo tres regímenes alimenticios (sin alimentarlas, alimentándolas con avena, o maíz).

En cuanto a la localización de CSS dentro de *D. maidis*, se ha reportado en el intestino medio, hemolinfa, túbulo de Malpighi, y células musculares (Ozbek *et al.* 2002); a otros tipo de organismos similares a Spiroplasmas (SLOs, por sus siglas en inglés) en el lumen del intestino asociado a las microvellosidades (Ammar *et al.*, 2010); y también a CSS visto en otros vectores *Dalbulus*, como *D. elimatus* y *D. gelbus* en sitios como, lumen del intestino medio entre las microvellosidades, perpendiculares a la membrana plasmática apical de las células epiteliales, en formas pleomórficas, y dentro del citoplasma de células epiteliales del intestino medio (Ammar *et al.* 2004).

La presencia de células de CSS en otras especies de *Dalbulus* sugiere que están envueltas en la orientación y adherencia con las células huésped, y con ello a factores de virulencia (Ammar *et al.* 2004), por lo que otros vectores son capaces de transmitir a CSS, pero es patogénico para ellos, comparado con la chicharrita del maíz, con quien hasta se propone un beneficio mutuo (Ebbert y Nault, 1994).

Este beneficio se puede asociar a la selección de entre el vector y el patógeno en su distribución (Nault, 1990), ya que, aunque *D. maidis* se encuentra desde el nivel del mar hasta los 3,200 msnm a través de América Latina, es más común encontrarlo en altitudes bajas (Moya-Raygoza *et al.*, 2002).

Además de la distribución, Ebbert y Nault, 1994 observaron que las infecciones por *S. kunkelii* proporcionan algunos beneficios a *D. maidis*, como una mayor supervivencia, especialmente de las hembras, a temperaturas entre 10 y 20 °C (típicas en medias y altas elevaciones del sur a meseta central en invierno en México). Por lo tanto, bajo ciertas condiciones la infección por CSS puede beneficiar a su vector, y jugar un papel importante en las estrategias de sobrevivencia de *D. maidis* en invierno.

Sobre todo, en el estado hambruna, prolongando el tiempo antes de la necesidad de alimento. Los cambios fisiológicos en insectos provocados por patógenos están bien documentados, incluyendo aquellos que incrementan los niveles de trealosa y glucógeno (Thomson, 1993), lo que podría promover la síntesis de carbohidratos en *D. maidis* como resultado de la infección por CSS, una vez se le niegue el alimento (Ebbert y Nault, 1994),

Como se indicó anteriormente, *D. maidis* puede tolerar temperaturas tan bajas como -5 ° en el campo, pero no está claro si lo hacen sin alimento. Dado esto Ebbert y Nault, 1994 sugieren entonces 4 estrategias de sobrevivencia: 1) el vector y patógeno hibernan en plantas alternativas para alimentarse o en insectos vectores alternos; 2) *D. maidis* hiberna en hospedador alternativo y CSS en *D. maidis*; 3) *D. maidis* y CSS hibernan en ninguna planta hospedadora; o 4) *D. maidis* infectado migra a regiones donde el maíz se siembra, reestableciendo poblaciones de ambos cuando regresan a elevaciones altas a inicios del verano.

Estudios han sugerido que ni CSS, ni *D. maidis* tienen hospedadores de alimento alternativos que sirvan para el invierno. Aunque los pastos como *Tripsacum* han sido evaluados como hospedadores, no son buenos como alimento o para crianza en el campo, además son inmunes a CSS (Pitre, 1970; Nault 1980). Y aunque experimentalmente CSS ha sido transmitido a dicotiledóneas, en campo sólo se transmite a maíz y otras especies *Zea* (Nault 1980), la mayoría anuales.

Como en el caso que presentó Palomera *et al.*, 2005, quienes no encontraron presencia de la bacteria en adultos de *D. maidis* colectados en pastos que crecieron en áreas de altitud alta con maíz de temporal (Sayula y Zapopan, Jalisco), pero sí en adultos colectados en maíz en estado de senectud (de Octubre) y en estado de plántula (de Mayo y Junio).

Su estudio de Ebbert y Nault, 1994 sugiere que la infección con CSS promueve la sobrevivencia en hospedadores alternativos para alimento. Para la estación seca usan hospedadores que podrían estar confinados a bajas elevaciones, ya que no se ha visto a *D. maidis* alimentarse en esos hospedadores en regiones por arriba de 2000 msnm. Lo que podría provocar entonces su migración a regiones debajo de esa altitud. Cabe señalar que, Neff, 1986 mostraron que las hembras infectadas de *D. maidis* volaban más que las no infectadas, argumentó que la infección podría afectar el comportamiento de migración; de igual manera Ebbert *et al.*, 2001 menciona que es más probable que vuelen en cámara de vuelo que las no infectadas.

Para el 2001, Ebbert y Nault, evidenciaron que la adaptación local de una población de chicharritas con los patógenos (CSS y MBSP) es simpátrica, por lo que comprueban con estudios anteriores que la interacción fenotípica entre *D. maidis* y patógenos de la planta es mutualista, siendo esta asociación considerada como modelo potencial para estudios de adaptación local.

Es un hecho entonces que el vector *D. maidis* sirve como reservorio natural de Mollicutes que infectan al maíz, al menos en Mato Grosso do Sul, Brasil. Al tomar muestras de chicharritas en campos con maíz sembrado anualmente y otro donde no se había sembrado por varios años, y se confinaron a sembradíos de maíz sano en invernaderos. En los bioensayos de transmisión dos años después, se detectaron de 2-20% de *S. kunkelii* y 1-4% de fitoplasmas en individuos colectados. La aparición de estos adultos infecciosos, aún en las

áreas donde no se había cultivado, sugiere que los Mollicutes fueron transportados fuera de temporada mediante la migración de *D. maidis* (Oliveira *et al.*, 2002)

Esto refuerza la hipótesis de que *S. kunkelii* puede sobrevivir en el vector, en ausencia de la planta huésped, fuera de temporada (Ebbert y Nault, 1994), especialmente porque tiene una relación propagativa con el vector. Inclusive, Madden *et al.* 1984 demostraron que *S. kunkelii* no es patógena para *D. maidis*, no afectando la longevidad ni la fecundidad de los adultos a temperaturas entre 20 y 29 °C.

Lo anterior también lo demostró Nault, 1985, quien menciona que *S. kunkelii* no afecta significativamente la longevidad o fecundidad de su vector más eficiente, *D. maidis*, además es patogénico para otras especies de Dalbulus.

Finalmente, así como la temperatura influye en el vector, también lo hace con la prevalencia de sus patógenos como fitoplasma y Spiroplasma (Oliveira *et al.*; 2007, 2015; Sabato *et al.*, 2013). Galvao *et al.*, 2020 señala que fitoplasmas prevalece mejor en áreas medias y Spiroplasma en áreas cálidas (25-30 °C), por lo que la temperatura jugaría un rol potencial en el entendimiento de la enfermedad. Estas temperaturas coinciden con los ensayos de Konai *et al.*, 1996 (mencionado en el capítulo previo), quien refiere una temperatura óptima para CSS en ese rango.

Ese dato, además, concuerda con México, donde fitoplasmas se encuentran más en altitudes altas y temperaturas templadas en sureste (Pérez-López *et al.*, 2016); y CSS en bajas altitudes con temperaturas altas (Moya-Raygoza *et al.*, 2007).

Cabe recalcar, como se mencionó anteriormente, que se ha comprobado que la sobrevivencia de dichos vectores aumenta al ser expuestos a CSS a temperaturas no óptimas (10, 15 y 31 °C) en estado ninfal (Ebbert y Nault, 1994) a comparación de chicharritas en estado adulto en temporada de secas a 26 °C (Moya-Raygoza *et al.*, 2007), de modo que podría influir tanto la temperatura (Ebbert y Nault, 2001) como la edad de la chicharrita (Moya-Raygoza *et al.*, 2007) al exponerse a CSS en su sobrevivencia.

### **8.3.7. Plantas de maíz y su defensa.**

Dada la importancia del vector *D. maidis* sobre el cultivo de maíz por algunas razones ya expuestas, es necesario indagar su interacción con la planta de maíz. Anteriormente ya se

hizo mención sobre la respuesta inmunitaria de la planta de maíz con respecto a los insectos, incluyendo a *D. maidis*, no obstante, aquí se plantean algunos estudios específicos sobre la respuesta de ciertos tipos de maíz al ataque del vector, así como su manejo que podrían ser una posible estrategia de control del vector. Introduciendo parte de los tratamientos propuestos en el capítulo 5.

Las plantas producen y emiten numerosos compuestos volátiles orgánicos (VOCs, por sus siglas en inglés) que no sólo actúan como un aroma, sino que su importancia radica en que brinda señales para otros organismos, e incluso para la misma planta, además pueden modificar el entorno de las especies que lo producen, sus vecinos y enemigos (Marín-Loaiza y Céspedes, 2007). Es por ello por lo que ha sido foco de atención para algunos investigadores en el área agronómica.

Por ejemplo, Coll-Aráoz *et al.*, 2019 evaluaron la respuesta olfativa del vector *D. maidis* hacia compuestos volátiles orgánicos de 3 tipos de maíz, un híbrido templado, híbrido tropical y una variedad local (Argentina). El híbrido templado tuvo significativamente más VOCs que el tropical o local, donde dominada el linalol; el vector prefería más al templado y también al tropical al aplicarle una solución de linalol de 0.0001%, indicando que este compuesto podría ser parte de una mezcla de atrayentes. Esto podría servir como método de control, con trampas atrayentes o cultivos trampa.

Para el 2020 Coll- Aráoz *et al.*, reporta estos 3 mismos tipos de maíz comparando la liberación de volátiles al ataque de *D. maidis*. El maíz local produjo 6 veces más cantidad de volátiles inducidos que los híbridos después del ataque de chicharritas. Las hembras prefirieron los olores de plantas sanas sobre las atacadas sólo en la variedad local, no discriminaron entre los híbridos atacados y no atacados. Adicional a esto, observaron que la avispa parasitoide *Anagrus virlai* (Hymenoptera: Mymaridae) fue capaz de detectar los olores del maíz local atacado, al contrario de la prueba con los híbridos sano y atacado donde no fue capaz de discriminar.

Esto indica que, los germoplasmas domesticados podrían haber perdido la habilidad no sólo se liberar volátiles que evitan el ataque de herbívoros, sino de atraer también a enemigos naturales en un sistema tritrófico (Coll- Aráoz *et al.*, 2020). Además de que el olfato del

vector podría jugar en el rol de selección de hospedador en distancias cortas, donde surge la capacidad de respuesta de parte de las plantas (Coll- Aráoz *et al.*, 2019).

Otros compuestos orgánicos que podrían explicar en parte los mecanismos de defensa contra *D. maidis* son el ácido salicílico y ácido jasmónico, donde el primero se han notado en alta expresión ante el ataque en plantas de maíz, comparado con altas expresiones del segundo en teosintes. Esto sugiere un cambio de mecanismos de defensa a través de su domesticación y podrían ser una pista razonable de la adaptación del vector, quien se ha observado mayor preferencia por el maíz que su progenitor teosinte. (Jones y Medina, 2020).

Virla *et al.*, 2010 por su parte, investigaron la relación entre el maíz Bt, quien expresa la proteína *cry1F* para controlar al gusano cogollero (plaga objetivo), y plaga no objetivo la chicharrita del maíz, y determinar si tiene alguna influencia sobre la oviposición. Las hembras ovipositaron más huevos en plantas Bt, pero la tasa de eclosión de huevos se vio afectada negativamente (posiblemente porque el maíz Bt contiene más lignina en sus hojas, y es difícil de romper).

Además, determinaron la preferencia de los adultos en campo, donde las poblaciones fueron más altas en el maíz Bt que maíz no Bt de la misma línea; mencionan que esto podría ser por: los efectos pleiotrópicos (efectos fenotípicos o caracteres distintos y no relacionados) del maíz Bt que los atrae, una posible competición directa con el gusano cogollero en usar el verticilo como refugio, y/o un ataque diferencial de enemigos naturales en maíz no Bt (Virla *et al.*, 2010).

Aunado a lo anterior, Badji *et al.*, 2004 encontró correlación significativa entre el gusano cogollero y la chicharrita del maíz, *D. maidis*, en el cultivo de maíz en Brasil, sugiriendo una posible interacción pasada por alto, la cual sería interesante indagar.

Por otro lado, el manejo de cultivo también influye en el agroecosistema. Para el 2022, Virla *et al.*, evaluaron los efectos de la fertilización nitrogenada en campos de maíz sobre *D. maidis* y la incidencia de la enfermedad que trasmite, así como el nivel de parasitismo en los huevos del vector. La cantidad de fertilizante nitrogenado utilizado influyó significativamente en la densidad de la chicharrita del maíz y, en consecuencia, en el parasitismo por parasitoides de huevos, pero no en la incidencia de la enfermedad.

Los síntomas de las enfermedades fueron mucho menos evidentes en las plantas que recibieron mayor fertilización. Con ello concluyen que el manejo de la fertilización nitrogenada en los cultivos de maíz puede mitigar los efectos negativos de la enfermedad de achaparramiento del maíz sin afectar los niveles de control natural que realizan los parasitoides de los huevos (Virla *et al.*, 2022).

### 8.3.8. Respecto a otros vectores Cicadélidos

Este subcapítulo tiene como fin dar a conocer otro tipo de vectores que están asociados al cultivo de maíz y/o que podrían estar involucrados en la transmisión de enfermedad de achaparramiento del maíz y tomar en cuenta el vínculo que podrían tener con el tema central, haciendo un análisis más profundo, sin descartar otras posibles causas de la enfermedad por CSS.

Si bien *Dalbulus maidis* es el vector favorito de *S. kunkelii* existen algunos otros que también pueden transmitirlo. Tales como *Dalbulus elimatus*, *Stirellus bicolor*, y *Planicephalus flavicosta* (Tabla 6). En México, por ejemplo, de las poblaciones de chicharritas presentes en cultivo de maíz en el occidente, las más destacadas son *D. elimatus* y *D. maidis*, pero se podrían simplificar a temporadas estrictas a diferencia de otros vectores como *S. bicolor* y *G. sonora*, que pueden refugiarse en pastos esperando a condiciones favorables, por lo que todos los cicadélidos deben considerarse de igual importante y su impacto biológico y económico en sistemas agrícolas no debe ser descartado (Pinedo-Escatel y Moya-Raygoza, 2018).

Tabla 6. Vectores capaces de transmitir a *S. kunkelii* con su respectiva localización geográfica y cultivos principales (Pinedo-Escatel y Moya-Raygoza, 2018).

<b>Vector</b>	<b>Localización geográfica</b>	<b>Hospederos preferidos</b>
<i>Dalbulus elimatus</i>	Sur de EUA y México.	cultivo de maíz y otras poáceas.
<i>Stirellus bicolor</i>	Canadá, EUA, y Latinoamérica.	papayo, cítricos, y café.
<i>Planicephalus flavicosta</i>	De Argentina a Centroamérica, golfo de México y suroeste de EUA.	melazas de trigo, avena y maíz.



De igual manera, Torres-Moreno *et al.*, 2015 encontraron con más abundancia a *Stirellus bicolor* Van Duzee y *Graminella sonora* en los pastos de los bordes del cultivo de maíz durante el invierno en Zapopan Jalisco, que de *D. maidis* DeLong y *D. elimatus*. Sin embargo, ninguna fue positiva a CSS o MBSP, sugiriendo que estas dos bacterias patogénicas no pasan el invierno dentro de chicharritas que viven en pastos de los bordes.

Específicamente para el género *Dalbulus*, Moya, 2002 reporta a *D. gelbus*, *D. guevarai*, *D. longulus* y principalmente *D. elimatus*, en maíz (irrigado) y pastos que permanecen verdes cercanos a las parcelas donde se siembra maíz durante las estaciones secas, en los estados de Guanajuato, Hidalgo, Jalisco Michoacán, Zacatecas, Guerrero, Morelos y Puebla en México. Mencionan que estas áreas pueden ser consideradas como islas que sirven como hábitat para que las cuatro especies de *Dalbulus* pasen la estación.

En cuanto a su interacción con CSS, Ebbert *et al.*, 2001 reporta a *Dalbulus maidis*, *D. elimatus*, *D. gelbus*, y *D. guevari*, colectadas en diferentes sitios de México, una reacción positiva a CSS, resistiendo bien al patógeno, pero difiriendo en la transmisión. *D. guevari* y *D. gelbus* fueron menos exitosos en la transmisión de CSS que *D. maidis* con las mismas poblaciones. Con ello concluyen que la interacción no es específica, pero diverge en la transmisión.

Carlóni *et al.*, 2011 por su parte, reporta a *Exitianus obscurinervis* como nuevo vector experimental bajo condiciones controladas, quien adquiere a *Spiroplasma* de plantas infectadas e inoculado a plantas sanas, sólo que con un periodo de latencia más largo que *D. maidis*. Aunado a esto, Carlóni *et al.*, 2013 menciona que en algunas locaciones de Argentina se ha detectado a *S. kunkelii*, sin la presencia de *D. maidis*, por lo que sugiere a otros vectores como transmisores como el que reporta en el 2011, *Exitianus obscurinervis*, quien es frecuentemente encontrado en esa zona.

Por otro lado, en Brasil *D. maidis* es el cicadélido más abundante reportado (Oliveira *et al.*, 2002, 2004; Lopes y Oliveira 2004). De un total de 4,233 especímenes capturados tanto de Cicadellidae y Delphacidae del orden hemiptera, *Dalbulus maidis* fue el más abundante con un 90.1 % distribuido principalmente en el noreste y centro sur (Oliveira *et al.*, 2013). Hasta el 2013, sólo *D. maidis* y *Peregrinus maidis* son los vectores más ampliamente conocidos y reportados de mollicutes y virus de maíz en Brasil.

Las especies de cicadélidos encontradas en Brasil son similares a las de Argentina y Uruguay. En Argentina, por ejemplo, de los cicadélidos estudiados reportan a *D. maidis* como el más abundante (Paradell *et al.*, 2001) tanto en fechas óptimas como tardías para sembrar (Albarracin *et al.*, 2009)

En cuanto a Ecuador, del mismo modo han encontrado muchos más especímenes y dinamismo de *D. maidis* que de otras poblaciones, *Spodoptera frugiperda*, *Diatraea saccharalis*, en el cultivo de maíz durante la época seca en cinco localidades del cantón Mocache, Ecuador. *D. maidis* mostró una afectación hasta el final del cultivo, iniciando su ocurrencia desde la semana 2, trampas adhesivas registraron capturas de 1,580 y 3,556 especímenes durante el periodo de cultivo (Burgos, 2020).

En un estudio más amplio, Triplehorn y Nault, 1985 estudiaron 11 especies de *Dalbulus* colectadas de maíz, teosinte, y pastos verdes (*Tripsacum*) de México, Guatemala, Costa Rica y Colombia. Siendo *D. maidis* la especie más ampliamente distribuida de todo el género, alta movilidad, y su estrecha relación con el cultivo de maíz.

#### **8.4. Distribución geográfica del vector *Dalbulus maidis*, *S. kunkelii* y la enfermedad**

La distribución geográfica de la enfermedad de achaparramiento del maíz causada por CSS se extiende cada vez más en distintas regiones de América, incluyendo algunas otras fuera del continente con distintas condiciones climáticas como la altitud.

Tal como se indicó, el vector preferido de CSS es *Dalbulus maidis*, por lo que pertinente estar al tanto de su distribución del mismo modo. Este ha sido visto desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina (Oman, 1948; Triplehorn y Nault, 1985; y Madden *et al.*, 1984) por su alta movilidad, y estrecha asociación con el cultivo de maíz. Adicional a esto, en Brasil, se ha sugerido como la única especie de su género presente en maíz (Oliveira *et al.*, 2004).

Es por ello que, a continuación, se nombran algunas investigaciones enfocadas en la distribución del vector, de *S. kunkelii* y/o la enfermedad del achaparramiento conforme a observaciones al insecto (biología, flujo genético, diversidad, etc.) y/o síntomas de CSD en sistemas de cultivo (granos de maíz, en plantas, hojas), detección con pruebas de diagnóstico molecular, reportes previos e incluso uso de herramientas de modelización (Tabla 7).

Tabla 7. Distribución geográfica del vector *Dalbulus maidis*, *S. kunkelii* y la enfermedad de achaparramiento del maíz.

Cita	País de estudio	Altitud <sup>1</sup>	Áreas/ Regiones	Vector reportado	<i>S. kunkelii</i> reportado
Carlóni <i>et al.</i> , 2013	Argentina	Baja	Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires.	X	X
Varón <i>et al.</i> , 2001	Colombia	Baja	Valle del Cuaca	X	X
Viana <i>et al.</i> , 2020	Brasil	Baja	Paraná	NM	X
Giménez <i>et al.</i> , 2002	Argentina	Baja	Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca, Chaco, Corrientes, Santiago del Estero	X	X
			Córdoba, San Luis y La Pampa	-	X
Moya <i>et al.</i> , 2007	México	Baja	Colima y El Grullo	X	X
		Alta	Sayula y Zapopan	X	-
Aparecida <i>et al.</i> , 2004	Brasil	Baja	Assis, Santa Helena, Sete Lagoas, Dourados	NM	X
Bajet y Renfro, 1989	México	Alta	Toluca y Texcoco, Edo. México; San Andrés, Jalisco; Texin, Veracruz; Xicotepec de Juarez, Puebla.	NM	X
		Baja	Tlaltizapan, Morelos; Poza Rica, Veracruz.	NM	X

(Tabla 7, continuación)

Galvao <i>et al.</i> , 2020	Brasil	Baja	Luís Eduardo Magalhães, Bahia; Rio verde, Goiatuba, y Campo Alegre, Goiás; Janaúba, Patrocinio y Sete Lagoas, Minas Gerais; Mococa, Casa Branca y Paranapanema, Sau Paulo.	NM	X*
Luft <i>et al.</i> , 2017	Argentina	Baja	Tucumán, Salta, Jujuy, Santiago del Estero y Catamarca	X	NM
Hruska <i>et al.</i> , 1996	Nicaragua	Baja	La Paz Centro, Llanura del Pacífico; Valle de Sébaco y Managua, Dario, Terrabona, Pueblo nuevo; Matagalpa, Jinotega (zona norte)	X**	NM
Oliveira <i>et al.</i> , 2007	Brasil	Baja	Chapecó en Santa Catarina, Anastácio en Mato Grosso, Piracicaba en Sao Paulo (centro-sur); y Mossoró en Rio Grande do Norte (Noroeste)	X	NM
		Alta	Bom Jardim da Serra en Santa Catarina (sur)	X	NM

(Tabla 7, continuación)

De Oliveira <i>et al.</i> , 2004	Brasil	Baja	Noreste: Ipanguacu, Ceará-Mirim, Lagoa Grande, Petrolina, Juazeiro, y Barreiras. Centro-sur: Rio Verde, Itumbiara, Sete Lagoas, Passos, Lavras, Divinópolis, Guaíra, Franca, Brodowski, Cravinhos, Anastácio Bonito, Jacarenzinho, Arapongas, Toledo, Castro y Chapecó.	X	NM
		Alta	Centro sur: Brasília en DF, Pocos de Caldas, Campos do Jordao	X	NM
Moya-Raygoza y García-Medina, 2010	México y Argentina	Baja	El Grullo (México) y Los Nogales (Argentina)	X	NM
		Alta	Zapopan (México) y El Mollar (Argentina)	X	NM
Ebbert <i>et al.</i> , 2001	México	Baja	Poza Rica, Tlaltizapan	X	X
		Alta	El Batan	X	X
Paradell, 1995	Argentina	Baja	Chaco y Santiago del Estero (1° vez), Salta, Tucumán, Buenos Aires,	X	NM
		-	Estados Unidos, México, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, República Dominicana, Panamá, Cuba, Jamaica, Puerto Rico, Colombia, Venezuela, Brasil, Perú y Argentina	X	NM

(Tabla 7, continuación)

Carpane <i>et al.</i> , 2005	Argentina	Baja	Subtropicales: Chaco, Villa Trinidad (Santa Fe), Santiago del Estero y San Miguel de Tucumán; Templado: Salto (Buenos Aires), Villa del Rosario y Colonia Caroya (Córdoba).	X	X
		Alta	Subtropicales: Salta.	X	X
Carneiro <i>et al.</i> , 2003	Brasil	Baja	Dourados, Itumbiara, Sete Lagoas y Uberlândia.	NM	X
Oliveira <i>et al.</i> , 2002	Brasil	Baja	Anastácio, Mato Grosso del Sur	X	X
Hernández, 2008	México	Baja	Úrsulo Galvan (Veracruz)	X	X
Monforte, 2019	México	Baja	Tekax, Yucatán	NM	X
Triplehorn y Nault, 1985	México	Baja	Chiapas, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, Sonora y Veracruz	X	NM
		Alta	Distrito Federal, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Morelos, Puebla, San Luis Potosí.		
	Estados Unidos	Baja	California, Florida, Louisiana, Mississippi, Missouri, Carolina del Norte, Ohio y Texas.	X	NM
		Alta	Arizona	X	NM

(Tabla 7, continuación)

		-	Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, República Dominicana, Guatemala, Jamaica, Nicaragua, Panamá, Perú, Puerto Rico y Venezuela	X	NM
Palomera <i>et al.</i> , 2005	México	Baja	Colima y El Grullo	X	X
		Alta	Sayula y Zapopan	X	-
Carpane <i>et al.</i> , 2012	-	-	Estados Unidos, Argentina, Brasil, Costa Rica, México, Marruecos.	NM	X

<sup>1</sup>: Altitud alta: mayor a 1000 msnm, baja: menor a 1000 msnm.

\*: menos en Sete Lagoas, Minas Gerais.

\*\* : Sólo en Valle de Sébaco y Managua.

Primeramente, según Triplehorn y Nault, 1985, en su reporte de diferentes especies de *Dalbulus* colectadas del maíz, teosinte y diversas hierbas, *D. maidis* fue encontrado en Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, República Dominicana, Guatemala, Jamaica, Nicaragua, Panamá, Perú, Puerto Rico, Venezuela, México y Estados Unidos.

Paradell, 1995 por su parte reporta características biológicas, distribución, hábitat, etc. de especies de cicadélidos asociados al cultivo de maíz. Dentro de la distribución para *D. maidis* reporta a varios países como Estados Unidos, México, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, República Dominicana, Panamá, Cuba, Jamaica, Puerto Rico, Colombia, Venezuela, Brasil, Perú y Argentina.

Referente a *S. kunkelii*, Carpane *et al.*, 2012 en su estudio de variabilidad genética reportan la recolección y muestreo de cepas obtenidas de plantas con síntomas de CSD, de diferentes lugares abarcando desde Estados Unidos, Argentina, Brasil, Costa Rica, México, hasta Marruecos.

De los países antes mencionados, los más reportados en la distribución tanto del insecto como de CSS son Argentina, Brasil, Estados Unidos, Colombia, Nicaragua y México.

#### **8.4.1. Argentina**

Para el caso de Argentina se reporta presencia de *D. maidis* en las provincias de Tucumán, Salta, Buenos Aires, Chaco y Santiago del Estero, estos dos últimos reportados por primera vez por Paradell, 1995, además de Catamarca, Jujuy (Luft *et al.*, 2017), las localidades Los Nogales en Santa Fe, y El Mollar en Tucumán (Moya-Raygoza y García-Medina, 2010); todas con altitud baja a excepción de El Mollar y Salta.

En cuanto a distribución tanto del vector y CSS, se reportan en las provincias de Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires (Carloni *et al.*, 2013), Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca, Chaco, Corrientes, Santiago del Estero, y sólo CSS en Córdoba, San Luis y La Pampa (Giménez-Pecci *et al.*, 2002). Carpane *et al.*, 2005 por su parte reporta la transmisión de CSS mediante *D. maidis* en otras regiones subtropicales como Villa Trinidad en Santa Fe y San Miguel de Tucumán y regiones templadas como Salto en Buenos Aires, Villa del Rosario y Caroya en Córdoba. De igual manera de altitud baja a excepción de Salta.



#### **8.4.2. Brasil**

En el caso de Brasil se reportan localidades con altitud baja con la presencia de *D. maidis* para su estudio de morfología y diversidad y flujo genético entre poblaciones en distintas regiones y sistemas de cultivo (temporal o continuo). Tales como, Ipanguacu, Ceará-Mirim, Lagoa Grande, Petrolina, Juazeiro, Mossoró en Rio Grande del Norte, y Barreiras de la parte noroeste. Rio Verde, Itumbiara, Sete Lagoas, Passos, Lavras, Divinópolis, Guaira, Franca, Brodowski, Cravinhos, Anastácio en Mato Grosso, Bonito, Jacarenzinho, Arapongas, Toledo, Castro, Chapecó en Santa Catarina, y Piracicaba en Sao Paulo, que son del centro-sur; y en altitud alta Bom Jardim da Serra en Santa Catarina, Brasília en DF, Pocos de Caldas, Campos del Jordao, en la parte sur o centro-sur (Oliveira *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2007).

Los lugares donde se han reportado sólo a *S. kunkelii* han sido de altitudes bajas donde se ha visto cultivos de maíz con síntomas y muestrearon plantas para su detección. Algunos lugares como, Paraná (Viana *et al.*, 2020), Assis, Santa Helena, Sete Lagoas en Minas Gerais, Dourados (Aparecida *et al.*, 2004), Luís Eduardo Magalhães en Bahia; Rio verde en Goiatuba, Campo Alegre en Goiás, Janaúba en Patrocinio, Mococa en Casa Branca, Paranapanema en Sao Paulo (Galvao *et al.*, 2020), además de Itumbiara, y Uberlândia (Carneiro *et al.*, 2003). Y donde se han reportado tanto al vector como CSS ha sido en Anastácio en Mato Grosso del Sur (Oliveira *et al.*, 2002).

Cabe señalar que Castanheira *et al.*, 2006 colectaron muestras de algunos de estos lugares con el objetivo de desarrollar nuevos cultivares de maíz mediante el ajuste sus condiciones y mantenimiento de estos aislados *in vitro*.

#### **8.4.3. Estados Unidos y Colombia.**

En cuanto a Estados Unidos sólo se ha reportado la presencia del vector en los estados de California, Florida, Louisiana, Mississippi, Missouri, Carolina del Norte, Ohio, Texas, zonas bajas; y Arizona como zona alta (Triplehorn y Nault, 1985)

En el caso de Colombia Varón *et al.*, 2001 reporta a ambos en la región del Valle del Cuaca, con altitud baja.

#### **8.4.4. Nicaragua**

Por otra parte, Hruska *et al.*, 1996 en Nicaragua durante su investigación del desarrollo del achaparramiento del maíz en su país, reporta un historial tanto del vector *D. maidis* como de la enfermedad detectada. Para 1968, se notó la enfermedad en La Paz Centro, en el departamento del León; en 1970, se reportó su distribución sólo en los límites de Llanura del Pacífico, y poco después en zonas más secas como el Valle de Sébaco, Dario, Terrabona, y Pueblo Nuevo. Para 1978 en Llanura del Pacífico algunos productores identificaron a *D. maidis* como plaga y sólo el 5% aplicó insecticidas para su control.

Para 1985, se reportó gran incidencia por primera vez, abarcando no sólo zonas secas sino del norte como Metagalpa y Jinotega, regiones con gran cantidad de lluvia. Para 1986, se reportó la mayor pérdida por achaparramiento, desde áreas secas del Pacífico a zonas húmedas interiores del norte. En 1989 la percepción de los productores sobre el achaparramiento había cambiado, considerándola la segunda plaga más importante y 31% ya aplicaban insecticida contra el vector.

#### **8.4.5. México**

Para el caso de México *D. maidis* se documenta como la especie, de su género, que puede estar presente en diversas áreas de la extensión mexicana (Moya-Raygoza, 2002). Se ha observado en estados con altitudes bajas como Chiapas, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, Sonora, Veracruz; y con altitudes altas como Distrito Federal, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Morelos, Puebla, San Luis Potosí. (Triplehorn y Nault, 1985). En regiones más específicas se reportan en El Grullo (altitud baja), Zapopan y Sayula (altitud alta) en Jalisco (Moya-Raygoza y García-Medina, 2010; Moya-Raygoza *et al.*, 2007).

Respecto a la distribución de CSS, Bajet y Renfro, 1989, durante octubre 1985 y marzo 1988 en campos experimentales, indican su presencia en algunas regiones con altitudes altas como Toluca, Texcoco en el Edo. México, San Andrés en Jalisco, Texin en Veracruz y Xicotepec de Juarez, Puebla; así como regiones bajas como Tlaltizapan en Morelos, Poza Rica en Veracruz y Tekax en Yucatán (Monforte, 2019). Conforme a lo que observaron concluyeron que CSS tiene una alta prevalencia y distribución en México y que la enfermedad es más

prevalente a elevaciones bajas que altas, pero no es estrictamente confinada a climas húmedos tropicales.

Aunado a lo anterior las regiones donde observaron a ambos con altitudes bajas fueron Colima, El Grullo (Moya-Raygoza *et al.*, 2007; Palomera *et al.*, 2005), Poza Rica, Tlaltizapan, y Úrsulo Galvan (Hernández, 2008); y con altitudes altas como El Batán (Ebbert *et al.*, 2001)

#### **8.4.5.1. Otras especies *Dalbulus* en México**

Adicionalmente, también se reportan algunos otros vectores observados en los cultivos de maíz o alrededores a las zonas que podrían transmitir la CSD, al igual que otros patógenos que podrían agravar aún más la enfermedad.

Moya-Raygoza, 2002 menciona que *D. elimatus*, *D. gelbus*, *D. guevarai* y *D. longulus* se encuentran en maíz cultivado con irrigación a menos de 2,050 m. *Dalbulus elimatus* fue colectada entre los 771 y 2,050 m en los estados de Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Puebla y Zacatecas. *Dalbulus gelbus* se encontró entre los 400 y 2,013 m en los estados de Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla y Zacatecas. *Dalbulus guevarai* se localizó entre los 400 y 2,013 m en los estados de Guerrero, Michoacán y Morelos. *D. longulus* se colectó entre los 5 y 90 m en los estados de Chiapas, Oaxaca, Tabasco y Veracruz.

Las distribuciones geográficas y altitudinales mencionadas son parcialmente similares con la reportadas para estas cuatro especies durante la estación lluviosa en México. Durante la estación seca *D. elimatus* no sólo se encontró en maíz, sino también en pastos siempre verdes que estaban alrededor de los ex cultivos de maíz, y en pastos que estuvieron verdes sólo durante los primeros meses de dicha estación (Moya-Raygoza, 2002).

#### **8.4.6. Infecciones mixtas y distribución a futuro**

Aguilera *et al.*, 2019 reportan infecciones simples y mixtas de diferentes virus y CSS. De las muestras de hojas de maíz colectadas en los 4 municipios estudiados, Cosoleacaque, Paso de Ovejas, Medellín y Tlaxicoyan en Veracruz, México, todas resultaron positivas a CSS, y en algunos casos de forma simultánea con otros virus. O en el caso de Galvao *et al.*, 2020, de 100 muestras en los 4 estados de Brasil de altitud baja mencionados anteriormente, 85%

encontraron a fitoplasmas y Spiroplasmas, siendo un 35% de Spiroplasmas y un 25% mezclada con fitoplasmas.

La inspección constante de la evolución de enfermedades infecciosas como el achaparramiento del maíz es vital para evitar que sea más grande. El uso de herramientas bioinformáticas podría facilitar este proceso, como el uso de modelos de redes neuronales artificiales (ANN, por sus siglas en inglés) para determinar la distribución geográfica de enfermedades de cultivos provocadas por bacterias, incluyendo CSS (Watts y Worner, 2011).

Otro ejemplo es el primer modelo aplicado a escala global sobre los efectos del cambio climático en *Dalbulus maidis*, donde los autores mencionan conducirá a una disminución de las áreas aptas para su desarrollo, en especial Brasil, y áreas pequeñas en Argentina, Chile, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela, pero con riesgo de invasión fuera del continente (Etiopía, Kenia, Rwanda, Burundi, y Sudáfrica) para el 2050 y 2070 (Santana *et al.*, 2019). Estos modelajes permiten tomar medidas de prevención y evitar catástrofes en un futuro.

### **8.5. Pérdidas de producción y rendimiento del maíz**

El achaparramiento del maíz puede presentarse desde el nivel de mar hasta zonas de altura intermedia, en latitudes desde 40° N hasta los 30° S; donde persistan condiciones como, lluvias escasas, altas temperaturas y baja humedad relativa del aire para que prevalezca la chicharrita, aunque no es una medida estándar (Castañón *et al.*, 2003). La adaptación tanto del vector como del patógeno ante cambios del clima y del entorno cada vez se hacen más notables, por lo que las pérdidas de cultivo y de producción podrían extenderse.

En este capítulo se indican otros hechos ocurridos sobre pérdidas, adicional a los mencionados al principio de este trabajo, y algunos ensayos realizados con el fin de determinar dichas pérdidas, ya sea en biomasa o económica, en escala experimental.

Tan solo, *D. maidis* causa la pérdida substancial de biomasa, aún en la ausencia de la enfermedad, ya que el daño directo no sólo es causado por extracción de la savia cuando se alimentan, sino que la oviposición de las hembras también provoca daños en tejido vegetal. Se necesitan un total de 10 insectos vector por planta para causar daño a los 10 días de emergencia, 25% pérdida de peso seco, aún con un régimen de riego *ad libitum*; y un 56% de

pérdida bajo régimen estricto. Además, existen pérdidas de agua en los tejidos debido a las heridas causadas por la oviposición (Virla *et al.*, 2021).

Asimismo, los vectores al alimentarse dejan expuesta savia de la planta, secretando una mielecilla, lo que hace propensa a la planta a otras infecciones como la fumagina, dañando la calidad del silage (Bushing y Burton, 1974)

Por otro lado, el tiempo parece ser un factor clave en la aparición de la enfermedad y pérdida de rendimientos. En Sébaco Valley, Nicaragua en pruebas en campo, para periodos iniciales de infestación de *D. maidis* se produjeron más síntomas y bajaron los rendimientos a un 50.2%, mientras que para plantas infestadas a los 30-40 días después de la emergencia no hubo diferencias significativas comparadas con plantas sin infestación (Hruska y Gomez, 1997).

Igualmente, el tipo de manejo del cultivo puede aumentar o disminuir la incidencia del achaparramiento del maíz. En mismo Nicaragua, se ha visto la incidencia de la enfermedad disparada en ciertos años, y en otros muy poco con niveles insignificantes, como en 1986 que se reportó la mayor pérdida a ese tiempo (Urbina, 1987), dicha previamente, y para los siguientes dos años también hubo pérdidas significativas, pero no fue documentado. En 1990 las pérdidas se redujeron drásticamente y productores que ya habían abandonado por los hechos ocurridos comenzaron a sembrar de nuevo en Llanura del Pacífico (Hruska *et al.*, 1996). Mencionan que dado a que las poblaciones del vector no cambiaban, ni las variedades de maíz causaban diferentes síntomas de la enfermedad, la explicación más probable a este fenómeno es el fomento o el aumento de la producción por irrigación durante las épocas de secano (Hruska *et al.*, 1996).

Caso similar ocurrió en San Joaquín Valley, California de 1960 a 1980 cuando *D. maidis* se disparó en 2 años y después disminuyó significativamente por años. Esto último lo atribuyeron posiblemente a agentes de control biológico o control químico en maíz tardío, pero sin ningún estudio específico (Summers *et al.*, 2004).

Por su parte en Colombia, durante la década de los 70's fue registrado el achaparramiento del maíz en los departamentos de Cundinamarca y Valle del Cauca (Martínez y Rico, 1976). 1996), siendo hasta 1996 cuando se informa un incremento notable de la incidencia de la

enfermedad, afectando muchos cultivos de diferentes regiones del Valle, sin mencionar las causas posibles. Sin embargo, en los años previos al 2001 hubo un incremento de maíz cultivados por el fomento de empresas privadas y gobierno (Varón *et al.*, 2001).

La falta de información acerca de la enfermedad sobre la producción maicera al noroeste de Argentina indujo la realización de la primera cuantificación de daños ocasionados por la enfermedad, donde determinaron que la enfermedad disminuyó en promedio el 70% de la producción, en un rango de 50 y 90% en función de la intensidad de la reacción serológica del grupo de plantas evaluadas. Por lo que concluyen que el CSS es un factor limitante de la producción maicera y es necesario establecer estudios más detallados para minimizar estos efectos perjudiciales (Virla *et al.*, 2004).

En cuanto al maíz irrigado del que se habló, en Brasil mencionan que este tipo de manejo fue probablemente el principal factor que contribuyó a poblaciones altas colectadas durante un año en Piracicaba, São Paulo durante el invierno seco ya que los campos adyacentes permitieron un continuo suministro de plantas hospedadoras (Oliveira *et al.*, 2013).

En años recientes productores están adoptando recursos para irrigación intensiva en Brasil, permitiendo de 2 a 3 cosechas de grano por año, lo que podría prolongar el mantenimiento y crecimiento de poblaciones del vector, contribuyendo a un mayor riesgo de la enfermedad de achaparramiento (Galvao *et al.*, 2020). Este escenario explicó el mayor brote de 2015 a 2017, que causó pérdidas severas y dificultades en el manejo de estas enfermedades (Sabato, 2017, 2018).

Desde que la segunda temporada del cultivo es practicada y relevante económicamente, es urgente entender el conocimiento sobre factores que afectan la epidemia por el complejo de CSD. Los picos de poblaciones de *D. maidis* se han notado más al término del ciclo del cultivo o post-cosecha, y aún más en el 2do. Ciclo o también llamado “safrinha” en Brasil (Galvao *et al.*, 2020).

Para las estaciones de secano en Brasil (agosto, septiembre y octubre), las poblaciones de *D. maidis* fueron mucho mayores que en la época de lluvias, y fue capaz de mantener sus poblaciones en todo el ciclo fenológico. Tanto en la época de lluvias y la estación seca, se observó la mayor abundancia de *D. maidis* a los 77 días post emergencia del maíz (Meneses

*et al.*, 2016). En Minas Gerais, en el segundo sembradío (“safrinha”) hubo más cantidad de chicharritas que en el primer sembradío de verano sin riego (Oliveira *et al.* 1998, 2002a, 2002b).

Aunado a lo anterior, densidades de *D maidis* para la siembra en óptima y tardía fueron de 1.5 y 2.1 especímenes por planta, respectivamente (Albarracin *et al.*, 2009), similares a las que reporta Díaz *et al.*, 2005 quien, además, reporta 8.7 y 19.3% de plantas afectadas con CSS en siembras temprana y tardía, respectivamente del mismo sitio.

Meneses *et al.*, 2016 le atribuyen este incremento posiblemente a la disponibilidad de alimento, el microclima favorable por irrigación, disminución de enemigos naturales durante la estación seca, afluencia de chicharritas a un campo irrigado desde la vegetación seca. Los cultivos de maíz irrigado deberían considerar las enfermedades por patógenos porque no solo están las chicharritas locales sino las que llegan de otras regiones (Oliveira *et al.*, 2013).

Durante la primavera y verano en Brasil, la población aumenta debido a la disponibilidad de hospedante, ya que el maíz en la región comienza a sembrarse en septiembre-octubre y se cosecha entre abril-mayo (Waquil *et al.*, 1999). En México, se reportan grandes poblaciones en tiempo de lluvias y en maíz irrigado en tiempo de secas, pero sólo pocos sobrevivían a áreas de no irrigación en ausencia del cultivo (Moya-Raygoza *et al.* 2007). Conforme a ello, se sugiere entonces un aumento de poblaciones del vector en cuanto existe disponibilidad de alimento, independientemente de la estación.

Las pérdidas causadas por estas enfermedades pueden variar de 9 a 90%, dependiendo de la susceptibilidad de los cultivares y los patógenos involucrados (Gordon *et al.*, 1981). Souza *et al.*, 2003 en su estudio por encontrar un genotipo de maíz resistente a la enfermedad de achaparramiento reportaron una afectación por CSS en un 9.60% en altura de la planta, 12.83% la altura de la mazorca y un 42.00% en el rendimiento de grano. Más adelante se mencionan algunos otros estudios con respecto a genocultivares tolerantes a la enfermedad.

La severidad de achaparramiento puede aumentar al ocurrir infecciones simultáneas (Aguilera *et al.*, 2019), es decir, varios patógenos en un mismo hospedante. En Brasil, la prevalencia de infección simultánea creció comparada con datos de hace 2 décadas, en 2002 sólo se mostraba un 5.8% de las muestras de plantas con Spiroplasma y fitoplasma (Oliveira

*et al.*, 2002a), mientras que en un estudio llevado a cabo en 2017 encontraron un 25% de esa mezcla. Esto lo asocia con el incremento de temporada de segunda cosecha y uso de irrigación; la presencia de plantas hospedadores durante más tiempo en el año favorece las poblaciones de insectos vectores, y tienen más posibilidades de adquirir y diseminar ambos patógenos (Galvao *et al.*, 2020).

Por otra parte, hablando económicamente, al sur de Florida entre 1979 y 1980, la enfermedad del maíz causada por CSS y MRFV provocó una pérdida de \$60 millones de dólares en producción de semilla híbrida (Bradfute *et al.*, 1981; Niblett *et al.*, 1981). Siendo en el año 1978, la primera vez que se recolectó a *D. maidis* en grandes cantidades en la misma zona (Tsai, 1988).

En Paraná, Brasil durante el 2001 y 2002 se estimó pérdidas económicas en cultivos de maíz “safrinha” cercanas a 16.5 millones de dólares (Oliveira *et al.*, 2003). Mientras que, en Argentina, las estimaciones en plantas severamente afectadas se consideran como producción nula (Virla *et al.*, 2004).

## **8.6. Tratamientos propuestos**

De un total de 42 trabajos seleccionados para este rubro, se clasificaron en 4 categorías, representados con las siguientes letras. Esto porque se iba encontrando una tendencia hacia dichas categorías.

- **M:** nuevos cultivares o germoplasmas de maíz resistentes a la enfermedad.
- **P:** registro de presencia o experimentación con parasitoides y depredadores contra *D. maidis*.
- **I:** estrategias de aplicación de insecticidas químicos.
- **O:** Otra propuesta como control biológico, cultural, químicos, etc.

De ese total, 43% tuvo como objetivo erradicar al CSS, mientras que el 57% contra el vector *D. maidis* (Figura 17a). Dichos estudios se enfocaron a diversas disciplinas que en cierto modo se complementan y pueden hacer de un tratamiento más efectivo. Algunas de las cuales son biotecnología, bioinformática, control biológico, y saberes campesinos que a su vez forman parte de la Agroecología; y están también aquellos tratamientos “convencionales”, quienes usan productos químicos como insecticidas (Figura 17b).



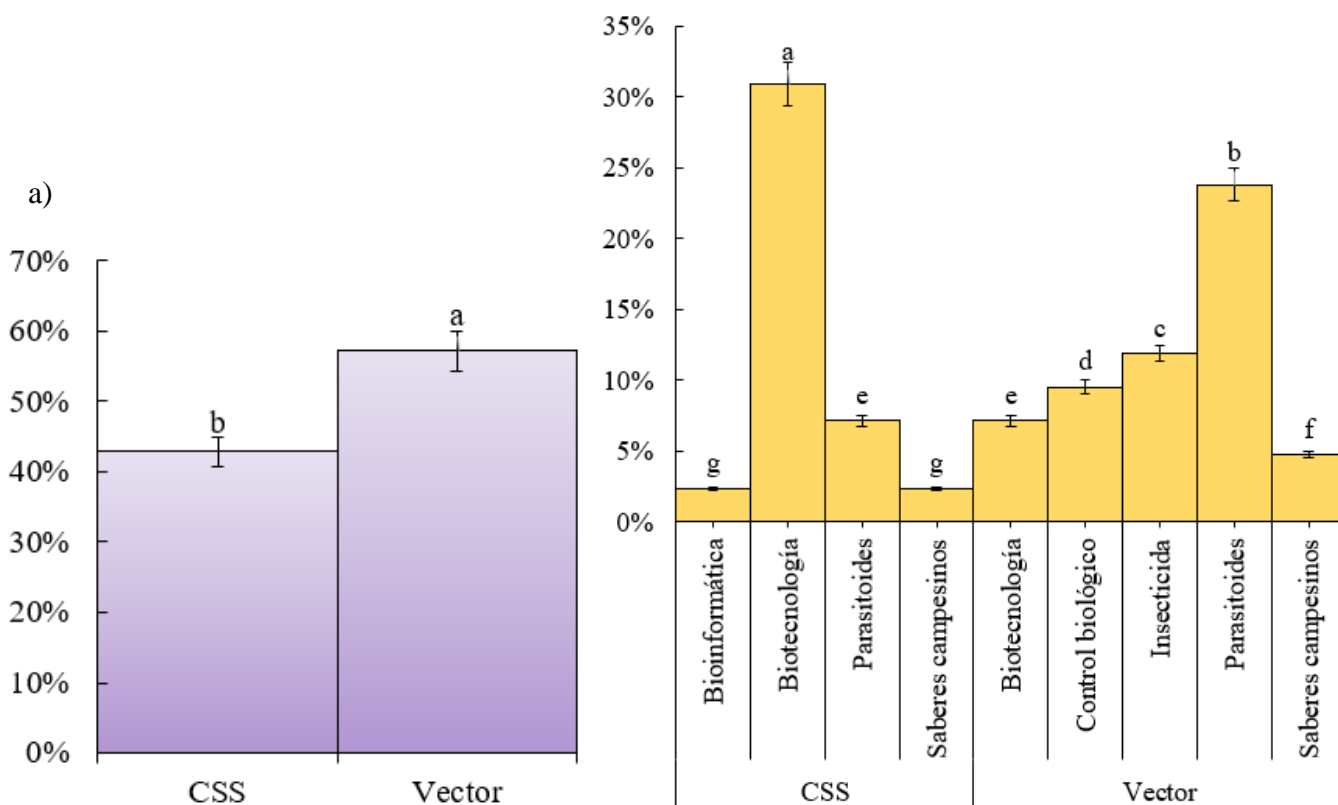


Figura 17. Porcentaje de tratamientos propuestos a) orientados a eliminar a *S. kunkelii* (CSS) y el vector *D. maidis*, b) divididos por disciplinas tanto para el vector como para CCS.

Por un lado, la disciplina Biotecnología aportó más tratamientos contra el patógeno con un 31%, la mayoría enfocados en la creación de nuevos cultivares, seguido de parasitoides con un 7%, los cuales atacaban directamente a los vectores, pero los investigadores pretendían ver su efecto en el patógeno, y después saberes campesinos y bioinformática con un 2% cada uno.

Por otro lado, se encuentra el uso de parasitoides como principal estrategia contra el vector *D. maidis* con un 24% de los estudios, el uso estratégico de insecticidas con un 12%, otros métodos de control biológico con 10%, y finalmente el uso de biotecnología y saberes campesinos con herramientas que se mencionan más adelante. La mayoría con diferencias significativas.

Por otra parte, el país con mayor número de publicaciones para combatir al patógeno CSS se encuentra México con un 29%, por la creación de nuevos germoplasmas como se mencionó, posteriormente se encuentran Brasil y Estados Unidos con 5 % cada uno, y al último Australia

y Argentina con 2% cada uno. Para eliminar al vector *D. maidis* los países a la punta son Argentina y México sin diferencias significativas, cada cual con 17% de participación, seguido de Brasil con 14%, Estados Unidos con 5% y finalmente Ecuador y Perú con 2% cada uno (Figura 18).

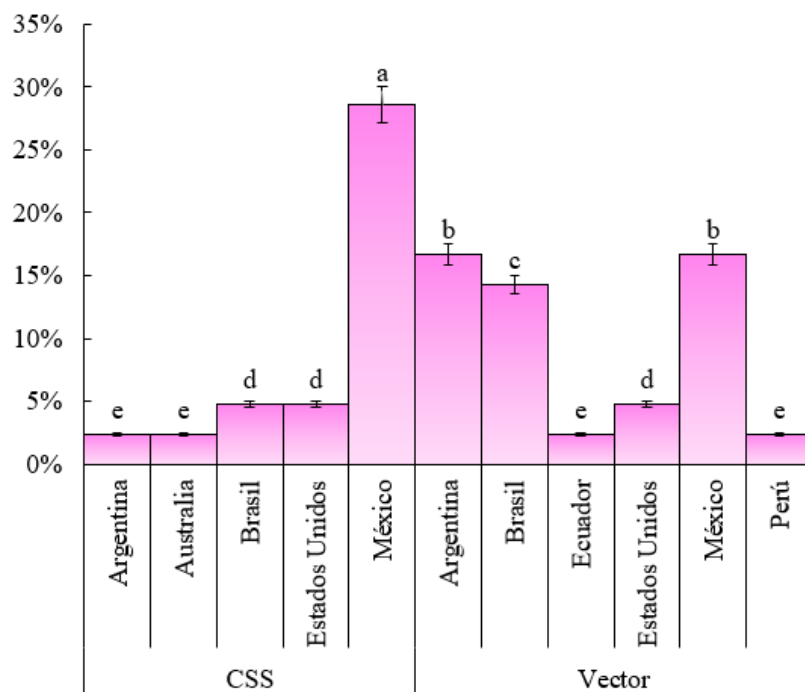


Figura 18. Porcentaje de tratamientos propuestos con relación a los países de estudio tanto para el vector como CSS.

El contenido de cada uno de los estudios se especifica a continuación clasificados conforme se mencionó en el principio del capítulo. Y de igual forma se sintetizan algunos de los mismos en la tabla 8, especificando en esta los autores, países de estudio o donde se muestreo CSS o el vector, la orientación del estudio dividido conforme a la clasificación del inicio, el resultado más favorable que obtuvieron y si fue exitoso, neutral o no.

Tabla 8. Tratamientos propuestos para el tratamiento de la plaga *D. maidis* y/o la enfermedad de achaparramiento del maíz.

Cita	País de estudio o de muestreo	Propuesta	Mejor tratamiento o tratamiento postulado	Resultados
Oleszczuk <i>et al.</i> , 2020	Argentina	M	Híbrido DKB390 antixenosis al vector y resistencia a CSS.	+
Wei <i>et al.</i> , 2020	Costa Rica	O	AMPs: Novispirina T7, Caerín 1.1 con MIC de 25 µg/ml.	+
Neves <i>et al.</i> , 2021	Brasil	I	Clotianidina o imidacloprid 600g/L	+/-
Castilhos <i>et al.</i> , 2022	Brasil	M	Convencionales: P3456, FS055, SCS154 Fortuna, SCS156 Colorado, y SCS155 Catarina (baja severidad). Transgénicos: AS1757 PRO3 y P3551 PWU (más resistentes)	+
Moya <i>et al.</i> , 2006	México	P	Larva <i>Gonatopus bartletti</i> Olmi (Hymenoptera: Dryinidae)	+
Moya <i>et al.</i> , 2012	México y Argentina	P*	10 especies Arg. 6 Mex, altos % a altitudes bajas. <i>Anagrus breviphragma</i> Soyka en ambos en altitudes alta y baja	+
Moya <i>et al.</i> , 2014	México	P*	Paracentrobia tapajosae Viggiani, <i>Anagrus breviphragma</i> Soyka, Aphelinoidea semifuscipennis y Pseudoligosita longifragiata	+
Jones <i>et al.</i> , 2021	Estados Unidos	O	RNAi contra V-ATPasa B y V-ATPasa D	+
Carpane y Catalano, 2022	Argentina	M	DK390	+
Moya y Trujillo, 1993	México	P	<i>Gonatopus bartletti</i>	+

(Tabla 8, continuación)

Luft <i>et al.</i> , 2017	Argentina	P	Trichonogrammatidae ( <i>Pseudoligosita longifragiata</i> Viggiani); Mymaridae ( <i>Anagrus incarnatus</i> )	+
Iwanicki <i>et al.</i> , 2020	Brasil	O	Blastosporas de <i>Metarhizium robertsii</i> en 1x10 <sup>7</sup> y 5x10 <sup>7</sup>	+
Castañón <i>et al.</i> , 2003	México	M	Líneas con dominancia parcial para la resistencia al achaparramiento: AC7929-38-3-2-1 y AC8149-5-1-2-1	+/-
Ibarra-Aparicio <i>et al.</i> , 2005	México	O	Cepa M362 de <i>Metarhizium anisopliae</i> (1x10 <sup>7</sup> ) produjo una mortalidad del 40.1% y una esporulación del 52.8%.	+
Mendoza-Elos <i>et al.</i> , 2002	México	M	Retrocruza F1 con alta tolerancia a la enfermedad.	+
Rios-Reyes y Moya-Raygoza, 2004	México	P	<i>Gonatopus bartletti</i> 13% parasitimo, 22.6% depredación a ninfas y 26.3% a adultos del vector	+
Virla y Olmi, 2007	Argentina	P	Se descubrieron 3 especies dríinidos parasitoides: <i>Gonatopus caraibicus</i> (Olmi), <i>Gonatopus contortus</i> Olmi, y <i>G. moyaraygozai</i> Olmi	NM
Mamoré <i>et al.</i> , 2008	Brasil	I	Eficiencia: Imidacloprid (tratamiento de semillas) 72% y cipermetrina + tiametoxan (de aspersión foliar) 61% a los 40 DDE, con efecto residual.	+/-
Tosquy <i>et al.</i> , 2005	México	M	CMS 993013 y CMS 993015, híbridos más productivos, buen comportamiento agronómico y de reacción al achaparramiento.	+

(Tabla 8, continuación)

Sierra-Macías <i>et al.</i> , 2007	México	M	Mejores híbridos QPM: (CML264QxCML150)xCML491, (CML264Qx CML273Q)xCML491, (CML144xCML159)xCLQ-RCWQ50 y (CML492x CML150)xCLQ-RCWQ50	+
Moya-Raygoza, 2008	México	P	Las tasas de <i>D. maidis</i> con CSS expuestas a depredación con <i>Gonatopus bartletti</i> bajaron significativamente a ~54 % y ~47% a los 10 y 20 días, respectivamente.	+
Becerra-Chiron y Moya Raygoza, 2018	México	P	<i>Anagrus</i> sp. (Hymenoptera: Mymaridae), <i>Paracentrobia</i> sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae), <i>Anagrus columbi</i> Perkins y <i>Pseudoligosita</i> sp.	+
Hill <i>et al.</i> , 2018	Argentina	P	<i>Anagrus virlai</i> (Hymenoptera: Mymaridae) sobre huevos del vector.	+
Summers y Stapleton, 2002	Nicaragua	O	Técnica "Reflective Multch"	+
Chen y Chen, 1998	Estados Unidos	M	Células transgénicas de maíz con gen scFv, de anticuerpos con inhibición fuerte contra CSS	-
Toledo <i>et al.</i> , 2007	Argentina	O	Cepas de <i>Beauveria bassiana</i> CEP 147, CEP 150, CEP 189.	+/-
Sierra-Macías <i>et al.</i> , 2010	México	M	Genotipos con mayor rendimiento y tolerancia al achaparramiento H-520, H-513, H-518 y C-343	+
Oliveira <i>et al.</i> , 2007	Brasil	I	E1: Invernadero Imidacloprid + tiametoxano (en semilla)	+

(Tabla 8, continuación)

			E2: Campo Imidacloprid + tiametoxano (en semilla y aspersión a los 10 y 20 días después de emergencia)	-
Oliveira, 2008	Brasil	I	Imidacloprid y tiametoxano en semilla en vivero.	+
Gutierrez, 2019	Perú	O	Extracto etanólico de Molle con 79.17% de eficacia	+
Hernández, 2008	México	M	Genocultivar VAN 543R	+
Monforte, 2019	México	M	Maíces criollos: San pauleño y Santa rosa de la raza X-nuk nal (Tardíos) con 39% y 33% de incidencia de la enfermedad, respectivamente.	+
Hidalgo <i>et al.</i> , 1998	México	M	Líneas de maíz LT-183 y LT - 184	+

\*: Se reporta observación de parasitoides, no ensayos con éstos.

NM: No lo menciona. +: reporta resultados esperados; -: reporta resultados no esperados; +/-: reporta resultados parcialmente esperados.

### 8.6.1. Maíces resistentes a la enfermedad

La enfermedad del achaparramiento provoca varios síntomas en la planta de maíz que podría provocar la pérdida parcial o total de producción y/o rendimiento. Es por ello por lo que diversos investigadores han probado diferentes germoplasmas de maíz, en su mayoría híbridos, para resistir la aparición de dichos síntomas, de la enfermedad *per se* y al mismo tiempo generar buenos rendimientos.

En el caso de México, se han evaluado diferentes líneas de maíz híbrido para detectar fuentes de resistencia al achaparramiento (CSS y MBS) mediante infestaciones de *D. maidis* y su producción de grano, en campos experimentales del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en Veracruz su mayoría.

Por ejemplo, conforme a la sintomatología se registraron a las líneas LT- 173 sólo con clorosis en el margen de la hoja y proliferación de hojas en la mazorca y con un rendimiento de 3,818 kg/ha; LT- 183 y LT -184 sin ningún síntoma con 3,808 kg/ha y 3,626 kg/ha, respectivamente (Hidalgo *et al.*, 1998).

O conforme a la heredabilidad de caracteres con resistencia al achaparramiento del maíz, han combinado líneas susceptibles con resistentes o moderadamente resistentes, como AC7929-38-3-2-1 y AC8149-5-1-2-1 que son líneas combinadas de maíz tropical tanto susceptible como resistente a la enfermedad (Castañón *et al.*, 2000). Algo a destacar en ese estudio es que se percataron que, al combinar líneas en homocigosis, es decir, entre progenie, los rendimientos amenoraban y además que los genes que confieren resistencia parecen comportarse en sentido opuesto al rendimiento de grano (Castañón *et al.*, 2003).

Asimismo, Mendoza-Elos *et al.*, 2002 bajo condiciones naturales en campo, cruzaron una línea moderadamente resistente con otra susceptible a la enfermedad, resultando la retrocruza F1 con alta tolerancia, con heterosis para la resistencia al achaparramiento, y aunque tuvo un porcentaje de incidencia del 24.74 % de plantas enfermas, mejoró su progenie conforme a la incidencia de la enfermedad.

Algunos otros toman en cuenta algunas otras características agronómicas y la severidad del achaparramiento. Características como días a floración masculina, altura de planta y mazorca, porcentaje de mazorcas podridas y rendimiento de grano se midieron en Tlalixcoya, Veracruz, resultando los híbridos CMS 993013 y CMS 993015 como los más productivos, con buen comportamiento agronómico y de reacción al achaparramiento en la zona (Tosquy *et al.*, 2005).

En el caso de Sierra-Macías *et al.*, 2007 estudiaron, además, variables como floración femenina, aspecto y sanidad de planta y mazorca, porcentaje de plantas acamadas, etc. de maíces híbrido con alta calidad de proteína (QPM), registrando como mejores a: (CML264QxCML150)xCML491, (CML264Qx CML273Q)xCML491, (CML144xCML159)xCLQ-RCWQ50 y (CML492x CML150)xCLQ-RCWQ50. Cabe mencionar que observaron diferencia significativa los factores maíces híbridos y localidades para todas las variables, excepto rendimiento de grano.

Para el 2010, Sierra-Macías *et al.*, también encontraron diferencia altamente significativa para los factores genotipos de maíz y las mismas localidades, excepto porcentaje de plantas con achaparramiento en maíces tropicales. Esto indica que las zonas de estudio influyen bastante en el comportamiento de la enfermedad.

Para este último estudio, registraron a los genotipos H-520, H-513, H-518 y C-343 con mayor rendimiento y tolerancia al achaparramiento, siendo H-513 progenitor hembra de H-520 y de H-518 indicado como tolerante a la enfermedad (Jeffers *et al.*, 2004, Sierra-Macías *et al.*, 2004, y Sierra *et al.*, 2004).

Por otra parte, en Úrsulo Galván, Veracruz se comprobó que el genocultivar VAN 543R tuvo menor incidencia, pero fue el segundo en cuanto a rendimiento. Durante este estudio se identificó una relación positiva entre la incidencia y severidad de la enfermedad ocasionada por CSS con la fluctuación del vector a través tiempo, así como una relación negativa entre precipitación y fluctuación del vector e incidencia y severidad de la enfermedad (Hernández, 2008).

Además de Veracruz y pruebas en maíces híbridos y sintéticos, se ha reportado tolerancia de algunos maíces criollos en el sur de Yucatán, estudiando de igual manera sus características fisio-agronómicas. De 17 variedades criollas, clasificada en tres grupos: Los Tardíos (X-nuuk Nal), Intermedios (Ts'it Bakal, X-nuuk Nal) y Precoces (X-mejen Nal y Nal tel), se encontró que la variedad San pauleño y Santa rosa de la raza X-nuk nal, presentaron menor porcentaje de incidencia al complejo del *Spiroplasma kunkelii* con 39% y 33% respectivamente; que aunque aún tiene porcentajes mayores a los reportados anteriormente, mencionan que estas variedades son deseables para iniciar un programa de mejoramiento genético participativo con los productores de esa región para mejores resultados (Monforte, 2019).

En el caso de Argentina, se encontraron estudios relacionados con la presencia de antibiosis y antixenosis en maíces híbridos, ya sea contra *D. maidis* o contra el patógeno CSS. En condiciones artificiales, el híbrido DKB390 mostró antixenosis hacia el vector y resistencia a CSS, en DK72-10 se observó antixenosis y antibiosis a *D. maidis*, y por parte de DK79-10 resistencia a CSS, al retrasar la aparición de los síntomas (Oleszczuk *et al.*, 2020). De la primera variedad DK390 se comprueba su antixenosis al expresar un nivel más alto de resistencia del mesófilo y floema, bajando la duración de los vectores en planta y su comportamiento relacionado con intentos fallidos de ingesta (Carpane y Catalano, 2022).

Aunque el patógeno *S. kunkelii* podría inocular a la planta antes de que el insecto se vaya y prefiera otros hospederos, los factores de resistencia localizados en dichas zonas de tejidos podrían ser una herramienta para prevenir su inoculación, y así evitar la aparición de síntomas



(Carpane y Catalano, 2022). Conjuntamente en el otro estudio, no encontraron asociación entre la acumulación de CSS y la severidad de los síntomas ni el rendimiento (Oleszczuk *et al.*, 2020), por lo que la propagación del patógeno podría ser controlable.

Otra de las estrategias que se han desarrollado para el tratamiento contra CSS ha sido mediante células transgénicas. Chen y Chen, 1998 quienes construyeron el gen de fragmento de cadena simple Fv (scFv, por sus siglas en inglés) a partir de anticuerpos con fuerte actividad contra CSS, fue expresado en células de maíz; sin embargo, las plantas transgénicas generadas no mostraron resistencia a la infección con CSS por la dificultad de transportar dichas proteínas al floema donde se encuentran las bacterias CSS.

Pese a estos resultados, actualmente ya existen maíces transgénicos con resultados favorables ante la resistencia a la enfermedad. En Brasil, por ejemplo, evaluaron maíces transgénicos e híbridos, obteniendo resultados variados conforme a la severidad de la enfermedad y productividad. Los maíces híbridos P3456, FS055, SCS154 Fortuna, SCS156 Colorado, y SCS155 Catarina tuvieron la severidad más baja; los genotipos transgénicos AS1757 PRO3 y P3551 PWU fueron más resistentes; y P3016 VYHR fue el más alto en cuanto al rendimiento, con 9,794.6 kg/ha (Castilhos *et al.*, 2022).

El análisis molecular exhaustivo en este proceso de encontrar una buena variedad de maíz con los fines ya dichos es menester para asegurar resultados favorables. Souza *et al.*, 2003 evaluaron las características agronómicas y bioquímicas del maíz como posibles marcadores de selección de genotipos resistentes a la enfermedad de achaparramiento causada por CSS, así como su efecto sobre producción de grano. De las características más afectadas fueron la altura de la planta, altura de mazorca y rendimiento de grano (como se aludió en el capítulo de pérdidas); en cuanto a las características bioquímicas evaluadas, hubo una tendencia de plantas resistentes con valores altos de proteína soluble y valores bajos de actividad específica de peroxidasa (PODes).

Con estrategias tanto intrínsecas como extrínsecas se podría encontrar un tratamiento más focalizado hacia el achaparramiento por CSS. Desde los mecanismos internos de los genotipos evaluados, hasta estudios regionales en los cuales se determina sus interacciones con el ambiente, incluyendo por supuesto al vector y patógeno, y que son cruciales en la determinación adecuada de los genocultivares a usar (Castilhos *et al.*, 2022). Por mencionar

un ejemplo, se sabe que los genotipos con base genética tropical son menos susceptibles al achaparramiento del maíz que los de (Oleszczuk *et al.*, 2020).

### **8.6.2. Parasitismo y depredación contra *Dalbulus maidis***

Poco se ha conocido del control biológico de *Dalbulus maidis*, una alternativa poco invasiva y que podría traer buenos beneficios para mantener un equilibrio entre poblaciones. En este subcapítulo se mencionan las especies parasitoides y depredadoras más reportadas contra *D. maidis*, desde la invasión de huevos, ninfas y adultos. E incluso en algunos casos su interacción con *S. kunkelii*.

La biodiversidad de parasitoides que atacan a la chicharrita del maíz se especifica en el orden Himenóptera, conocidas comúnmente como avispas, pero también se conocen especies de dípteros y estrepsípteros (Moya-Raygoza, 2019). Entre las familias principales reportadas del orden Himenóptera se encuentran Dryinidae, Mymaridae, y Trichogrammatidae a lo largo de América, siendo los países México, Argentina, y Ecuador aquí reportados.

Así como *D. maidis* habita en los campos de maíz y en algunos casos en los bordes de este cultivo (pastos perennes), maíz voluntario, de rastrojo y de riego, etc. para la estación seca, también lo hacen sus depredadores y/o parasitoides (Moya Raygoza y Becerra-Chiron, 2014; Oliveira *et al.*, 2019) quienes atacan no sólo durante el invierno sino también en el periodo de crecimiento del maíz. De este modo el manejo de los límites de dichos campos es parte fundamental en el control biológico de la chicharrita del maíz (Moya-Raygoza, 2019).

En México, se han encontrado avispas parasitoides driínidos en Jalisco, lugar donde abundan numerosas especies de *Dalbulus*, en plantas perennes en su gran mayoría. Especificadamente para *D. maidis*, se encontró siendo parasitado en altitudes de 680-1,760 msnm. por *Gonatopus bartletti* (Moya-Raygoza y Trujillo, 1993).

Esta misma especie de parasitoide, más tarde fue descrita por Rios-Reyes y Moya-Raygoza, 2004, desde el ciclo de vida, nivel de parasitismo y depredación sobre ninfas y adultos de *Dalbulus maidis*, quienes señalan que fue la primera vez que se reporta que las hembras depredan más que lo que parasitan; el parasitismo fue similar (13%) tanto en ninfas como adultos de *D. maidis*, mientras que el nivel de depredación fue de 22.6% para ninfas y 26.3%

para adultos. En 2007, el INIAP reportó la presencia de este parasitoide en Manabí, Ecuador estableciendo hasta un 23.68% de parasitismo (Valarezo *et al.*, 2009).

Las tasas de parasitismo a *D. maidis* depende del tipo de hábitat, según Moya-Raygoza *et al.*, 2014, quienes comprobaron que donde se cultiva maíz todo el año hay una tasa alta, comparada con el hábitat de maíz estacional, donde fue baja. En primer caso de Rios-Reyes y Moya-Raygoza, 2004, se llevó a cabo en laboratorio, pero el muestreo fue de cultivo por irrigación.

Igualmente, Virla y Olmi, 2007 en Tucumán, Argentina observaron el ataque de Dryinidae (Hymenoptera: Chrysidoidea) durante diciembre 2003 y en abril 2005 obtuvieron 3 especies del género *Gonatopus* (de muestras de plantas en campos de maíz): *Gonatopus caraibicus* Olmi, *Gonatopus contortus* Olmi, y *G. moyaraygozai* Olmi. En ese hallazgo, registran por primera vez en campo la asociación de *G. caraibicus* con *D. maidis* y a *G. contortus* con *G. moyaraygozai* como parasitoides de la chicharrita.

Los himenópteros como *Gonatopus bartletti* Olmi, se caracterizan por parasitar tanto a ninfas como adultos de la chicharrita *D. maidis*. Mientras que los parasitoides pertenecientes a las familias Mymaridae y Trichogrammatidae, tales como *Anagrus incarnatus* Haliday y *Paracentrobia* sp. Howard, respectivamente, son frecuentemente relaciones a los huevos del vector (Moya-Raygoza, 2019).

De la familia de Trichogrammatidae, también se ha encontrado parasitación de la avispa *Oligosita* sp a huevos ovipositados por *D. maidis* en pastos perennes y maíz voluntario dos meses después que comenzó el invierno en México, y al final de esta estación encontraron, además, a *Anagrus columbi* Perkins, de la familia Mymaridae, en las mismas hábitats incluyendo a maíz de riego, siendo la mayoría adultos (Moya Raygoza y Becerra-Chiron, 2014).

En 2015, los mismos autores encontraron a *Anagrus* sp. (Hymenoptera: Mymaridae) y *Paracentrobia* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando a huevos de *D. maidis* igualmente dentro del campo de maíz local y sus límites. En 2016, reportan a *Anagrus columbi* Perkins y *Anagrus* sp, de Mymaridae: y *Pseudoligosita* sp. y *Paracentrobia* sp. de Trichogrammatidae, atacando a huevos de *D. maidis* en maíz híbrido, pero no en el local.

Con ello indican que el parasitismo de huevos difiere conforme al tipo de agroecosistema, su locación y variedades de maíces (Moya Raygoza y Becerra-Chiron, 2018).

Conforme al tipo de agroecosistema, Torres-Moreno y Moya-Raygoza, 2020 probaron la parasitación en maíz temporal y de todo el año con altas y bajas densidades de huevos de *D. maidis*. De los parasitoides emergidos de la familia Mymaridae fueron *Anagrus virlai* y *Anagrus incarnatus*, y de la familia de Trichogrammatidae *Paracentrobia* sp., *Pseudoligosita* sp., y *Oligosita* sp., siendo *A. virlai* la más común. Para el caso de maíz temporal con altas densidades, se encontró una relación inversamente dependiente entre la densidad de huevos y tasas de parasitismo, por el contrario, en los demás casos la relación fue independiente.

La especie *A. virlai* de igual manera ha sido reportada repetidamente en ciertas partes de Argentina. Hill *et al.*, 2018 por ejemplo compararon su preferencia entre los vectores *D. maidis* y *Peregrinus maydis*, donde el número de huevos parasitados y emergencia de avispas fue significativamente mayor en huevos de *D. maidis* que en *P. maydis*, que se encontraban en hojas de maíz, además las avispas emergidas fueron más largas. Con este estudio se comprueba entonces que el tipo de huésped no sólo influye en el parasitismo, emergencia o tamaño de las avispas sino también en el tiempo de desarrollo.

Además de las especies mencionadas, también se han identificado a 16 especies pertenecientes a 4 familias de Hymenoptera al noroeste de Argentina durante el verano de 2004-2007, siendo las más frecuentes *Pseudoligosita longifrangata* Viggiani, de Trichonogrammatidae, seguida de *Anagrus incarnatus*, de Mymaridae, donde reportan asimismo, un porcentaje de parasitismo en los huevos de *D. maidis* de entre 0-56.7%, dependiendo del sitio; en general se encontró mayormente en Yungas y niveles bajos en la provincia Monte (Luft *et al.*, 2017).

Acorde con lo que alude Moya-Raygoza *et al.*, 2014, sería interesante identificar los tipos de agroecosistemas en dicha provincia, para determinar si existe una correlación con las tasas de parasitismo; e incluso relacionarlo con la altitud, ya que varía de igual forma en esa zona. Asimismo, identificar las causas de las zonas con poca o nula parasitación, ya que posiblemente *D. maidis* actúe como una especie adventicia, por lo al estar fuera de su área de distribución autóctona, sus poblaciones no sufren los efectos de los enemigos naturales coevolucionados (Moya-Raygoza *et al.*, 2008).

Tal como se registra al centro de México y al noroeste de Argentina, que durante dos periodos de lluvia, encontraron parasitoides de las familias Mymaridae y Trichogrammatidae en ambos países; 10 especies en Argentina y 6 en México. Y en donde reconocieron altos porcentajes de huevos parasitados en bajas elevaciones en ambos países, siendo *Anagrus breviphragma* Soyka la única especie que se encontró atacando a huevos de *D. maidis* en ambos países a altas y bajas elevaciones.

Aparte de los parasitoides antes dichos, también se reportan algunos depredadores como la chinche *Zelus*, mariquitas *Hippodamia convergens* y *Cycloneda sanguinea*, crisopas, avispas de los géneros *Polybia* y *Polistes*, y arañas de la familia Salticidae. Así como hongos entomopatógenos *Verticillium*, reportado en Bolívar, Manabí (Valarezo *et al.*, 2009). La cuestión de hongos entomopatógenos para el control del vector también se menciona más adelante, en el subcapítulo de otras alternativas.

Por otra parte, las larvas de ciertos parasitoides se alimentan y viven dentro de *Dalbulus maidis*, específicamente en la hemolinfa, tal como lo hace *S. kunkelii*, por lo que su interacción entre ambos dentro del vector para algunos investigadores es cuestionable. En el caso de *Gonatopus bartletti* Olmi (Hymenoptera: Dryinidae), que es uno de los parasitoides más observados en *D. maidis*, se ha comprobado que ambos pueden coexistir. Sin embargo, CSS sí puede verse afectado (Moya-Raygoza *et al.*, 2006).

Este efecto negativo de la larva parasitoide a CSS, mencionan que puede ser por: la producción de péptidos antibacterianos que son tóxicos a CSS, produce teratocitos que toman los nutrientes del huésped para su desarrollo y también son necesarios para CSS, afectan indirectamente a través de otros microorganismos simbiotes, o producen proteínas con actividad antimicrobiana que están presentes en el veneno de la larva (Moya-Raygoza *et al.*, 2006).

Esta interacción entre enemigos naturales-CSS-*D. maidis* no es muy favorable para las poblaciones de *D. maidis* ya que se debilitan y amenoran en número. En ensayos de laboratorio, se determinó el efecto de CSS sobre la chicharrita *D. maidis* ante la exposición a parasitismo o depredación por *Gonatopus bartletti* o enfermedad fúngica por *Metarhizium anisopliae*. Como resultados obtuvieron tasas bajas de chicharritas sobrevivientes infectadas con CSS y parasitados por *G. bartletti* ó infectadas con CSS y por *M. anisopliae*, pero sin

diferencia significativa en ambos casos. Las tasas más bajas significativas de sobrevivientes con CSS (durante todo su periodo de incubación) fueron las depredadas por *G. bartletti* con un. 54 % y 47% a los 10 y 20 días, respectivamente, comparada con las infectadas con 2 días de CSS o sin CSS, 91% y 78%, respectivamente (Moya-Raygoza *et al.*, 2008).

Los resultados de Moya-Raygoza *et al.*, 2008 sugieren que CSS podría aumentar la susceptibilidad de las chicharritas del maíz a la depredación por *G. bartletti*. Al tener largos periodos de incubación de CSS, las defensas y/o conductas de escape de *D. maidis* podrían debilitarse, se sabe que después de 2-3 semanas después de la exposición las células musculares se necrosan (Özbek *et al.*, 2003, Ammar y Hogenhout, 2005), y por ende es difícil escapar de su depredación.

### **8.6.3. Estrategias uso de insecticidas**

La protección de campos de maíz contra la infestación de la chicharrita del maíz, desde etapas tempranas hasta su maduración sería una estrategia razonable para salvaguardar los rendimientos. Los tratamientos con insecticidas durante estas etapas podrían ser esenciales para el control y así demorar o evitar la transmisión de patógenos. Algunos estudios indican que ciertos insecticidas, incluso su efecto residual, ayudarían contra dicho el insecto vector, incluyendo tratamiento en semillas, aspersión, foliar, etc.

En el caso de tratamientos de semillas, los más probados son imidacloprid y tiametoxano. Oliveira *et al.*, 2007 verificaron la eficacia de estos insecticidas para el control de *D. maidis* y su efecto sobre la incidencia de CSD tanto en vivero como en campo. Se realizaron 2 tratamientos: 1) En vivero, se trataron semillas de maíz con imidacloprid y tiametoxano y, en estas plantas, se confinaron chicharritas sanas e infectadas con fitoplasma o Spiroplasma. 2) En campo, se utilizaron los mismos insecticidas en las semillas y en aspersión a los 10 y 20 días después de la siembra. Para el caso de primer tratamiento, los adultos del vector se controlaron arriba del 50% hasta el día 30, y se redujo la incidencia de la enfermedad, el daño al crecimiento y producción de grano de plantas infectadas a los 2 días de la emergencia. En campo, no se observó ni reducción de la incidencia de la enfermedad, ni aumento de producción, posiblemente por la migración de chicharritas infectadas.

Para el 2008, Oliveira *et al.*, probaron otros tipos de insecticidas además de los mencionados: tiodicarbo más Zinc, tiodicarbo, carbofurán, carbofurán más Zinc y carbosulfan. Las semillas

se trataron o no con dichos insecticidas en condiciones de vivero. Los productos imidacloprid y tiametoxano fueron los más eficientes en el control del cicadélido, brindando una eficiencia de control de adultos de *D. maidis*  $\geq 70\%$ , hasta el trigésimo día de evaluación, luego de 4 a 24 horas de confinamiento de los cicadélidos.

Uriña *et al.*, 2019, por su parte, evaluaron la aplicación de insecticidas químicos (Imidacloprid, Clorpirifos y Acetamiprid) con diferentes frecuencias, valorando las características agronómicas del cultivo de maíz, con base a los tratamientos de estudio y determinando el insecticida más eficiente en el control del vector de la enfermedad. El mejor tratamiento que obtuvieron fue la aplicación de Imidacloprid en frecuencia de 3 veces obteniendo un rendimiento de 7834kg/ha. En general se concluyó que, en la altura de planta, inserción de mazorca, longitud de mazorca no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos.

Mamoré *et al.*, 2008 también comprobó que, dentro de sus tratamientos probados, imidacloprid en el tratamiento de semillas y cipermetrina con tiametoxan en aspersión foliar (desde los 14 días después de la emergencia hasta los 40) fueron mejores, con una eficacia de 72 y 61%, respectivamente, demostrando también un efecto residual.

Y enfocando más sobre ese efecto residual, Neves *et al.*, 2021 lo estudiaron con insecticidas neonicotinoides (clotianidina o imidacloprid, 600 g/L) sobre el vector tanto en campo como en invernadero. En ambos tratamientos se redujo los síntomas de la enfermedad y las pérdidas de rendimiento en un 20-60% hasta la etapa V4. Las pérdidas de rendimiento de maíz y los síntomas de atrofia visual clasificados por una escala ordinal de 9 categorías estaban fuertemente correlacionados. Estos resultados indican que las plantas de maíz son más susceptibles durante las etapas VE-V4, el tratamiento de semilla puede reducir el daño en etapas tempranas, pero es necesario un control suplementario.

Dado a que ensayos en viveros las variables son más controlables, los resultados en el control con mucho más satisfactorios que en campo; sin embargo, aún con la aplicación estratégica de los insecticidas no se llega a una eficacia cercana al 100%. Aunado a que mencionan en su mayoría, se requiere una atención más exhaustiva en las primeras etapas del maíz, porque de ahí deriva si se potencia o no las poblaciones de la chicharrita del maíz. Por esta razón, es

necesario el apoyo de otras herramientas o métodos que complementen a este tipo de estrategias, tal como lo sugirió Neves *et al.*, 2021.

#### **8.6.4. Otras propuestas para el control del vector o enfermedad**

Aunque han surgido propuestas como las señaladas previamente, existen algunas otras que podrían complementar o incluso sustituir por ser más innovadores, menos invasivas, y que hacen del control de poblaciones de *D. maidis* más eficiente. A continuación, se mencionan algunas sobre el control biológico con hongos entomopatógenos, químicas y biotecnológicas, y finalmente agroecológicas, por su gran relevancia hoy en día.

##### **8.6.4.1. Control biológico**

El uso de hongos entomopatógenos ha sido considerado una alternativa innovadora, con gran potencial como agentes de control, ya que existen más de 750 especies en el ambiente que al dispersarse provocan infecciones en poblaciones de insectos. Una vez en el insecto, extrae enzimas como proteasas, quitinasas, quitobiasas, lipasas y lipooxigenasas que van degradando la cutícula y coadyuban en el proceso de penetración (Pucheta *et al.*, 2006).

Para el combate contra la chicharrita, el género *Metarhizium* y la especie *Beauveria bassiana* son mayormente reportadas hasta el momento. Conforme a Ibarra-Aparicio *et al.*, 2005 hasta ese momento, estos hongos entomopatógenos no habían sido probados contra vectores hemípteros del suborden Auchenorrhyncha, a la cual pertenecen el mayor número de especies transmisoras con mecanismo persistente- propagativo como son miembros de las familias Cicadellidae y Delphacidae.

Las blastosporas de *Metarhizium* han sido probadas en adultos de *D. maidis*, con resultados exitosos, tales como, *Metarhizium robertsii* con alta virulencia en concentraciones de  $1 \times 10^7$  (células secas) y  $5 \times 10^7$  (frescas) (Iwanicki *et al.*, 2020) o *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin donde la cepa M362 produjo el mayor porcentaje de mortalidad y esporulación, 40.1% a los 25 días después de la aspersión, y 52.8% a los 3 días sobre los individuos muertos, respectivamente (Ibarra-Aparicio *et al.*, 2005).

En cuanto a *Beauveria bassiana* también ha sido probada para el control de adultos de chicharritas del maíz, aunque con menos éxito que las especies *Metarhizium*, como en el caso de Ibarra-Aparicio *et al.*, 2005, donde una cepa de *M. anisopliae* resultó mejor.



En Argentina, se identificaron hongos entomopatógenos nativos de diferentes regiones en cultivos de maíz y sorgo, donde se registran cepas de *B. bassiana* (CEP 147, CEP 150, CEP 189) siendo más efectivas en contra de *Peregrinus maidis* y de *Delphacodes kuscheli* a comparación de *D. maidis* (Toledo *et al.*, 2007). Sin embargo, cabe señalar que, aunque la mortalidad de *D. maidis* inoculada con *B. bassiana* fue menor comparada con los otros insectos,  $49.9 \pm 9.7\%$ , fue más alta que la reportada por Ibarra-Aparicio *et al.*, 2005 después de 25 días de la inoculación, 8.6-22.5 %.

Algo interesante a destacar es que algunos individuos cambiaron su cutícula a color negro después de morir, por lo que lo atribuyen como un mecanismo de defensa mediante la producción de pigmentos de melanina o la interacción entre el hongo y bacteria (Toledo *et al.*, 2007).

Dado a que *B. bassiana* no se ha notado con gran efectividad sobre *D. maidis*, han aislado bacterias antagonistas de la superficie cuticular del vector. De 155 cepas aisladas, Toledo *et al.*, 2011, encontraron que 91 inhibieron el crecimiento de *B. bassiana* (Balsamao-Crivelli). Algunas de las más efectivas fueron: *Bacillus thuringiensis* Berliner, *B. mycooides* Flügge, *B. megaterium* de Bary, *B. pumilus* Meyer y Gottheil, *B. licheniformis* (Weigmann) y *B. subtilis* (Ehrenberg), esta última ha sido reportada con propiedad antibiótica y antifúngica. Además, encontraron que las bacterias aisladas de *D. maidis* fueron significativamente más antagonicas contra *B. bassiana* que aquellas aisladas de *Delphacodes kuscheli*.

Con ello entonces, los autores sugieren que existe una competencia directa o antibiosis (asociación entre dos organismos y uno de ellos sale perjudicado) de las bacterias asociadas a las chicharritas que reduce o inhibe a *B. bassiana*. La identificación de los compuestos naturales envueltos en esta inhibición, serían clave para el control de *D. maidis*.

#### **8.6.4.2. Propuestas químicas y biotecnológicas**

Los mecanismos químicos, liberación de ciertos compuestos, y en general las respuestas intrínsecas y extrínsecas que se generan al entrar en contacto patógeno-vector-enemigos naturales-hospedador son inmensas, desde la activación primaria del sistema inmune, pasando por la activación de ciertos genes, hasta cambios fenotípicos. En este subcapítulo se muestran sólo algunos métodos propuestos enfocados en dichos mecanismos para un mejor control de poblaciones, ya sea de *S. kunkelii* o del vector *D. maidis*.

Como ya se apuntó previamente, los compuestos volátiles orgánicos (VOCs) trascienden por brindar señales a otros organismos, e incluso a la misma planta, y así modificar el entorno de las especies que lo producen, sus vecinos y enemigos (Marín-Loaiza y Céspedes, 2007). Como en el caso del linalol en plantas de maíz, del cual manifestaron podría ser parte de una mezcla de atrayentes hacia el vector (Coll-Aráoz *et al.*, 2019).

Igualmente se reporta que ciertos tipos de maíz producen más cantidad de volátiles inducidos después del ataque de chicharritas, como una variedad local en Argentina, que produjo 6 veces más que los híbridos, lo que les permitía a chicharritas hembras diferenciar entre plantas atacadas o las que no, además de atraer a la avispa *Anagrus virlai* las plantas dañadas (Coll- Aráoz *et al.*, 2020).

De este modo, el uso de compuestos volátiles orgánicos podría ser un método potencial para atraer y remover los insectos de cultivos importantes mediante cultivos trampa, combinados señales visuales y olfativas (Coll-Aráoz *et al.*, 2019).

Por otro lado, también existen moléculas con gran potencial en la inhibición de ciertas bacterias. Para el caso de *S. kunkelii* y *S citri* fueron probados, por ejemplo, péptidos con actividad antimicrobiana (AMPs, por sus siglas en inglés) en condiciones in vitro, tales como Novispirina T7, Caerín 1.1, Tricolongina y Dhvar4, siendo los 2 primeros más eficientes en inhibir a ambos fitopatógenos comparados con la eficacia de tetraciclina, observando una deformación de las células, lo que indica que existe una interacción de estos AMPs con la membrana celular. La concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés) reportada fue de 25 µg/ml. de ambos AMPs para ambos patógenos, aunque Novospirina T7 fue más sensible con 1.56 µg/ml. (Wei *et al.*, 2021).

En el caso Novispirina y Caerín, su actividad antimicrobiana, además de inhibir el crecimiento, está relacionada con la interrupción en la formación de biocapas o biopelículas de ciertas bacterias como *P. aeruginosa* tratada con tobramicina y derivados de novispirina G10 (Rodríguez-Martínez y Pascual, 2007); o la combinación de caerin 1.1 y 1.9 que inhibió a *Staphylococcus aureus* resistente a metacilina, crecido en piel (Chen *et al.*, 2021).

Esta información es de gran relevancia ya que algunas especies Mollicutes contienen en su membrana celular ciertas proteínas con capacidad de adherirse ((Bastian *et al.*, 2012), como

la adhesina (Davis *et al.*, 2004), amiloide (Bastian *et al.*, 2012) o las mencionadas en el capítulo de “*S. kunkelii*”.

Por otro lado, los métodos moleculares han resultado ser muy innovadores en la actualidad, por su alta efectividad, poco invasivos y ser muy selectivos. El uso de ARN de interferencia (ARNi) es prometedor en sus resultados, puesto que se basa en la supresión de la expresión de genes específicos. Así como Jones *et al.*, 2021, quienes “silenciaron” los genes V-ATPasa subunidad B y D del vector *D. maidis*, encargados de sintetizar la enzima ATP sintetasa vacuolar y ésta a su vez es partícipe en la producción de ATP. El tratamiento resultó exitoso ya que, a los 4 días de ingesta las poblaciones fueron disminuyendo, reportando al final una mortalidad mayor al 50%; además de mencionar que para los adultos que mudaron de 5to. Instar desarrollaron alas deformadas y pequeñas, lo que reducía su capacidad de moverse y volar.

Del mismo modo, Dalaisón-Fuentes *et al.*, 2022 desarrollaron métodos eficientes con ARNi contra el gen Bicaudal C (BicC) quien juega un rol importante durante la ovogénesis del insecto. Administraron una doble cadena de ARN causando reducciones en los niveles del transcripto y oviposición. Análisis fenotípicos de los ovarios relevaron alteraciones en el desarrollo del Ovocito.

Las proteínas y enzimas de los insectos juegan un rol crítico en la trasmisión de patógenos de las plantas (Jones *et al.*, 2021), por lo que entender los genes del insecto son la clave para facilitar el entendimiento de dicha transmisión. Y de la misma forma conocer su interacción con CSS, y lo que fomenta esta relación, abriría un panorama más amplio para evitar el desarrollo y propagación de la enfermedad.

#### **8.6.4.3. Agroecológicas**

Las alternativas agroecológicas buscan tratamientos que sean lo menos invasivos al agroecosistema, minimizando la intensidad de las perturbaciones para hacer funcionar en armonía a todos los componentes en materia (Hecht, 1999). Esta comprensión no es vista desde un punto de vista unilateral, sino que busca diversos saberes y conocimientos, por lo que no está peleada con otras tecnologías (Norgaard y Sikor, 1999; Holt-Giménez, 2008).

Dentro de las técnicas agroecológicas más comunes para el combate contra plagas en cualquier cultivo está el uso de extractos naturales y aceites esenciales. Este último se propone podría ser una opción viable en la inhibición de la máquina Quorum sensing (QS) de CSS, quien regula la expresión de factores de virulencia de bacterias patogénicas como la producción de biopelículas, enzimas hidrolíticas, toxinas y plásmidos. Por ejemplo, aceites esenciales de canela, lavanda, eucalipto y tomillo (0.25-1 ppm) reduce significativamente la formación de biopelículas de *R. solanacearum* (Gutiérrez-Pachecho *et al.*, 2019).

En cuanto a extractos usados contra la chicharrita del maíz, Gutiérrez, 2019 reporta en su tesis las opciones de extractos etanólicos de Agave, de Molle y una cocción acuosa de Tarwi sobre vectores con las chicharritas. La dosis de aplicación general fue de 50 ml extracto/L de agua en 4 veces (a los 15 días después de la siembra, a los 31, 45 y a los 61 días de edad del cultivo), sin aplicación agroquímica. El de mejor efecto, cuando las plantas tenían 2 a 3 hojas, en la primera aplicación fue el de Molle con 79.17% de eficacia. Siendo el que presentó compuestos fenólicos mayormente y además con el mayor rendimiento neto de cultivo de grano, con 1664.29 Kg/ha.

Por último y no menos importante, las técnicas de control cultural también han venido al rescate de muchos productores, ya que disminuye el uso de insecticidas y amenoran sus costos de producción. En el tema de manejo de la chicharrita del maíz y de la CSD, en Nicaragua se ha probado la técnica de “Reflective Mulch”, quienes redujeron significativamente las poblaciones adultas y la incidencia de la enfermedad causada por CSS en maíz dulce en períodos tardíos (Summers y Stapleton, 2002).

Mediante esta técnica comprobaron que es mucho más efectiva que la aplicación de insecticidas ya sea foliar o al suelo para el manejo tanto del vector como el patógeno; incluso mejoraron significativamente el rendimiento de cultivo. Mencionan que esta estrategia podría ser útil tanto para productores con recursos limitados, como de orgánico que desean crecer maíz sin el uso de insecticidas (Summers y Stapleton, 2002).

## **9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

La discusión de resultados se dividió conforme a la metodología de la búsqueda de información y la información misma desde un punto de vista agroecológico, teniendo en cuenta perspectivas a futuro.

### **9.1. Revisión sistemática**

La revisión sistemática guiada por la metodología PRISMA, 2020 logró recopilar información destacada para responder a la pregunta de investigación: *¿Qué relación tiene Spiroplasma kunkelii con la alta incidencia de la enfermedad de achaparramiento en maíz y su vector Dalbulus maidis?* Sin embargo, la pregunta es respondida parcialmente ya que los estudios encontrados se enfocaban en uno u otro tema y no como tal en la interacción tan compleja que resulta entre el patosistema *S.kunkelii-Dalbulus maidis*-cultivo de maíz. Esto desde nivel molecular, donde se explique específicamente la respuesta sistemática ante tal interacción, o nivel macro observando ciertos comportamientos fenotípicos, por ejemplo.

Como se pudo observar en la Figura 5 y 8, la mayor parte de los estudios enfocados a responder la pregunta de investigación comenzaron a tener auge después de los 2000's, en especial aquellos publicados en el 2002 y 2004, aunque ya había reportes previos sobre *D. maidis* y *S. kunkelii*. ¿Por qué comenzó a surgir interés sobre la enfermedad de achaparramiento?

La distribución geográfica y en especial los daños en producción y económicos ocasionados por la enfermedad sólo se notan en ciertos años, como en el caso de Nicaragua, California en EUA, y Brasil con la aparición repentina de epidemias en ciertos años, o el aumento de severidad de dicha enfermedad por la acción combinatorio de patógenos en México o Argentina sin la existencia de algún tratamiento exitoso. El aumento de casos con la enfermedad de achaparramiento y sobre todo que no existe algún tratamiento seguro ya con la enfermedad avanzada, podría sugerir un parteaguas para comenzar un análisis más profundo.

Aunado a eso, los estudios siguen una secuencia cronológica al abordar el tema de achaparramiento de maíz ocasionado por CSS y transmitido por *D. maidis*. En los años más lejanos se empezaban a estudiar ciertos hábitos o características tanto del patógeno como del vector que estuvieran relacionadas o no con la enfermedad, posteriormente después de los

2000's se enfocaban más a su adaptación a ciertas condiciones externas, especialmente del vector *D. maidis*, y finalmente en años recientes se notó más el aumento hacia tratamientos contra la enfermedad o vector (Nótese figura 9).

A pesar de que la palabra clave en la búsqueda de información fue "*Spiroplasma kunkelii*", no se obtuvo más información sobre la bacteria comparada con la de tratamientos (T) y el vector (V), con un 34.7% y 28.9%, respectivamente. Esto podría ocurrir por lo indicado anteriormente que no existía una relevancia de los daños de la enfermedad de achaparramiento ocasionado por CSS, hasta los años 80's en adelante; además de lo complicado que resulta ser el análisis de *S. kunkelii* dadas sus características mencionadas.

En cuanto a la calidad de los estudios, la mayoría cumplió con los aspectos evaluados referidos en la tabla 2, ya que más del 90% son artículos publicados, por lo que seguían el método científico. Los estudios restantes lo conformaban tesis, capítulos de libros, boletines y notas científicas que de igual forma cumplieron con el contenido y características requeridas. No hubo mayor problema, puesto a que se bajaron de bases de datos confiables, donde solicitan que cumplan ciertos requerimientos para su publicación.

A pesar de que se incluyeron 16 buscadores para la recopilación de la información, no se obtuvo datos más detallados que pudieran aportar a un análisis más profundo para entender la interacción de dicho patosistema. De manera que aún no existen estudios que hagan posible su comprensión; o se requiere una búsqueda más completa con otras palabras clave y otras estrategias para recopilar la información.

Dentro de las estrategias que pudieron fortalecer esta revisión pudieron ser el contacto directo con autores con especialización en este tema, ya sea mediante congresos, conferencias o por e-mail, búsqueda de información en otros sitios Web diferentes a los buscadores seleccionados, visitas a sitios físicos como bibliotecas o instituciones pertinentes y otros recursos de búsqueda. Para el caso de la búsqueda en las bases de datos, se pudo haber aplicado diferentes palabras clave y limitar criterios de exclusión por el hecho de ser un tema poco conocido. Aunque en esta revisión sí se limitaron los criterios de exclusión, se pudieron probar otras palabras clave.

El total de estudios incluidos fue un número relativamente alto. Esto debido a que se pretendía encontrar el mayor número de datos posibles que colaboraran al tema, siendo entonces una revisión altamente sensible, pero poco precisa al incluir todo tipo de estudios.

El uso de palabras en texto libre o herramientas como operadores booleanos eran en un principio parte de los criterios de inclusión y exclusión; sin embargo, existía sesgo en los resultados al arrojar opciones no relacionados con el tema, por lo que en esta revisión no fueron buena estrategia de búsqueda.

El protocolo basado en la guía PRISMA fue de gran ayuda ya que con ello se pudo realizar una búsqueda más ordenada y limpia, ahorrando tiempo para enfocarse más en el análisis de los datos encontrados. Además, logró el cumplimiento de la mayoría de los objetivos establecidos.

En cuanto al análisis descriptivo de las características generales de los estudios, como el año de publicación, país de estudio, tema principal y buscadores donde fueron encontrados tuvieron una tendencia esperada. El porcentaje de estudios en cuanto a publicación creció significativamente en el periodo 1999-2010, posiblemente dado que comenzaron a aumentar ciertos casos de pérdidas cuantiosas en América en años previos.

Como se indicó anteriormente, el estudio de la enfermedad siguió una tendencia, comenzando con el estudio del patógeno CSS entre 1975-1998, siendo Estados Unidos el principal en analizarlo posiblemente por reportes de hallazgo y tener más recursos económicos a su investigación. Posteriormente en el periodo 1999-2010 se enfocaron más en el vector *D. maidis*, en su mayoría a su sobrevivencia atemporal, y los posibles tratamientos a la enfermedad, México fue el principal en aportar en este periodo sabiendo de antemano el riesgo que representa tal vector conforme a otros que transmiten la misma enfermedad.

Y finalmente en el periodo 2011-2022 los estudios de tratamientos fueron los principales, la mayor parte orientados hacia la creación de nuevos genocultivares de maíz y uso de parasitoides (Ver Figura 17). Argentina y México dominaron este periodo, el primero probablemente por el aumento de casos de pérdidas tanto en producción como rendimiento, y el segundo por la presencia de la enfermedad en ciertos casos, pero en menor grado en estados como Veracruz y Jalisco y por fines de investigación. Aunque no se conoce aún su

interacción del patosistema, algunos los tratamientos se encauzan en la incapacidad individual, ya sea del vector o patógeno.

Por último, de los buscadores contemplados en la RS la mayoría contribuyó con información distinguida al entendimiento de la enfermedad. ResearchGate fue el principal en aportar con 21% de la información (ver Figura 10), esto puede ser por ser un portal amplio y disponible para cualquier persona involucrada en cualquier área científica. Además, en los tres periodos sugeridos tiene una dominancia sobre los demás buscadores, lo que significa que maneja información antigua y actual, lo cual es muy bueno para cualquier antecedente que tenga que ver con achaparramiento del maíz.

En segunda instancia “Otros” buscadores tuvo gran influencia con un 14%, como se mencionó en esta RS se contemplaron artículos que ya se habían rescatado de una búsqueda previa, por lo que podría aseverarse que fue una búsqueda significativa.

Redalyc es un buscador de origen mexicano, por lo que tuvo gran influencia en incremento de estudios de este país. Lo mismo sucedió con demás buscadores, tales como Scielo, Pubmed, AgrisFao, SEDICI, Wiley Online Library, etc. donde se encontraban trabajos específicos de ciertos países como Brasil, Estados Unidos, Argentina, e incluso fuera del continente como Francia. Aunque algunos de ellos aportaron poca información, fue de suma importancia ya que ampliaron el entendimiento del achaparramiento del maíz bajo sus condiciones.

En general, los 16 buscadores contemplados fueron de gran ayuda, como se dijo previamente, por ampliar los datos obtenidos en diversos países sobre el achaparramiento haciendo de la RS más sensible, pero poco precisa al no abordar como tal al patosistema, sus interacciones sobre todo para un mejor entendimiento. A pesar de que la mayor parte de los estudios encontrados se orientaron hacia tratamientos posibles contra la enfermedad o el vector, ninguno ha sido aseverado como 100% exitoso en campo y que ya lo apliquen como estrategia protocolizada.

## **9.2. Perspectiva agroecológica**

Para lograr estrategias de control satisfactorias, es necesario en primera instancia entender los componentes que involucran la enfermedad de achaparramiento del maíz, incluyendo a



*S. kunkelii*, *D. maidis* y el cultivo de maíz, posteriormente su interacción entre ellos y finalmente su reacción al exterior.

Actualmente los agroecosistemas son vistos como modelos meramente productivos, cortoplacistas y no como modelos funcionales, con falta de visión sistemática, que no contemplan otros componentes que están relacionados ya sea directa o indirectamente con las actividades agrícolas, donde las ganancias económicas son su principal objetivo (Sarandón y Flores, 2014).

Estos modelos se basaron en los propuestos en la Revolución Verde (RV), donde incentivaban prácticas diferentes a las que realizaban productores locales como el uso de agroquímicos, semillas híbridas, sistema de irrigación, uso de maquinaria, etc. Esto ha generado una serie de cambios en el ambiente, trayendo consecuencias como el incremento de plagas y enfermedades, la susceptibilidad de los cultivos, baja diversidad en los sistemas agrícolas, poca fertilidad del suelo, entre otros; sin mencionar las cuestiones sociales y culturales (Sarandón y Flores, 2014).

Los sistemas de irrigación han aumentado en lo que respecta al cultivo de maíz en todo el continente americano y algunos investigadores los han relacionado con el incremento del achaparramiento del maíz en países como Nicaragua, Estados Unidos, Brasil e incluso México (Hruska *et al.*, 1996; Summers *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2013; Galvao *et al.*, 2020), quienes lo relacionan de forma favorable hacia el vector *D. maidis* principalmente por su disponibilidad de alimento, y por tanto un aumento de las poblaciones y mayor riesgo de adquirir la enfermedad.

Los sistemas de irrigación además de permitir un incremento en la disponibilidad de alimento, puede favorecer un microclima más agradable a los vectores, una disminución de enemigos naturales por la temporada (Meneses *et al.*, 2016), y la atracción de más chicharritas que llegan de otras regiones (Oliveira *et al.*, 2013).

Las chicharritas que migran largas distancias hacia campos de cultivo irrigado proponen también es una estrategia de sobrevivencia en ciertos países como Brasil, ya que no cuentan con hospedadores alternativos (Oliveira *et al.*, 2013) como en México o regiones de Centroamérica (Nault, 1990).

En México el 10% del maíz es irrigado del total sembrado, que, aunque parece poco, los sitios están bien distribuidos, de tal forma que los vectores no necesitan viajar largas distancias para colonizar nuevos cultivos (Moya-Raygoza *et al.*, 2007). Esta distribución puede afectar a los pequeños y medianos productores de temporal que se encuentren aledaños a las zonas ya que, para próximos ciclos, podría aumentar las poblaciones de *D. maidis*; cabe mencionar estos productores suman el 75% de la producción de maíz anual (SADER, 2019).

Asimismo, la adaptación del vector hacia ciertas condiciones hace aún más retardador su erradicación. Si bien, las condiciones favorables para su desarrollo recaen en climas cálidos con temperaturas de 25-30°C (Waquil *et al.*, 1999; Tsai, 1988; Konai *et al.*, 1996; Galvao *et al.*, 2020), han comprobado su adaptación a condiciones más extremas, como en invierno en regiones con bajas y altas altitudes (Virla *et al.*, 2003; Summers *et al.*, 2004; Larsen y Nault, 1994), fomentando en estas últimas cambios en su morfología y fisiología (Oliveira *et al.*, 2004; Triplehorn y Nault 1985; Oliveira, 1996; Larsen y Nault 1994). Además de sobrevivir largos periodos sin maíz en invierno (Summers *et al.*, 2004).

Es muy probable que los cambios en su dinámica, de pasar a ser una plaga cíclica a persistente, sea por cambios en su genética causados a su vez por bajas temperaturas y cambios en la forma de cultivo en la región. Por ejemplo, en los años 80's hubo una migración de la industria lechera del sureste de California a San Joaquín Valley (SJV), EUA, lo que aumento de ensilado de maíz de 18,000 Ha. en 1988 a 76,000 en 2003. Esto provocó una prolongación de siembra desde marzo hasta septiembre, cosechando hasta en noviembre y un aumento de superficie de siembra (Summers *et al.*, 2004).

En cuanto a su interacción con *S. kunkelii* a estas condiciones, en altitudes altas también se ha reportado mayor sobrevivencia de chicharritas infectadas que las no infectadas, mantenidas sólo en arena húmeda o avena *Avena sativa L.* (Ebbert y Nault 1994), por lo que si la relación entre la chicharrita del maíz y CSS es mutua podría depender de ciertas condiciones predominantes (Moya-Raygoza *et al.*, 2008).

Lo anterior se relaciona también con la interacción que tienen con algunos de sus enemigos naturales, ya que no es muy favorable para el vector. Al exponer chicharritas infectadas con CSS ante *Gonatopus bartletti* o *Metarhizium anisopliae* se obtuvieron tasas bajas de poblaciones, sugiriendo que CSS, en periodos largos de incubación, podría aumentar la

susceptibilidad de las chicharritas del maíz a la depredación por *G. bartletti* (Moya-Raygoza *et al.*, 2008). Con ello entonces se deduce que la relación entre *S. kunkelii* y *D. maidis* no es meramente beneficiosa, sino como se menciona dependerá de ciertas condiciones en el ambiente.

Algo interesante a destacar es que *G. bartletti* es común en México y Centroamérica, donde las densidades de chicharritas del maíz infectadas con CSS son más bajas que en el norte de Argentina, donde el parasitoide *G. bartletti* no ocurre. Las densidades de especies adventicias tendrán éxito fuera de su área de distribución autóctona porque sus poblaciones no sufren los efectos de los enemigos naturales coevolucionados (Moya-Raygoza *et al.*, 2008).

El alcance que puede llegar a tener el vector *D. maidis* junto con *S. kunkelii* es grande por su relación persistente propagativa (Giménez-Pecci *et al.*, 2012). Además, existen ciertas características que hacen del vector más resistente sobre otros cicadélidos o especies *Dalbulus* tales como: sostenimiento de generaciones poblacionales (Todd *et al.*, 1991), su amplia distribución conforme a su género, alta movilidad (Triplehorn y Nault, 1985), su capacidad de transmisión de CSS (Ebbert *et al.*, 2001), y su capacidad de sobrevivencia antes mencionada.

Por ejemplo, la duración ocasionada por la penetración del estilete de la chicharrita es larga (Carpane *et al.*, 2011), lo que podría ser clave para correlacionarlo con la transmisión de CSS y el daño sobre el tejido de la planta. O su crecimiento y distribución espacial de forma vertical y horizontal conforme a otras especies, punto crítico para establecer más generaciones (Todd *et al.*, 1991).

En cuanto a la respuesta intrínseca de la planta del maíz ante estos dos actores se sabe muy poco, pero lo más relevante es su emisión de VOCs, donde se ha notado más cantidad en maíces locales que en híbridos, lo que provoca más ataque en estos últimos y además de no atraer a enemigos naturales (Coll- Aráoz *et al.*, 2019, 2020). El hecho de un incremento en sus defensas no excluye a las variedades locales, nativas o criollas de adquirir la enfermedad de achaparramiento, pero sí tomarlas en cuenta para un mejoramiento genético participativo con productores de cierta región (Monforte, 2019).

Aunado a eso, ya existen algunos compuestos caracterizados ante el ataque del vector, como el ácido salicílico que resultó en alta expresión en maíz comparado con teosintes, donde se notó más ácido jasmónico, sugiriendo un cambio en la respuesta de defensa a lo largo del tiempo y domesticación (Chinchilla- Ramírez *et al.*, 2017).

También se ha observado un cambio en su composición nutrimental al ser expuestos a Mollicutes, conteniendo menos proteína, menor capacidad de consumir nutrientes y específicamente para Spiroplasmas muestra un efecto perjudicial en el consumo de magnesio, y por tanto efectos adversos en su crecimiento (Oliveira *et al.*, 2002). Estudios previos han sugerido la relación entre la expresión de los síntomas de la enfermedad con la competición del catión entre la planta y el patógeno (Nome *et al.*, 2009).

Se ha comprobado que el ataque de *D. maidis* a las plantas de maíz es más común en aquellas con más contenido de nitrógeno, sulfuro, calcio y cobre en las hojas (Schetino *et al.*, 2007), por lo que podría explicar su preferencia hacia plantas transgénicas, cuyas características químicas y/o morfológicas cambian afectando el comportamiento de *D. maidis*. Estos cambios en la planta podrían tener implicaciones ecológicas (Virla *et al.*, 2010) inclusive en su entorno.

Conforme a su relación con el exterior, se ha notado que el manejo del cultivo como el uso de la fertilización nitrogenada influye en las poblaciones de *D. maidis*, por lo que podría mitigar los efectos negativos de la enfermedad sin afectar el control natural de parasitoides (Virla *et al.*, 2022).

Aunque ya se conoce a detalle algunas estrategias de la planta de maíz, aún no hay información suficiente de cómo *S. kunkelii* y el insecto *D. maidis* evaden y manipulan la expresión de la resistencia del maíz. La identificación de proteínas efectoras que suprimen la respuesta de defensa de la planta y con ello promueven la susceptibilidad a la enfermedad, pueden ser la clave en el desarrollo de estrategias de control genético contra dichos agentes patogénicos (Jones y Medina, 2020).

En el trayecto de su estudio han surgido una serie de tratamientos propuestos que van contra el patógeno y/o el vector, este último en mayor proporción. El uso de insecticidas es de los más comunes, reportando a imidacloprid y tiametoxano como los más eficientes, aunque no

en un 100% y aplicados con más frecuencia, lo que podría resultar contraproducente ya que podría involucrar la resistencia genética de la plaga, alterar la estructura del suelo y en general daños al medio ambiente (Altieri y Nicholls, 2000).

El uso de estos productos, además, no son específicos puesto que puede de igual forma eliminar a los insectos benéficos, enemigos naturales (Hruska y Gomez Peralta, 1997) de *D. maidis*. En cuestión de salud, no salen exentos ya que en Nicaragua se ha reportado cerca del 50% de envenenamiento de pequeños productores con el uso de carbofurán al aplicarlo para el control de la chicharrita en el maíz (McConnell y Hruska 1993).

Otra alternativa de tratamiento muy divulgada es la creación de nuevos genocultivares de maíz resistentes a la enfermedad de achaparramiento, ya sean entre locales o híbridos, y que al mismo tiempo tengan buenas características agronómicas, incluyendo buenos rendimientos; sin embargo, la enfermedad persiste aún sea en menor grado. La mayoría de los programas que están en esta búsqueda de creación de semillas resistentes pertenecen a grandes corporaciones que han implementado la agricultura convencional en México, regida por la RV ya mencionada.

Los cultivos en monocultivo son otra práctica recurrente en este tipo de agricultura, cuyas plantas suelen tener un comportamiento homogéneo en su genética, por lo cual no poseen mecanismos ecológicos necesarios de defensa para tolerar el impacto de grandes poblaciones de plagas, confirmando lo que expone la teoría de la trofobiosis (Chaboussou, 1987) y el comportamiento de ciertos tipos de maíz con la expresión de VOCs antes mencionados.

Hasta ahora, se puede comprobar entonces que el uso de herramientas y metodologías propuestas por la agricultura convencional, como los sistemas de irrigación, uso excesivo de insecticidas, así como el uso de ciertos cultivares en monocultivo con genética homogénea o transgénicos han provocado una serie de cambios en el ambiente que favorecen altas poblaciones de *D. maidis*, su adaptación y mayor riesgo de propagación de la enfermedad de achaparramiento.

Aunque no se conoce a ciencia cierta las causas de la enfermedad de achaparramiento del maíz, sí se conoce las dificultades que han traído las prácticas de la agricultura convencional al sector agrícola ya que altera fuertemente los ecosistemas naturales donde se implementa

(Sarandón y Flores, 2014), de modo que la falta del equilibrio en el agroecosistema podría ser gran parte de la alteración de comportamiento del patosistema y por ende la propagación de la enfermedad.

Aunado a lo anterior, se ha comprobado que el cambio climático puede aumentar el riesgo de propagación de las plagas en cualquier agroecosistema, en especial aquellos de regiones frías y templadas (IPPC, 2021), ya que existe un cambio de temperatura y es favorable para vectores de otras regiones de temporal. Esto también podría explicar posiblemente las nuevas rutas de distribución de *D. maidis*.

Los efectos del cambio climático también se han pronosticado como causantes del cambio de hábitat de *D. maidis*, que conducirán a una disminución en áreas aptas para su desarrollo, pero con riesgo para otras fuera del continente, como Etiopía, Kenia, Rwanda, etc. para el año 2050 y 2070 (Santana *et al.*, 2019). Áreas como África oriental y la India están previstas que para el 2060 tengan cambios de precipitación pluvial, aumentando el escurrimiento, a comparación de áreas de América central, norte de Brasil, sur de África, disminuirá (FAO, 2023). El cambio de condiciones ambientales, como el agua y temperatura, indican factores clave en la sobrevivencia del vector.

Además, la mitad de las enfermedades vegetales emergentes se propagan por medio de los viajes y el comercio mundial, cuyo volumen de ha triplicado en la última década (IPPC, 2021). Una vez establecida la plaga en el nuevo territorio, es difícil erradicarla, por la falta de enemigos naturales, y no tener un plan de control establecido.

En México no se sabe con exactitud el origen de la enfermedad en el país, sin embargo, los estados donde se ha reportado presencia y se ha indagado más sobre el tema (Jalisco y Veracruz, ver Figura 13) son aquellos donde se manejan sistemas de producción a mediana y gran escala, algunas transnacionales, con maíces híbridos de origen extranjero, y a menudo hay un intercambio de materias primas con el exterior. Dado esto es posible contaminación e invasión de la enfermedad de achaparramiento.

Es por ello que, es preciso indagar más allá del patosistema *S.kunkelii-D.maidis*-maíz para saber sus posibles interacciones que podrían estar estimulando o perpetuando su desarrollo, como prácticas culturales, hábitos en la región, adopción de nuevas técnicas, introducción de

nuevos insumos, etc. mediante el diálogo con los productores y personas de la región (Norgaard y Sikor, 1999; Holt-Giménez, 2008).

El uso de nuevas tecnologías inducidas por grandes instituciones o técnicas agroecológicas de pequeños productores no deben estar peleadas, ya que ambas podrían mitigar gran parte del problema. Prácticas como el control biológico con especies parasitoides o blastosporas del género *Metarhizium*, el uso estratégico de VOCs con cultivos trampa, compuestos naturales con actividad antibiótica, uso de herramientas moleculares (RNAi), extractos de plantas medicinales, técnicas culturales como el “Mulch”, etc. Aunque siempre tomando las medidas precautorias sobre las repercusiones que traerían su empleo en el campo.

Otras medidas preventivas son el control de la dinámica del vector, monitoreando su actividad desde invierno hasta la temporada de sembradío; evitar en lo posible maíz por irrigación o reservorios que podrían fomentar su sobrevivencia; dado a que son capaces de distinguir entre una tierra labrada y no (Oliveira *et al.*, 2013), la práctica no labranza podría evitar su atracción; y agroecosistema en policultivo, diversificando de esta manera la entomofauna de tal manera que se encuentre un equilibrio.

Conforme a todo esto, se entiende y recalca lo que se había mencionado en el principio de la discusión, donde el entendimiento de la enfermedad de achaparramiento ocasionado por CSS va más allá de lo que la conforma, buscando sus posibles interrelaciones que podrían potenciar su aparición y propagación. La Agroecología se centra justo en las relaciones ecológicas del campo, al conocer mejor estos procesos y sus relaciones pueden ser mejor administrados, con menores impactos negativos en el medio ambiente y la sociedad. (Hecht, 1999).

## **10. CONCLUSIONES**

La revisión sistemática basado en la guía PRISMA permitió llevar a cabo una búsqueda más ordenada y coherente, de tal manera que el tiempo fue más eficiente para lograr una recopilación y análisis de la información más íntegra. La mejor estrategia de búsqueda fue el uso de la palabra clave “*Spiroplasma kunkeli*” ya que los resultados iban más acorde al tema central de investigación; sin embargo, se podría intentar con algunas otras palabras clave,

además de usar otras estrategias de búsqueda como el contacto directo con autores, visitas a congresos, instituciones o bibliotecas correspondientes.

Los buscadores seleccionados abordan temas relevantes al área de interés, pero también a algunas otras que tienen relación. El amplio número de buscadores y estudios seleccionados logró una revisión sensible, pero poco precisa al no acotar los estudios que trataran específicamente en la interacción CSS-*D. maidis*-cultivo de maíz. A pesar de que se depuró de forma efectiva un gran número de trabajos previo a la selección.

El uso de tablas y gráficas fueron de gran aporte en la extracción de datos más importantes de cada estudio seleccionado. Además, permitió correlacionar el contenido de algunos con otros, logrando así un análisis más profundo. Por ejemplo, el auge o tendencia de estos se nota a partir de los 2000's, después de algunos casos o antecedentes de epidemia de la enfermedad del achaparramiento del maíz en ciertos países.

En cuanto a relevancia de la información recopilada permitirá a futuras investigaciones hacer del entendimiento de la enfermedad de achaparramiento más claro. El descubrimiento de diversos efectores involucrados en la patogenicidad de *S. kunkelii*, tales como como skARP, *traK* y *traE*, *pE*, *AtA*, proteínas o genes con función en la adherencia a células huésped, con capacidad virulenta, en la división celular, e incluso su relación con efectores de otras bacterias patogénicas pueden ser clave en su interacción con *D. maidis* y la planta de maíz.

Con respecto a la distribución geográfica, aún se observan a la enfermedad y al vector desde el sur de Estados Unidos hasta Sudamérica; sin embargo, se ha registrado extensión a zonas con altitudes más altas, relacionando este comportamiento a una adaptación del vector al medio. Además de contemplar nuevos territorios de invasión fuera del continente para futuros años por cambios en el clima conforme a herramientas bioinformáticas.

De igual manera se notó que un gran número de autores concordaban una correlación positiva entre agroecosistemas de irrigación y la enfermedad de achaparramiento y/o la presencia del vector *D. maidis*. Aunado al aumento de estrategias de sobrevivencia en invierno del vector, incluyendo la ayuda mutua con CSS, la posible resistencia a plaguicidas y nuevos genocultivares de maíz, hacen que la enfermedad sea cada vez más considerable.



Finalmente, desde una perspectiva agroecológica, los hechos reportados conforme al comportamiento de la chicharrita del maíz *D. maidis* y *S. kunkelii* sobre el cultivo de maíz son esperados por el tipo de agroecosistemas que la mayoría de los productores posee. Aunque el modelo convencional que ofreció la revolución verde en el siglo XX brindó ciertos beneficios a productores en su tiempo, hoy se amplió la perspectiva de sus efectos, más allá de lo económico, mostrando que ciertas tecnologías como la irrigación y la homologación de cultivos, de maíz en este caso, han sido asociadas hoy en día a ciertos problemas en la agricultura y al medio ambiente que lo rodea.

## 11. REFERENCIAS

1. Aguilera S., Rodríguez-Escobar J.G., Romero-González V.N., Osorio-Acosta F., López-Romero G. y Silva-Rosales L. (2019). Identificación y abundancia de seis virus y un espiroplasma en infecciones simples y mixtas en campos de maíz en Veracruz, México. *Revista Bio Ciencias* 6. Doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e419>
2. Albarracin E. L., Paradell S. y Virla E. G. (2008). Cicadellidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha) associated with maize crops in northwestern Argentina, influence of the sowing date and phenology of their abundance and diversity. *Maydica*. Vol. 53. Pp. 289-296
3. Alivizatos A. S., y Markham P. G. (1986a). Multiplication of corn stunt spiroplasma in *Dalbulus maidis* and transmission in vitro, following injection. *Ann. Appl. Biol.* Vol. 108. Pp 545-554.
4. Ammar E. D., Gasparich G. E., Hall D. G. *et al.* (2011). Spiroplasma-like organisms closely associated with the gut in five leafhopper species (Hemiptera: Cicadellidae). *Arch Microbiol.* Vol. 193. Pp. 35–44.
5. Ammar E. y Hogenhout S. (2005). Use of Immunofluorescence Confocal Laser Scanning Microscopy to Study Distribution of the Bacterium Corn Stunt Spiroplasma in Vector Leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae) and in Host Plants. *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 98, No. 6. Pp. 820-826.
6. Ammar E., Fulton D., Bai X., Meulia T. y Hogenhout. (2004). An attachment tip and pili-like structures in insect- and plant-pathogenic spiroplasmas of the class Mollicutes. *Arch Microbiol.* Vol. 181. Pp. 97–105.
7. Aromataris E. y Pearson A. (2014). The Systematic Review: An Overview. *AJN*. Vol. 114, No. 3. Pp. 53-58.
8. Badji C.A., Guedes R.N., Silva A.A., y Araujo R.A. (2004). Impact of deltamethrin on arthropods in maize under conventional and no-tillage cultivation. *Crop Prot.* Vol. 23. Pp. 1031–1039.
9. Bai X., Fazzolari T., y Hogenhout S. A. (2004). Identification and characterization of *traE* genes of *Spiroplasma kunkelii*. *Gene* 336. Pp. 81 – 91
10. Bai X., y Hogenhout S. A. (2002). A genome sequence survey of the mollicute corn stunt spiroplasma *Spiroplasma kunkelii*. *FEMS Microbiology Letters*. Vol. 210. Pp. 7-17.
11. Bai X., Zhang J., Holford I., Hogenhout A. (2004). Comparative genomics identifies genes shared by distantly related insect-transmitted plant pathogenic mollicutes. *FEMS Microbiology Letters*. Vol. 235. Pp. 249–258
12. Bajet N. B., y Renfro B. L. (1989). Occurrence of Corn Stunt Spiroplasma at different elevations in Mexico. *Plant Disease*. Vol. 73. Pp. 926-930.
13. Bajet N., y B. Renfro. (1989). Occurrence of corn stunt spiroplasma at different elevations in Mexico. *Plant Disease*. Vol 73. Pp. 926-930.

14. Barros T. S. L., Davis R. E., Resende R. O. y Dally E. L. (2001). Design of a polymerase chain reaction for specific detection of corn stunt spiroplasma. *Plant Dis.* Vol. 85. Pp. 475-480.
15. Bastian F., Elzer P y Wu X. (2012). Spiroplasma spp. Biofilm formation is instrumental for their role in the plant, insect and animal diseases. *Experimental and Molecular Pathology.* Vol. 93. Pp. 116–128.
16. Bendix C. y Lewis J. (2018). The enemy within: phloem-limited pathogens. *Molecular plant pathology.* Vol. 19, No. 1. Pp. 238–254.
17. Blanco, D. (2018). Cómo analizar la calidad de un artículo científico: el riesgo de sesgo y la guía de publicación CONSORT en ensayos aleatorizados. Recuperado el 24 de agosto de 2022, de: <https://www.elsevier.com/es-es/connect/educacion-medica/analizar-calidad-articulo-cientifico-guia-de-publicacion-consort>
18. Bolivar A. M., Rojas A., y García-Lugo P. (2013). PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. *Avances en Biomedicina.* Vol. 3, No. 1. Pp. 25-33. Universidad de los Andes Mérida, Venezuela.
19. Bradfute O., J. Tsai, y D. Gordon. (1981). Corn stunt spiroplasma and viruses associated with a maize epidemic in southern Florida. *Plant Disease.* Vol.65. Pp. 837-841.
20. Bradfute O.E., Tsai J.H. y Gordon D.T. (1981). Corn stunt spiroplasma and viruses associated with a maize disease epidemic in southern Florida. *Plant Disease.* Vol. 65. Pp. 837-841.
21. Breton M., Duret S., Arricau-Bouvery N., Beven L. y Renaudin J. (2008). Characterizing the replication and stability regions of Spiroplasma citri plasmids identifies a novel replication protein and expands the genetic toolbox for plant-pathogenic Spiroplasmas. *Microbiology.* Vol. 154. Pp. 3232–3244
22. Burgos M. T. (2020). Evaluación de la dinámica poblacional de *Spodoptera frugiperda*, *Diatraea saccharalis* y *Dalbulus maidis* en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) durante la época seca en cinco localidades del cantón Mocache. Proyecto de investigación para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
23. Bushing RW y Burton VE. (1974). Leafhopper damage to silage corn in California. *Journal of Economic Entomology.* Vol. 67. Pp.656–658.
24. C.F. Nome, L.R. Conci, M.P. Giménez, I.G. Laguna (2007). Detección de mollicutes por diferentes métodos microscópicos. *Revista Argentina de Microbiología* Vol. 39, p. 144
25. Carloni E., Virla E., Paradell S., Carpane P., Nome C., Laguna I. y Giménez P. M. P. (2011). *Exitianus obscurinervis* (Hemiptera: Cicadellidae), a New Experimental Vector of *Spiroplasma kunkelii*. *J. Econ. Entomol.* 104(6):1793-1799
26. Carneiro N., Castanheira A., Souza I., De Oliveira C., De Oliveira E. y Lana U. (2003). Extração de DNA de *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb Cultivado in Vitro. *Circular Técnica* 34. ISSN 1518-4269.

27. Carpane P., Laguna I. G., Virla E., Paradell S., Murúa L. y Giménez-Pecci M. (2005). Experimental transmission of corn stunt spiroplasma present in different regions of Argentina. *Maydica*. Vol. 51. Pp. 461-46
28. Carpane P., Melcher U., Wayadande A., Giménez P. M., Laguna G., Dolezal W., y Fletcher J. (2012). An Analysis of the Genomic Variability of the Phytopathogenic Mollicute *Spiroplasma kunkelii*. *Phytopathology*. Vol. 103. Pp. 129-134.
29. Carpane P., Wayadande A., Backus E., Dolezal W., y Fletcher J. (2001). Characterization and Correlation of New Electrical Penetration Graph Waveforms for the Corn Leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 104, No. 3. Pp. 515-525.
30. Carpane P., y Catalano M. I. (2022). Probing behavior of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* on susceptible and resistant maize hybrids. *PLoS ONE*. Vol. 17, No. 5. e0259481. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259481>
31. Carpane, P. D. (2007). Host resistance and diversity of *Spiroplasma kunkelii* as components of corn stunt disease. Ph.D. Thesis. Department of Entomology and Plant Pathology. Oklahoma State University.
32. Castanheira A., Souza I., De Oliveira E., De Oliveira C. y Paiva E. (2006). Cultivo de aislados geográficos de *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb *in vitro*.
33. Castañón G., Hidalgo C. H., Jeffers D. (2003). Heterosis en siete líneas de maíz para tolerancia al achaparramiento y rendimiento de grano. *Bioagro*. Vol. 15, No. 1. Pp. 65-73. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado Barquisimeto, Venezuela.
34. Castañón G., Jeffers D., e Hidalgo H. (2000). Aptitud combinatoria de líneas de maíz tropical con diferente capacidad para tolerar el achaparramiento. *Agronomía Mesoamericana*. Universidad de Costa Rica Alajuela, Costa Rica. Vol. 11, No. 1. Pp. 77-81.
35. Castilhos R. V., Parizotto C., Bermudez F., Ribeiro I. P., Canale M. C. (2022). Severity of corn stunt disease on maize genotypes in the Midwest of the Brazilian State of Santa Catarina. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. Vol. 21, e1278.
36. Celorio, C. (2011). Determinación del ciclo biológico, distribución y daños ocasionados por chicharritas (hemíptera). Santo Domingo. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/3635/1/T-ESPE-IASA%20II%20-%20002344.pdf>.
37. Chen S., Zhang P., Xiao L., Liu Y., Wu K., Ni G., Li H., Wang T., Wu X., Chen G., Liu X (2021). Caerin 1.1 and 1.9 Peptides from Australian Tree Frog Inhibit Antibiotic-Resistant Bacteria Growth in a Murine Skin Infection Model. *Microbiol Spectr*. Vol. 9, No.1. Doi: 10.1128/Spectrum.00051-21. Epub 2021 Jul 14. PMID: 34259550; PMCID: PMC8552723.
38. Chen T. A. y Liao C. H. (1975). Corn Stunt Spiroplasma: Isolation, Cultivation, and Proof of Pathogenicity. *Science*. Vol. 188. Pp. 1015-1017.

39. Chen Y. D. y Chen T. A. (1998). Expression of engineered antibodies in plants: A possible tool for spiroplasma and phytoplasma disease control. *Phytopathology*. Vol. 88. Pp. 1367-1371.
40. Chinchilla-Ramírez M., Borrego E.J., DeWitt T.J., Kolomiets M.V., Bernal J.S. (2017). Maize seedling morphology and defense hormone profiles, but not herbivory tolerance, were mediated by domestication and modern breeding. *Ann. Appl. Biol.* 2017, 170, 315–332.
41. Coll Aráoz M. V., Jacobi V. G., Fernández P. C., Luft Albarracin E., Virla E. G., Hill J. G., y Catalán C. A. N. (2019). Volatiles mediate host-selection in the corn hoppers *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and *Peregrinus maidis* (Hemiptera: Delphacidae). *Bulletin of Entomological Research*. Vol. 109, No. 05. Pp. 633–642.
42. Coll-Aráoz M.V., Hill J. G., Luft-Albarracin E. *et al.* (2020). Modern Maize Hybrids Have Lost Volatile Bottom-Up and Top-Down Control of *Dalbulus maidis*, a Specialist Herbivore. *J Chem Ecol.* Vol. 46. Pp. 906–915. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10886-020-01204-3>
43. Dalaisón-Fuentes L. I., Pascual A., Gazza E., Welchen E., Rivera-Pomar R. y Catalano M. I. (2022). Development of efficient RNAi methods in the corn leafhopper *Dalbulus maidis*, a promising application for pest control. *Pest Management Science*. Vol. 78, No. 7. Pp. 3108-3116
44. Davis R. (1966). Biology of the leafhopper *Dalbulus maidis* at selected temperatures. *J. Econ. Entomol.* Vol. 59. P. 766.
45. Davis R. E., Dally E. L., Jomantiene R., Zhao Y., Roe B., Lin S., y Shao J. (2005). Cryptic plasmid pSKU146 from the wall-less plant pathogen *Spiroplasma kunkelii* encodes an adhesin and components of a type IV translocation-related conjugation system. *Plasmid* 53. Pp. 179–190.
46. Davis R. E., Shao J., Dally E. L., Zhao Y., Gasparich G. E., Gaynor B. J., Athey J. C., Harrison N. A., y Donofrio N. (2015). Complete genome sequence of *Spiroplasma kunkelii* strain CR2- 3x, causal agent of corn stunt disease in *Zea mays* L. *Genome Announcements*. Vol. 3, No. 5. e01216-15.
47. de Agudelo F. V., G. P. Castillo, C. Huaratas, C. De Leon, y H. Vanegas. (2001). Corn stunt of maize *Zea mays* L. in the Valle del Cauca, Colombia. *Fitopatol. Colombiana*. Vol. 25. Pp. 87-91.
48. De Oliveira C., De Oliveira E., Prazeres I., Alves E., Dolezal W., Paradell S., Marino de Remes A. y Frizzas M. (2013). Abundance and species richness of leafhoppers and planthoppers (Hemiptera: Cicadellidae and Delphacidae) in Brazilian maize crops. *Florida Entomologist*. Vol. 96, no. 4. Pp. 1470-1480.
49. De Oliveira, C.; Spotti, J.; Dos Santos, T.; y Nault, L. (2004). Influence of Latitude and Elevation on Polymorphism Among Populations of the Corn Leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), in Brazil. *Environ. Entomol.* Vol. 33, No. 5. Pp. 1192-1199.

50. Denno R. F., y E. S. McCloud. (1985). Predicting fecundity from body size in the planthopper, *Prokelisia marginata* (Homoptera: Delphacidae). *Environ. Entomol.* Vol. 14: 846-849.
51. Díaz C., E. Virla, E. Carloni, M.P. Giménez-Pecci, y I. Laguna, 2005 Evaluación preliminar del efecto de la fecha de siembra sobre la incidencia del “Corn Stunt Spiroplasma” (CSS). Pp. 277-280. En: Libro de trabajos del VIII Congreso Nacional de maíz. Pp. 16-18. Rosario - Santa Fe, Argentina.
52. Donato H. y Donato M. (2019). Etapas na Condução de uma Revisão Sistemática. *Acta Med Port.* Vol. 32, No. 3. Pp. 227-235. Doi: <https://doi.org/10.20344/amp.11923>.
53. Ebbert M. A. y Nault L. R. (1994). Improved Overwintering Ability in *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) Vectors Infected with *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae). *Environmental Entomology.* Vol. 23, No. 3. Pp. 634-644.
54. Ebbert M. A., y L. R. Nault. 2001. Survival in *Dalbulus* leafhopper vectors improves after exposure to maize stunting pathogens. *Entomol. Exp. Appl.* 100: 311-324.
55. Ebbert M. Y Nault L. 2001. Survival in *Dalbulus* leafhopper vectors improves after exposure to maize stunting pathogens. *Entomologia Experimentalis et Applicata.* Vol. 100. Pp. 311-324.
56. Ebbert M., Jeffers D., Harrison N., Nault L. 2001. Lack of specificity in the interaction between two maize stunting pathogens and field collected *Dalbulus* leafhoppers. *Entomologia Experimentalis et Applicata.* Vol. 101. Pp. 49-57
57. FAO, 2023. El cambio climático, el agua y la seguridad alimentaria. Recuperado el 27 de octubre de 2023, de: <https://www.fao.org/3/i0142s/i0142s07.pdf>
58. Finlay, K. (2018). Disease triangle involving host plant, plant pathogen and vector spreading the pathogen. Recuperado el 3 de octubre de 2021: [https://www.researchgate.net/figure/Disease-triangle-involving-host-plant-plant-pathogen-and-vector-spreading-the-pathogen\\_fig1\\_329870539](https://www.researchgate.net/figure/Disease-triangle-involving-host-plant-plant-pathogen-and-vector-spreading-the-pathogen_fig1_329870539)
59. Galvão S.R., Sabato E.O., y Bedendo I. P. (2021). Occurrence and distribution of single or mixed infection of phytoplasma and spiroplasma causing corn stunting in Brazil. *Trop. plant pathol.* Vol. 46. Pp. 152–155.
60. Gámez R. y Leon P. (1985). Ecology and evolution of a neotropical leafhoppers virus-maize association. Nault L. R. y Rodriguez J. G.(Ed.). *The Leafhoppers and Planthoppers.* Pp. 331–350. John Wiley, New York, NY, USA.
61. Giménez P. M.; Laguna I.; y Lenardon S. (2012). Enfermedades del maíz producidas por virus y mollicutes en Argentina. 1ª Ed. INTA. ISBN 978-987-679-116-8.
62. Giménez, P. M.; Laguna, I. & Lenardon, S. (2012). Enfermedades del maíz producidas por virus y mollicutes en Argentina. INTA. 1ª Ed. ISBN 978-987-679-116-8
63. Giménez-Pecci M., E. Oliveira, R. Resende, I. Laguna, L. Conci, A. Ávila, P. Herrera, E. Galdeano, E. Virla, y C. Nome. (2002a). Ocorrência de Doenças causadas por mollicutes e por vírus em milho nas províncias de Tucumán e de Córdoba na Argentina. *Fitopatol. Brasileira.* Vol. 27. Pp. 403-407.

64. Giménez-Pecci M., I. Laguna, A. Ávila, A. de Remes Lenicov, E. Virla, C. Borgogno, C. Nome, y S. Paradell. (2002b). Difusión del corn stunt Spiroplasma del maíz (*Spiroplasma kunkelii*) y del vector (*Dalbulus maidis*) en la República Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata. Vol. 105. Pp. 1-8.
65. Giménez-Pecci M., y G. Laguna. (2004). Corn Stunt Spiroplasma. Espiroplasma del Achaparramiento del maíz en la Argentina. IDIA XXI. Vol. 6. Pp. 163-165.
66. Gordon, D. T., J. K. Knobe y G. E. Scott. (1981). Introduction: history, geographical distribution, pathogen characteristics, and economic importance. Pp. 1-12. In Gordon, D. T. (ed), Virus and viruslike diseases of maize in the United States. Southern Cooperative Series Boletín 247. Ohio Agric. Res. and Dev. Center, Wooster, Ohio, USA.
67. Gussie J. S., Fletcher J., y Claypool P. L. (1995). Movement and multiplication of *Spiroplasma kunkelii* in corn. Phytopathology. Vol. 85, No. 10. Pp. 1093-1098
68. Gutiérrez A. (2019). Aplicación de biocidas para el tratamiento de la chicharrita (*Dalbulus maidis*) en el cultivo de maíz amiláceo (*Zea mays* L.) – Accha - Cusco. Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo. Universidad Tecnológica de los Andes.
69. Gutiérrez-Pacheco M. M., Bernal-Mercado A. T., Vázquez-Armenta F. J., Martínez-Tellez M. A., González-Aguilar G. A., Lizardi-Mendoza J., Madera-Santana T. J., Nazzaro F., Ayala-Zavala J. F. (2019). Quorum sensing interruption as a tool to control virulence of plant pathogenic bacteria. Physiological and Molecular Plant Pathology. Vol. 106. Pp. 281–291.
70. Heady S. E., Madden L. V., y Nault L.R. (1989). Courtship behavior and experimental asymmetrical hybridization in *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) with evolutionary inferences. Ann Entomol Soc Am. Vol. 82, No. 4. Pp. 535–548.
71. Heady S. E., Nault L.R., Shambaugh G.F., y Fairchild L. (1986) Acoustic and mating behavior of *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae). Ann Entomol Soc Am. Vol. 9, No. 4. Pp. 727–736.
72. Heady S. E., y Nault L. R. (1985). Escape behavior of *Dalbulus* and *Balbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae). Environ Entomol. Vol. 14, No. 2. Pp.154-158-
73. Henríquez, P. y Jeffers, D. (1997). El achaparramiento del maíz. Patógenos, síntomas y diagnósticos. Síntesis de resultados experimentales del PRM, 1993-1995. CYMMYT-PRM. Guatemala. Vol. 5:283-290.
74. Hernández C. (2008). Comportamiento del achaparramiento del maíz (*Spiroplasma kunkelii*) en Úrsulo Veracruz, México. Tesis como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”.
75. Hidalgo H., Jeffers D., Castañón G. y Rodríguez F. (1998). Resistencia al achaparramiento del maíz mediante infestaciones de *Dalbulus maidis* en maíz. Agronomía Mesoamericana. Vol. 9, No. 2. Pp. 119-124.
76. Hill J. G., Luft E., Coll M. V., Virla E. G. (2018). Effects of host species and host age on biological parameters of *Anagrus virlai* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg

- parasitoid of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and *Peregrinus maidis* (Hemiptera: Delphacidae). *Biological Control*. Vol. 131. Pp. 74-80.
77. Hogenhout S. A., y E. Ozbek. (2002). Differential pathogenicity of corn stunt spiroplasma to its *Dalbulus* leafhopper vectors: electron microscopic findings. *Phytopathology*. Vol. 92. Pp. S96.
  78. Holt-Giménez, E. (2008). Campesino a Campesino. SIMAS, Managua, Nicaragua. Pp. VII-XIV; 1-62; 107-158 y 235-25
  79. Honek A. 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. *Oikos*. Vol. 66. Pp. 483-492.
  80. Hruska A., Gomez M. 1997. Maize Response to corn Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) Infestation and Achaparramiento Disease. *J. Econ. Entomol.* Vol 90, No. 2. Pp. 604-610.
  81. IPPC Secretariat. 2021. Scientific review of the impact of climate change on plant pests – A global challenge to prevent and mitigate plant pest risks in agriculture, forestry and ecosystems. Rome. FAO on behalf of the IPPC Secretariat. <https://doi.org/10.4060/cb4769en>
  82. Iwanicki N. S., Mascarín G. M., Moreno S. G., Eilenberg J., y Delalibera Júnior I. (2020). Growth kinetic and nitrogen source optimization for liquid culture fermentation of *Metarhizium robertsii* blastospores and bioefficacy against the corn leafhopper *Dalbulus maidis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 36, No. 5. Doi: doi:10.1007/s11274-020-02844-z.
  83. Jeffers, D.; Martínez-Hernández, L.; Bergvinson, D.; Córdova, H.; and Beck, D. (2004). Avances en el desarrollo de germoplasma resistente al complejo del achaparramiento del maíz en el CIMMYT. *Memorias del XXXI Congreso Nacional de Fitopatología*. Resumen C-62.
  84. Jones J. y Dangl J. (2006). The plant immune system. *Nature*. Vol. 444, No. 16. Pp. 323-329.
  85. Jones T. L., Bernal J. S., y Medina R.F. Assessing the Functionality of RNA Interference (RNAi) in the Phloem-feeding Maize pest *Dalbulus maidis*. bioRxiv, preimpreso. Doi: 10.1101/2021.09.29.462424.
  86. Jones T. y Medina R. (2020). Corn Stunt Disease: An Ideal Insect–Microbial–Plant Pathosystem for Comprehensive Studies of Vector-Borne Plant Diseases of Corn. *Plants*. Vol. 9, 747. Doi: 10.3390/plants906074
  87. Konai M., Clark E., Camp M. *et al.* (1996). Temperature Ranges, Growth Optima, and Growth Rates of Spiroplasma (Spiroplasmataceae, class Mollicutes) Species. *Curr Microbiol.* Vol. 32. Pp. 314–319.
  88. Larsen K. J., y L. R. Nault. (1994). Seasonal polymorphism of adult *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 87. Pp. 356-362.



89. Larsen KJ, Nault LR & Moya-Raygoza G (1992) Overwintering biology of *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae): adult population and drought hardiness. *Environmental Entomology* 21: 566–577.
90. Lopes J. R. S., y Oliveira C. M. (2004). Vetores de vírus e mollicutes em milho, Pp. 35-60. En: E. Oliveira y C. M. Oliveira (Eds.). Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores e mancha por *Phaeosphaeria*. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília. Pp. 276.
91. Luft Albarracin E., Triapitsyn S. V., y Virla E. G. (2017). Egg Parasitoid Complex of the Corn Leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong) (Hemiptera: Cicadellidae), in Argentina. *Neotropical Entomol.* Vol. 46. Pp. 666–677.
92. Madden L. V., Nault L. R., Heady S. E. y Styer W. E. (1984). Effect of temperature on the population dynamics of three *Dalbulus* leafhoppers species. *Annals of Applied Biology.* Vol. 108. Pp. 475-485.
93. Marín-Loaiza J. y Céspedes C. (2007). Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al Agro. *Revista Fitotécnia. Mexicana.* Vol. 30, No. 4. Pp. 327-351.
94. Martínez L. G. y Rico de Cujia L. M. (1976). El Achaparramiento del maíz en la Sabana de Bogotá. *Noticias Fitopatológicas.* Vol. 5, No. 2. Pp. 74-78.
95. McConnell, R., and A. H. Hruska. 1993. An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries. *Am. J. Public Health* 83: 1559-1562
96. McConnell, R., and A. J. Hruska. 1993. An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries. *Am. J. Public Health* 83: 1559-1562.
97. Medina R. F., Reyna S.M. y Bernal J. S. (2012). Population genetic structure of a specialist leafhopper on *Zea*: likely anthropogenic and ecological determinants of gene flow. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 142: 223–235.
98. Meneses A. R., Querino R. B., Oliveira C. M., Maia A. H. N., y Silva P. R. R. (2016). Seasonal and vertical distribution of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) in Brazilian corn fields. *Florida Entomologist.* Vol. 99, No. 4. Pp. 750-754.
99. Monforte J. (2019). Exploración de fuentes de tolerancia al achaparramiento del maíz (*Spiroplasma kunkelii*) y caracterización fisio-agronómica de maíces criollos. Tesis como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Horticultura Tropical. Instituto Tecnológico de Conkal.
100. Moya-Raygoza G, Muñoz Urias A, Uribe-Mu CA. 2012. Habitat, body size and reproduction of the leafhopper, *Dalbulus elimatus* (Hemiptera: Cicadellidae), during the winter dry season. *Florida Entomologist* 95: 382-386.
101. Moya-Raygoza G. (1993). Dinámica poblacional de *Dalbulus* spp. (Homoptera: Cicadellidae) en maíz (*Zea mays*) (Graminae) y sus parientes cercanos. *Folia Entomologica Mexicana.* No. 87. Pp. 21-29.
102. Moya-Raygoza G. (2019). Chapter 9: Biological Control of the Leafhopper *Dalbulus maidis* in Corn Throughout the Americas: Interaction Among Phytoplasma-Insect

- Vector-Parasitoids. En: Olivier C. Y., Dumonceaux T. J., y Pérez-López E. (Eds.). Sustainable Management of Phytoplasma Diseases in Crops Grown in the Tropical Belt. Springer. Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
103. Moya-Raygoza G. y García Medina C. (2010). Comparison of Fecundity and Body Size of Mexican and Argentinian Populations of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 103, No. 4. Pp. 544-547.
  104. Moya-Raygoza G., Hogenhout S. y Nault L. (2007a). Habitat of the Corn Leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) during the dry (winter) season in Mexico. *Environ. Entomol.* Vol. 36, No. 5. Pp. 1066-1072.
  105. Moya-Raygoza G., Luft A. E., Virla E. G. (2012). Diversity of egg parasitoids *attacking Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) populations at low and high elevation sites in Mexico and Argentina. *Florida Entomologist*. Vol. 95, No. 1. Pp. 105-112.
  106. Moya-Raygoza G., Nault L. R., Hogenhout S. A. y Styer W. E. (2002). Variación en la transmisión del espiroplasma *Spiroplasma kunkelii* por poblaciones de la chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* (homoptera: cicadellidae). *Folia Entomol. Mex.* Vol. 41, No. 2. Pp. 113-118.
  107. Moya-Raygoza G., Palomera-Avalos V, Galaviz-Mejía C. 2007. Field overwintering biology of *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae) and its vector *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). *Annals of Applied Biology* 151: 373-379.
  108. Moya-Raygoza G., Palomera-Avalos V., Chacón-Torres N., Becerra-Chiron I. (2006). The parasitoid *Gonatopus bartletti* reduces presence of plant-pathogenic *Spiroplasma kunkelii* within the leafhopper vector *Dalbulus maidis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 119. Pp. 189–196.
  109. Moya-Raygoza G., Rentería C. I., Luft A. E., Virla E. G. (2014). Egg parasitoids of the leafhoppers *Dalbulus maidis* and *Dalbulus elimatus* (Hemiptera: Cicadellidae) in two maize habitats. *Florida Entomologist*. Vol. 97, No. 1. Pp. 309-312.
  110. Moya-Raygoza G., y Trujillo-Arriaga J. (1993). Dryinid (Hym.: Dryinidae) parasitoids of *Dalbulus leafhopper* (Hom.: Cicadellidae) in Mexico. *Entomophaga*. Vol. 38. Pp. 41–49.
  111. Moya-Raygoza, G. (1994). Diversity of leafhoppers and their hymenopterous parasitoids in maize, teosinte and gamagrass related ecosystems. *Maydica*. Vol. 39, No.3. Pp. 225-230.
  112. Moya-Raygoza, G. (2002). Distribución y hábitats de *Dalbulus* spp. (Homóptera: Cicadellidae) durante la estación seca en México. *Acta Zoológica Mexicana*. Vol. 85. Pp. 119-128.
  113. Moya-Raygoza, G.; Becerra-Chiron, I. (2014). Overwintering Biology of Egg Parasitoids of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) on Perennial Grasses, Volunteer Maize, Stubble, and Drip-Irrigated Maize. *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 107, No. 5. Pp. 926-932.
  114. Moya-Raygoza, G.; Chacón-Torres, N.; Palomera-Avalos, V.; Becerra-Chiron, I.; y Bernal, J. (2008). Effects of Corn Stunt Spiroplasma on Survival of *Dalbulus maidis*

- (Hemiptera: Cicadellidae) Parasitized or Preyed upon by *Gonatopus bartletti* (Hymenoptera: Dryinidae) or Infected by *Metarhizium anisopliae*. Annals of the Entomological Society of America. Vol. 101, No. 1. Pp. 113-118.
115. Nault L. R. (1980). Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host ranges, and vectors. Phytopathology. Vol. 70. Pp. 659-662.
116. Nault L. R. (1985). Evolutionary relationships between maize leafhoppers and their host plants. En: Nault L. R., Rodriguez J. G. (eds). The leafhoppers and planthoppers. Wiley, New York. Pp. 309–330. John Wiley, New York, NY, USA
117. Nault L. R. (1990) Evolution of insect pest: maize and leafhopper, a case study. Maydica. Vol. 35. Pp. 165-175.
118. Nault, L. R. (1983). Origins of leafhopper vectors of maize pathogens in Mesoamerica. Pp. 75- 82. En: D. T. Gordon, J. K. Knoke, L. R. Nault, y R. M. Ritter. Proceedings International Maize Virus Disease Colloquium and Workshop, 2-6 de Agosto 1982. The Ohio State University, Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster, Ohio, 266 pp.
119. Neff. E. P. (1986). Effects of maize stunting mollicuteson cold tolerance and flight behavior of Dalbulus leafhoppers. M. S. thesis. The Ohio State University, Columbus.
120. Neves T. C, Foresti J., Silva P. R., Alves E., Rocha R., Oliveira C., Picanco M. C. y Pereira E. J. G.(2021). Insecticide seed treatment against corn leafhopper: helping protect grain yield in critical plant growth stages. Pest Management Science. Vol. 78, No. 4. Pp. 1482-1491.
121. Niblett C.L., Tsai J.H. y Falk B.W (1981). Virus and mycoplasma diseases of corn in Florida. Proc. 36th Annual Corn and Sorghum Industry Research. Conf. 36. Pp. 78-88.
122. Niblett C.L., Tsai J.H., y Falk B.W (1981). Virus and mycoplasma diseases of corn in Florida. Proc. 36th Annual Corn and Sorghum Industry Research Conf. Vol. 36. Pp. 78-88.
123. Nome C., Magalhaes P. C., Oliveira E., Nome S. y Laguna I. G. (2009). Differences in intracellular localization of corn stunt spiroplasmas in magnesium treated maize. Biocell. Vol. 33, No. 2. Pp. 133-136.
124. Norgaard, R. y Sikor, T. (1999). Metodología y práctica de la Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. En: Altieri M.A. et al., 1999. NordanComunidad. Pp. 31-46.
125. Oleszczuk JD, Catalano MI, Dalaisón L, Di Rienzo JA, Giménez Pecci MdIP, Carpane P (2020). Characterization of components of resistance to Corn Stunt disease. Plos one. Vol. 15, No.10. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234454>.
126. Oliveira C. M., De Oliveira E., Canuto M. y Cruz I. (2007). Controle químico da cigarrinha-do-milho e incidência dos enfezamentos causados por mollicutes. Pesq. agropec. bras., Brasília. Vol 42, No. 3. Pp.297-303.
127. Oliveira C. M., De Oliveira E., Canuto M. y Cruz I. (2008). Eficiência de inseticidas em tratamento de sementes de milho no controle da cigarrinha Dalbulus maidis (Hemiptera: Cicadellidae) em viveiro telado. Ciência Rural, Santa Maria. Vol. 38, No.1. Pp.231-235.

128. Oliveira C. M., Lopes J. R. S., Camargo L. E. A., Fungaro M. H. P. y Nault L. R. (2007) Genetic diversity in populations of *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) from distant localities in Brazil assessed by RAPD-PCR markers. *Environmental Entomology*. Vol. 36, No. 1. Pp. 204–212.
129. Oliveira C. M., Molina R. M. S., Albres R. S. y Lopes J.R.S. (2002). Disseminação de mollicutes do milho a longas distâncias por *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). *Fitopatologia Brasileira*. Vol. 27. Pp. 91-95.
130. Oliveira C., Lopes J., Nault L. 2013. Survival strategies of *Dalbulus maidis* during maize off-season in Brazil. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 147. Pp. 141-153.
131. Oliveira C.M. Variação genética entre populações de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae) e mecanismos de sobrevivência na entressafra do milho. 2000. 167f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
132. Oliveira C.M.; y Lopes J. R. S. Cigarrinha-do-milho: aspectos taxonômicos e ecológicos, sobrevivência na entressafra. En: Oliveira E.; Oliveira C.M. (Ed.). *Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores e mancha por Phaeosphaeria*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. Cap.3. Pp.61-88.
133. Oliveira E., Carvalho R. V., Duarte A. P., Andrade R. A., Resende R. O., Oliveira C.M., y Reco P. C. (2002a). Mollicutes e vírus em milho na safrinha e na safra de verão. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. Vol. 1. Pp. 38–46.
134. Oliveira E., De Oliveira C. M., Souza I., Magalhães P. C. y Cruz I. (2002b). Enfezamentos em milho: expressão de sintomas foliares, detecção dos mollicutes e interações com genótipos. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. Vol. 1, No. 1. Pp.53-62.
135. Oliveira E., Magalhães P. C., Gomide R. L., Vasconcelos C. A., Souza I. R. P., Oliveira C. M., Cruz I., y Schaffert R. E. (2002). Growth and nutrition of mollicute-infected maize. *Plant Disease*. Vo. 86. Pp. 945-949.
136. Oliveira E., Resende R. O., Giménez-Pecci M. P., Laguna I. M., Herrera P., y Cruz I. (2003) Incidência de viroses e enfezamentos e estimativa de perdas causadas por mollicutes em milho no Paraná. *Pesquisa agropecuaria Brasileira*. Vol 38. Pp. 19-25.
137. Oliveira E., Santos J. C., Magalhães P. C., y Cruz I. (2007). Maize bushy stunt phytoplasma transmission by *Dalbulus maidis* is affected by spiroplasma acquisition and environmental conditions. *Bulletin of Insectology*. Vol. 60. Pp.229–230.
138. Oliveira E., Ternes S., Vilamiu R., Landau E. C., y Oliveira C. M. (2015). Abundance of the insect vector of two different mollicutes plant pathogens in the vegetative maize cycle. *Phytopathogenic Mollicutes*. Vol. 5. Pp. 117–118.
139. Oliveira E., Waquil J. M., Fernandes F. T., Paiva E., Resende R. O., y Kitajima E. W. (1998). “Enfezamento Pálido” e “Enfezamento Vermelho” na cultura do milho no Brasil Central. *Fitopatologia Brasileira*. Vol. 23. Pp. 45–47.
140. Oliveira, C. M. (1996). Variações morfológicas entre populações de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) em algumas localidades do Brasil. *Dissertação de mestrado, Departamento de Entomologia/ESALQ-USP*. Pp. 70.

141. Olivier C. Y., Dumonceaux T. J., y Pérez-López E. (Eds.). (2019). Sustainable Management of Phytoplasma Diseases in Crops Grown in the Tropical Belt. Moya-Raygoza G. Chapter 9: Biological Control of the Leafhopper *Dalbulus maidis* in Corn Throughout the Americas: Interaction Among Phytoplasma- Insect Vector- Parasitoids. Sustainability in Plant and Crop Protection. Doi:10.1007/978-3-030-29650-6
142. Oman P. W. (1948). Distribution of *Balbulus maidis* (De-Long y Wolcott). Proc. Entomol. Soc. Wash. Vol. 50. P. 34.
143. Özbek E., Miller S. A., Meulia T., y Hogenhout S. A. (2003). Infection and replication sites of *Spiroplasma kunkelii* (Class: Mollicutes) in midgut and Malpighian tubules of the leafhopper *Dalbulus maidis*. Journal of Invertebrate Pathology. Vol. 82. Pp. 167–175.
144. Palomera V., Bertin S., Rodriguez A., Bosco D., Virla E., y Moya-Raygoza G. (2012). Is there any genetic variation among native Mexican and Argentinian populations of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae)? Florida Entomologist. Vol. 95, No. 1. Pp. 150-155.
145. Palomera V., Villalobos A., Santerre A., Castro P. y López E. (2005). *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae), en su vector *Dalbulus maidis* (hemíptera: Cicadellidae) durante la estación seca en el centro de México. Avances en la Investigación Científica en el CUCBA. ISBN: 970-27-0770-6.
146. Paradell S.L., E.G. Virla, y A. Toledo. (2001). Leafhoppers species richness and abundance on corn crops in Argentina (Insecta-Hemiptera-Cicadellidae). Bol. Sanidad Vegetal. Plagas. Vol. 27. Pp. 465-474.
147. Paradell Susana (1995). Especies argentinas de homópteros cicadélidos asociados al cultivo de maíz (*Zea mays* L.). Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata. Vol. 71, No. 2. Pp. 213-234.
148. Pérez-López E., Olivier C. Y., Luna-Rodríguez M., Rodríguez Y., Iglesias L. G., Castro-Luna A., y Dumonceaux T. J. (2016). Maize bushy stunt phytoplasma affects native corn at high elevations in Southeast Mexico. European Journal of Plant Pathology. Vol. 145. Pp. 963–971.
149. Phylogenetic Classification of the Genus *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae), and Notes on the Phylogeny of the Macrostelini. Annals of the Entomological Society of America. Vol. 78, No. 3. Pp. 291-315.
150. Pinedo-Escatel y Moya-Raygoza (2018). Riqueza taxonómica de chicharritas (Hemiptera: Cicadellidae) occidentales en cultivos relacionados a vegetación silvestre en México. Entomología mexicana. Vol. 5. Pp. 593–599.
151. Pitre H. (1967). Greenhouse studies of the host range of *Dalbulus maidis*, a vector of the corn stunt virus. J. Econ. Entomol. Vol. 60. Pp. 417- 421.
152. Pitre H. N. (1966). Effects of maize stunting mollicutes on cold tolerance and flight behavior of *Dalbulus* leafhoppers. Tesis de maestría, Universidad del Estado de Ohio, Columbus.

153. Pitre H. N. (1970). Notes on the life history of *Dalbulus maidis* on gama grass and plant susceptibility to the corn stunt disease agent. J. Econ. Entomol. Vol. 63. Pp. 1661-1662.
154. Pitre H.N., Combs R.L. Jr., y Douglas W.A. (1966). Gammagrass, *Tripsacum dactyloides*: a new host of *Dalbulus maidis*, vector of corn stunt virus. Plant Dis. Repr. Vol. 50. Pp. 570-571.
155. Pitre, H. N., Jr., W. A Douglas, R. L. Combs, Jr., and L. W. Hepner. 1967. Annual movement of *Dalbulus maidis* into the southern United States and its role as vector of the corn stunt virus. J. Econ Entomol. 60: 616-617
156. PRISMA (2020). Transparent reporting of systematic reviews and meta-analyses. Recuperado en junio de 2022, de: <http://prisma-statement.org/>
157. Pucheta Díaz, Micaela, Flores Macías, Antonio, Rodríguez Navarro, Silvia, & de la Torre, Mayra. (2006). Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia*, 31(12), 856-860. Recuperado en 29 de marzo de 2023, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442006001200006&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006001200006&lng=es&tlng=es).
158. Purcell A. H. (1988). Increased survival of *Dalbulus maidis*, a specialist on maize, on non-host plants infected with mollicute plant pathogens. Entomol. Exp. Appl. 46: 187-196.
159. Ramírez J. L., de Leon G. C., Garcia M. C., Granados R. G. (1975). *Dalbulus guevarai* (Del.) nuevo vector del achaparramiento del maíz en México: incidencia de la enfermedad y su relación con el vector *Dalbulus maidis* (Del. & W.) en Muna, Yucatán. *Agrociencia*. Vol. 22. Pp. 39-49.
160. Ramirez-Romero R., Perez-Ascencio D., y Garibay-Benítez D. (2014). Courtship Behavior of the Corn Leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae). J Insect Behav. Vol. 27. Pp. 804–815.
161. Ranhand J., Nur I., Rose D., Tully J. 1987. Spiroplasma species share common DNA sequences among their viruses, plasmids and genomes. Ann. Inst. Pasteur/Microbiol. Vol. 138. Pp. 509-522.
162. Renaudin J. y Bové J. M. (1994). Spv1 and Spv4, Spiroplasma Viruses With Circular, Single-Stranded DNA Genomes, and Their Contribution to The Molecular Biology of Spiroplasmas. Advances in virus research. Vol. 44. Pp.429-463.
163. Reveles-Torres, L.R., R. Velásquez-Valle, y J.A. Mauricio-Castillo (2014). Fitoplasmas: otros agentes fitopatógenos. Folleto Técnico No. 56. INIFAP, México D.F., MEX.
164. Rodríguez-Martínez JM. y Pascual A. (2007). Actividad de los antimicrobianos en biocapas bacterianas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Vol. 26, No. 2. Pp. 107-114.
165. Rossi A. M., y D. R. Strong. (1991). Effects of host-plant nitrogen on the preference and performance of laboratory populations of *Carneiocephala floridiana* (Homoptera: Cicadellidae). Environ. Entomol. Vol. 20. Pp. 1349-1355.
166. Sabato E. O. (2017). Enfezamentos do milho in: Oliveira EO, Oliveira CM (Ed.) Doenças em milho: insetos vetores, mollicutes e vírus. Embrapa Informação Tecnológica. Pp.12-24.

167. Sabato E. O., Galvão S. R., y Landau E. C. (2013) Effects of environmental temperature on the corn stunt spiroplasma disease. *Acta Phytopathologica Sinica*. Vol. 43. Pp.203.
168. Sabato E. O., Landau E. C., Barros B. A. y Oliveira C. M. (2020). Differential transmission of phytoplasma and spiroplasma to maize caused by variation in the environmental temperature in Brazil. *Eur J Plant Pathol*. 157: 163–171.
169. Sabato EO (2017) Enfezamentos do milho in: Oliveira EO, Oliveira CM (Ed.) Doenças em milho: insetos vetores, mollicutes e vírus. Embrapa Informação Tecnológica. Pp.12-24.
170. Sabato EO (2018) Manejo do risco de enfezamento e da cigarrinha do milho. Embrapa Milho e Sorgo, Circular Técnica 226:17.
171. Santana P., Kumar L, Da Silva R., Pereira J., Picanco M. 2019. Assessing the impact of climate change on the worldwide distribution of *Dalbulus maidis* (DeLong) using MaxEnt. *Pest Management Science*. Vol. 75. Pp. 2706-2715.
172. Schetino Bastos, C., Cardoso Galvão, J.C., Coutinho Picanço, J., Gomes Pereira, P.R., Cecon, P.R., 2007. Nutrient content affecting Spodoptera frugiperda and Dalbulus maidis occurrence in corn. *Insect Sci*. 14, 117–123.
173. Sierra M., M.; Palafox C., A.; Rodríguez M., F. A.; Espinosa C., A.; Gómez M. N.; Caballero H., F.; Barrón F. S.; and Zambada M., A. (2004). H-518 y H-520, híbridos trilineales de maíz para el trópico húmedo de México. INIFAP. CIRGOC. Campo Experimental Cotaxtla. Folleto Técnico Núm. 38. Veracruz, México. 17 p.
174. Sierra-Macías M., Becerra-Leor E., Palafox-Caballero A., Rodríguez-Montalvo F., Espinosa-Calderón A., Valdivia-Bernal R. (2010). Tropical corn (*Zea mays* L.) genotypes with high yield and tolerance to corn stunt disease in the Gulf of Mexico region. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Vol. 12. Pp. 485 – 493.
175. Sierra-Macias, M.; Becerra-León, E. N.; Palafox-Caballero, A.; Jeffers, P. D.; Cano-Reyes, O.; Rodríguez-Montalvo, F.; and Tosquy-Valle, O. H. (2004). Identificación de híbridos de maíz por su rendimiento y tolerancia a la enfermedad “achaparramiento”. *Memorias del XXXI Congreso Nacional de Fitopatología*. Resumen L-97
176. Souza I., De Oliveira E., De Oliveira C., Teixeira H., Rodrigues R. y Conceicao J. (2003). Relação entre características bioquímicas e agronômicas e o enfezamento pálido em milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. Vol.2, No. 1. Pp. 9-19.
177. Stoner W. N. (1965). A review of corn stunt disease (Achaparramiento) and its insect vectors, with resumes of other virus diseases of maize. USDA-ARS Publication 33-99. USDA-ARS, Washington, DC.
178. Summers C. G. y Stapleton J. J. (2002). Management of Corn Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) and Corn Stunt Disease in Sweet Corn Using Reflective Mulch. *J. Econ. Entomol*. Vol 95, No. 2. Pp. 325-330.
179. Summers C. G., Newton JR. A. S. y Opgenorth D. C. (2004). Overwintering of Corn Leafhopper, *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae), and *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae) in California’s San Joaquin Valley. *Environ. Entomol*. Vol. 33, No. 6. Pp. 1644-1651.

180. Taylor R. A. J., Nault L. R., y Styer W. E. (1993). Experimental analysis of flight activity of three *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Auchenorrhyncha) in relation to migration. *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 86. Pp. 655-667.
181. Terezinha E. (2007). Revisión Sistemática X Revisión Narrativa. *Acta Paul Enferm*. Vol. 20, No. 2. Pp. 9-10.
182. Thompson S. N. (1993). Redirection of host metabolism and effects on parasite nutrition. Pp. 125-144. En: N. E. Beckage, S. N. Thomson, y B. A. Federici (Eds.). *Parasites and pathogens of insects*. Academic Press. Vol. 1. San Diego.
183. Todd J. L., Harris M O., Nault L. R. (1990a). Importance of color stimuli in host-finding by *Dalbulus* leafhoppers. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 54. Pp. 245–255.
184. Todd J. L., Madden L. V., Nault L. R. (1991). Comparative growth and spatial distribution of *Dalbulus* leafhoppers populations (Homoptera: Cicadellidae) in relation to maize phenology. *Environmental Entomology* 20: 556–564.
185. Todd J., Madden L., Nault L. (1991). Comparative Growth and Spatial Distribution of *Dalbulus* Leafhopper Populations (Homoptera: Cicadellidae) in Relation to Maize Phenology. *Environ. Entomol.* Vol. 20, No. 2. Pp. 556-564.
186. Toledo A. V., Marino de Remes A. M. y López C. (2007). Pathogenicity of fungal isolates (Ascomycota: Hypocreales) against *Peregrinus maidis*, *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae), and *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae), vectors of corn diseases. *Mycopathologia*. Vol. 163. Pp. 225–232.
187. Toledo AV, Alippi AM, Remes Lenicov AMM. 2011. Growth inhibition of *Beauveria bassiana* by bacteria isolated from the cuticular surface of the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* and the planthopper, *Delphacodes kuscheli*, two important vectors of maize pathogens. *Journal of Insect Science* 11:29 available online: [insectscience.org/11.29](http://insectscience.org/11.29)
188. Torres-Moreno R. y Moya-Raygoza G. (2020). Response of egg parasitoids (Hymenoptera: Mymaridae and Trichogrammatidae) to the density of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) eggs in maize habitats. *Biological Control*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104344>
189. Torres-Moreno R., Moya-Raygoza G., y Pérez-López E. (2015). Absence of corn stunt Spiroplasma and maize bushy stunt phytoplasma in leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae) that inhabit edge grasses throughout winter in Jalisco, Mexico. *Florida Entomologist*. Vol. 98, No. 3. Pp. 967-969.
190. Triplehorn B. W., G. F. Shambaugh, D. F. Hamilton, y L. R. Nault. (1990). Isoenzyme analysis of the genus *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 83: Pp. 694-704.
191. Triplehorn B. W., Nault L. R. (1985). Phylogenetic Classification of the Genus *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae), and Notes on the Phylogeny of the Macrostelini. *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 78, No. 3. Pp. 291-315.



192. Tsai J. H. (1988). Bionomics of *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott), a vector of Mollicutes and virus (Homoptera: Cicadellidae). *Mycoplasma Diseases of Crops*. Pp. 209-221.
193. Tsai J. H., y D. M. DeLong. (1989). Descriptions of new species of *Dalbulus* and *Balcluha* from Ecuador (Homóptera, Cicadellidae: Delocephalinae). *Entomotaxonomia*. Vol. 11. Pp. 283-287.
194. Urbina A. R. (1987). Incidencia y efectos del achaparramiento en la producción del maíz en Nicaragua. Programa Nacional de Investigación de Maíz, Centro Nacional de Granos Básicos-Ministerio de Desarrollo y Reforma Agraria.
195. Uriña Zamora M. M., Peña Haro C. A., Centanaro Quiroz P. H., y Damian Quito L. F. (2019). Respuesta agronómica del cultivo de maíz (*Zea mays*): aplicación de insecticidas para el control del vector de la cinta roja (*Spiroplasma kunkelii*). *Pro Sciences: Revista De Producción, Ciencias e Investigación*. Vol. 3, No. 27. Pp. 21–28.
196. Valarezo O., Cañarte E., Navarrete B. e Intriago M. (2009). La chicharrita *Dalbulus maidis* y su manejo en el cultivo de maíz. INIAP, Estación experimental Portoviejo. Plegable Divulgativo No. 305.
197. Viana C. L., Dionísia da Silva D., Fernandes M. W., Prazeres de Souza I. R., Oliveira I. R., Véras da Costa R., y Martins M. S. (2020). Detecção de Patógenos Causadores de Enfezamento no Estado do Paraná na Safrinha 2019. *Boletín de investigación y Desarrollo* 204. Embrapa Milho e Sorgo. 1ª Ed.
198. Virla E. G., Albarracín E. B. L., Díaz C. *et al.* (2022). Bottom-up effect of nitrogen fertilization on the density of the corn leafhopper and its impact on both disease incidence and natural parasitism. *Journal Pest Science*. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10340-022-01500-9>
199. Virla E. G., Casuso M., y Frias, E. A. (2010). A preliminary study on the effects of a transgenic corn event on the non-target pest *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). *Crop Protection*. Vol. 29, No. 6. Pp. 635–638.
200. Virla E. G., Coll-Araoz M. V., Luft Albarracin E. (2021). Estimation of direct damage to maize seedlings by the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae), under different watering regimes. *Bulletin of Entomological Research*. Pp. 1–7.
201. Virla E. G., Díaz C. G., Carpane P. D., Laguna I. G., Ramallo J., Gómez G. L., y Giménez-Pecci M. P. (2004) Evaluación preliminar de la disminución en la producción de maíz causada por el “Corn stunt spiroplasma” (CSS) en Tucumán, Argentina. *Bol. San. Veg. Plagas*. Vol. 30. Pp. 257-267.
202. Virla E. G., Luft A. E., Díaz C., Nieuwenhove G., Fernández F., Coll A. M., Melchert N., Conci L., Giménez P. M. (2022). Bottom-up effect of nitrogen fertilization on the density of the corn leafhopper and its impact on both disease incidence and natural parasitism. *Journal of Pest Science*. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10340-022-01500-9>.
203. Virla E. G., S. L. Paradell, y P. A. Diez. (2003). Estudios bioecológicos sobre la chicharrita del maíz *Dalbulus maidis* (Insecta-Cicadellidae) en Tucumán (Argentina). *Bol. San. Veg*. Vol. 29. Pp. 17-25.

204. Virla, Eduardo G.; Olmi, Massimo Dryinidae (Hymenoptera: Chrysidoidea) parasitoids of the corn leafhopper, *dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: cicadellidae), in Argentina, with description of the male of *Gonatopus moyaraygozai* OLM I Interciencia, vol. 32, núm. 12, december, 2007, pp. 847-849
205. Waquil J. M., Viana P. A., Cruz I. y Santos J. (1999). Aspectos da Biologia da Cigarrinha-do-Milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae). An. Soc. Entomol. Vol. 28, No. 3. Pp. 413-420.
206. Waquil J.M. (1997). Amostragem e abundância de cigarrinhas e danos de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) em plântulas de milho. An. Soc. Entomol. Brasil. Vol. 26. Pp. 27-33.
207. Watts M. J., y Worner S. P. (2012). Using artificial neural networks to predict the distribution of bacterial crop diseases from biotic and abiotic factors. Computational Ecology and Software. Vol. 2, No. 1. Pp. 70-79.
208. Wei W., Davis R. E., Mowery J. D. y Zhao Y. (2021). Growth inhibition of phytopathogenic spiroplasmas by membrane-interactive antimicrobial peptides Novispirin T7 and Caerin 1.1. Annals of Applied Biology. Pp. 1-9.
209. Whitcomb R. F., Chen T. A., Williamson D. L., Liao C., Tully J. G., Bové J. M., Mouches C., Rose D. L. y Coan M. E. (1986). *Spiroplasma kunkelii* sp. nov.: Characterization of the Etiological Agent of Corn Stunt Disease. International Journal of Systematic Bacteriology. Vol. 36, No. 2. Pp. 170-178.
210. Zhao Y., Hammond R. W., Lee I., Roe B. A., Lin S., y Davis R. E. (2004). Cell division gene cluster in *Spiroplasma kunkelii*: functional characterization of *ftsZ* and the first report of *ftsA* in mollicutes. DNA and Cell Biology. Vol. 23, N. 2. Pp. 127-134
211. Zhao Y., Wang H., Hammond R. W., Jomantiene R., Liu Q., Roe B. A., y Davis R. E. (2004). Predicted ATP-binding cassette systems in the phytopathogenic mollicute *Spiroplasma kunkeli*. Mol Gen Genomics. Vol. 271. Pp. 325–338.