

***Pyrophagus tigrinus* Remes Lenicov & Varela (Hemiptera: Delphacidae), nuevo vector del *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV, *Fijivirus*) en condiciones experimentales**

Velazquez, P.D.; F.A. Guzmán, L.R. Conci, A.M.M. de Remes Lenicov y G.A. Truol

RESUMEN

El *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV), agente causal de la enfermedad más importante del maíz en la Argentina, es transmitido principalmente por *Delphacodes kuscheli*. La presencia de otros delfácidos en áreas con la virosis, permite suponer que éstos podrían tener un rol en su epidemiología. *Pyrophagus tigrinus* fue hallada por primera vez en 1997 en Jesús María (Córdoba) sobre cultivos de triticale afectados con el MRCV. El objetivo fue demostrar la capacidad de *P. tigrinus* para transmitir el MRCV a triticale en condiciones experimentales. Se inició la cría en condiciones controladas y se realizaron transmisiones a triticale, empleando el mismo cereal como fuente de inóculo. Los síntomas observados y el patrón electroforético del dsRNA viral se correspondieron con el del MRCV en transmisiones con *D. kuscheli*. Se observaron agregados de partículas virales en células floemáticas. La capacidad de *P. tigrinus* para transmitir el MRCV tiene importantes implicaciones en la epidemiología de esta enfermedad.

Palabras clave: *Mal de Río Cuarto virus*, *Fijivirus*, *Pyrophagus tigrinus*, transmisión experimental.

Velazquez, P.D.; F.A. Guzmán, L.R. Conci, A.M.M. de Remes Lenicov and G.A. Truol, 2006. *Pyrophagus tigrinus* Remes Lenicov & Varela (Hemiptera: Delphacidae), a new vector of the *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV, *Fijivirus*) under experimental conditions. *Agriscientia* XXIII (1): 9-14.

SUMMARY

Mal de Río Cuarto virus (MRCV), causal agent of the most important disease that affects maize in Argentina, is spread under natural conditions by *Delphacodes kuscheli*. The presence of other delphacid species in areas infected with this virus suggests that those species could have a function in the epidemiology of disease. *Pyrophagus tigrinus* was first found by chance in 1997 in Jesús María (Córdoba) in triticale crops affected by MRCV. The aim of this work was to demonstrate the capacity of *P. tigrinus* to transmit the MRCV to triticale under experimental conditions. The culture of *P. tigrinus* under controlled conditions was initiated and

Fecha de recepción: 31/01/2006; fecha de aprobación: 08/06/2006

transmissions to triticale using this cereal as source of inoculum were carried out. The symptoms observed and the electrophoretic pattern of viral dsRNA were corresponded with the MRCV using *D. kuscheli* as vector. Aggregates of MRCV-like particles in phloem tissue cells were also observed. The vector capacity of *P. tigrinus* has very important implications in the epidemiology of this disease.

Key Words: *Mal de Río Cuarto virus*, *Fijivirus*, *Pyrophagus tigrinus*, experimental transmission.

P.D. Velazquez, F.A. Guzmán, L.R. Conci y G.A. Truol. Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal, INTA, Camino 60 Cuadras Km 5 1/2, X5020ICA Córdoba, Argentina. A.M.M. de Remes Lenicov. Departamento de Entomología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata, Universidad Nacional de La Plata, Paseo del Bosque s/nº, 1900 La Plata, Argentina. gtruol@correo.inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades que afectan al maíz (*Zea mays* L.) en la Argentina, el "mal de Río Cuarto" es considerada como la más importante (Lenardón *et al.*, 1998). El agente causal es el *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV), un virus perteneciente al género *Fijivirus*, familia Reoviridae (Distéfano *et al.*, 2002). Los síntomas típicos incluyen enanismo de plantas, acortamiento de entrenudos, reducción del área foliar, atrofia de panojas y espigas, y presencia de rugosidades prominentes o enaciones sobre las nervaduras en el envés de las hojas (Nome *et al.*, 1981; March *et al.*, 1995; Lenardón *et al.*, 1998).

La enfermedad, inicialmente restringida a cultivos cercanos al área endémica (Río Cuarto, sur de la provincia de Córdoba), se ha ido difundiendo en forma gradual al resto del país (Laguna *et al.*, 2002). Durante la campaña agrícola 1996/97 ocurrió la epidemia más importante del MRCV, registrándose pérdidas estimadas en los 120 millones de dólares (Lenardón *et al.*, 1998). A la menor producción de grano se le debe agregar la reducción en la producción de materia verde para silaje y en el volumen de rastrojo, los cuales constituyen una importante reserva forrajera invernal en los sistemas agrícola-ganaderos del sur de la provincia de Córdoba (Lenardón *et al.*, 1999).

El principal vector del virus en la naturaleza es *Delphacodes kuscheli* Fennah (Insecta: Hemiptera: Delphacidae) (Remes Lenicov *et al.*, 1985). El MRCV, al igual que otros miembros del grupo, se halla confinado al tejido floemático de las plantas infectadas (Nome *et al.*, 1981; Truol *et al.*, 2001; Arneodo *et al.*, 2002a) y luego de que ha sido adquirido por *D. kuscheli* y de haber cumplido con el período de latencia, el vector permanece infectivo

durante toda su vida (Arneodo *et al.*, 2002b). Recientemente se demostró que las poblaciones de *Delphacodes haywardi* Muir también pueden adquirir el virus y transmitirlo, tanto en condiciones experimentales como naturales (Velazquez *et al.*, 2003).

Además del maíz, el MRCV ha sido detectado en un amplio rango de gramíneas, de las cuales las más importantes desde el punto de vista epidemiológico son el trigo (*Triticum aestivum* L.), la avena (*Avena sativa* L.), la cebada (*Hordeum vulgare* L.), el centeno (*Secale cereale* L.) y varias malezas y pasturas estivales (Conci *et al.*, 1992; Ornaghi *et al.*, 1993; March *et al.*, 1995; Rodríguez Pardina *et al.*, 1998; Laguna *et al.*, 2000). Aunque el virus no causa daños de importancia en los cereales de invierno, éstos cumplen un rol clave en el ciclo de la enfermedad al actuar como hospedantes de *D. kuscheli* y constituir una importante fuente de inóculo para la transmisión al maíz (Remes Lenicov *et al.*, 1985, 1991; Virla y Remes Lenicov, 1991; Ornaghi *et al.*, 1993, 1999; March *et al.*, 1995; Brentassi y Remes Lenicov, 1999).

En el año 1997, en cultivos de triticale (*X Triticosecale* Wittmack) muy afectados con MRCV ubicados en Jesús María (Córdoba), fue detectada una nueva especie de Delphacidae que llamó la atención por su numerosidad y momento de ocurrencia (Truol, com. pers., 2000). El triticale es un cereal que ha sido citado como hospedante natural del virus (Giménez Pecci *et al.*, 1997). Los estudios taxonómicos permitieron determinar un nuevo género y especie de Delphacidae: *Pyrophagus tigrinus* Remes Lenicov & Varela (Remes Lenicov y Varela, 2005).

Esta especie es abundantemente representada en áreas no endémicas afectadas por la enfermedad: Jujuy, Salta, Tucumán, Chaco, La Rioja, Men-

doza, Santiago del Estero y en áreas del norte de Córdoba y Buenos Aires. Asimismo, es frecuentemente capturada sobre sorgo de Alepo [*Sorghum alepense* (L.) Pers.], Grama Rhodes (*Chloris gayana* Kunth), Gatton Panic (*Panicum maximum* L. cv. Gatton panic), pasto llorón [*Eragrostis curvula* (Schrad.) Ness], pata de gallina [*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.], avena pura o consociada con centeno y melilotus (*Melilotus* sp.), cebada forrajera, triticale, trigo y maíz (Remes Lenicov y Varela, 2005). Los relevamientos realizados en la provincia de Córdoba desde la campaña 1998/99 hasta el presente sobre lotes de maíz y malezas circundantes, determinaron que *P. tigrinus* siguió en orden de importancia a *D. kuscheli* en áreas de pedemonte al norte de los 30° S (Laguna *et al.*, 2002; Remes Lenicov *et al.*, 2005).

La presencia de *P. tigrinus* en áreas con la virosis permite suponer que esta especie actúa como vectora y reservorio del MRCV en la naturaleza, con el consecuente efecto epidemiológico. El objetivo del trabajo fue determinar la capacidad de *P. tigrinus* para transmitir el MRCV a triticale bajo condiciones experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y mantenimiento de poblaciones avirulíferas de insectos

Las colonias sanas de *P. tigrinus* empleadas en las transmisiones tuvieron su origen en capturas realizadas mediante red de arrastre durante mayo de 2001, sobre lotes de avena y malezas adyacentes cercanos a Jesús María, y en el campo experimental del IFFIVE-INTA (Córdoba) sobre comunidades de gramíneas [*Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Digitaria* sp., *Lolium* sp.]. Sobre macetas con plántulas de cebada cv. Uñaiché y trigo cv. Buck Arriero se colocaron ninfas y adultos, los cuales fueron mantenidos en salas de cría y en fitotrones bajo condiciones controladas de temperatura (24 ± 1 °C), humedad ($65 \pm 5\%$) y fotoperíodo (16 h de luz), de acuerdo con Truol *et al.* (2001). Los insectos adultos aislados en parejas durante 3 a 4 días para permitir la oviposición, fueron posteriormente colocados sobre plantas sanas de cebada cv. Uñaiché y trigo cv. Buck Arriero al igual que las ninfas emergentes. Las colonias de insectos se mantuvieron durante 4 generaciones antes de ser empleadas en las transmisiones. Los resultados negativos de las pruebas serológicas de DAS-ELISA (Clark & Adams, 1977) realizadas a insectos extraídos periódicamente de la cría y a plantas de triticale cv. Quiñé empleadas en las pruebas de transmisión previas, confirmaron

la ausencia de una eventual transmisión transovárica y la obtención de poblaciones libres de MRCV.

Fuente de inóculo

Como fuente de inóculo se utilizó un aislamiento del MRCV obtenido originalmente en septiembre de 2000 en Jesús María desde plantas de trigo con síntomas de hojas con forma de tirabuzón y achaparramiento; la presencia del virus fue corroborada serológicamente por la técnica de DAS-ELISA utilizando el antisuero correspondiente (Giménez Pecci *et al.*, 1986; Rodríguez Pardina *et al.*, 1998). El inóculo fue mantenido en invernáculo mediante infecciones sucesivas por *D. kuscheli*, de acuerdo con la metodología de Truol *et al.* (2001) hasta la realización del ensayo. Para la prueba de transmisión se empleó una planta de triticale cv. Quiñé que registró una alta concentración viral.

Transmisión experimental

Para lograr la adquisición del virus se colocaron ninfas avirulíferas de *P. tigrinus* de los estadios III y IV sobre el inóculo por un período de 48 h, luego de lo cual fueron llevadas a plantas sanas de trigo cv. Buck Arriero y dejadas allí hasta el momento de su extracción. A los 10 días de haber finalizado la adquisición, se transfirieron grupos de insectos a macetas con 3 plántulas al estado de coleoptile de triticale cv. Tizné, donde fueron dejados por 48 h. Posteriormente, fueron extraídos y llevados a macetas con plántulas sanas por otras 48 o 72 h, y así sucesivamente hasta cumplir con 21 días pos-adquisición. En todos los casos, la presión de inóculo fue de 7 insectos por planta. Los tiempos empleados estuvieron basados en la información disponible para la transmisión experimental del MRCV por *D. kuscheli* (Truol *et al.*, 2001; Arnedo *et al.*, 2002b). Las condiciones ambientales utilizadas fueron las mismas que para la cría de *P. tigrinus*. Una vez finalizada la inoculación, las plántulas fueron transplantadas a macetas y llevadas a invernáculo para la observación de síntomas y el posterior análisis con diferentes métodos de detección viral.

Los especímenes utilizados fueron depositados en las colecciones del Departamento de Entomología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata (UNLP).

Detección del MRCV en plantas inoculadas

Las plantas inoculadas fueron sometidas a diversas pruebas para confirmar la presencia del MRCV: serología, electroforesis de dsRNA y microscopía electrónica de transmisión.

Tabla 1. Eficiencia de transmisión del *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV) en triticale cv. Tizné inoculado por ejemplares de *Pyrophagus tigrinus* con diferentes períodos de pos-adquisición.

Período pos-adquisición (días)*	Plantas infectadas/inoculadas**	Eficiencia de transmisión (%)
10	0/39	0
12	0/39	0
14	0/27	0
17	1/21	4,8
19	1/15	6,7
21	3/13	23,1

*El período de adquisición empleado fue de 48 h.

**Se utilizó una presión de inóculo de 7 insectos por planta.

La detección serológica del virus fue realizada con la técnica de DAS-ELISA a partir de muestras de hojas extraídas y con el empleo de reactivos específicos para el MRCV. La eficiencia (%) de transmisión del virus se determinó mediante el cociente entre el número de plantas seropositivas y el número total de plantas evaluadas, multiplicado por 100.

Para la visualización de los posibles segmentos genómicos del dsRNA viral, se procesaron raíces de plantas de triticale empleadas en las pruebas y con valores altos de absorbencia, de acuerdo a la técnica de Morris & Dodds (1979), modificada por Conci y Guzmán (1999). Las muestras fueron macedadas en tampón de extracción para DAS-ELISA y el dsRNA viral purificado fue analizado por electroforesis en un gel de poliacrilamida (SDS-PAGE 10%) y teñido posteriormente con bromuro de etidio.

Como controles en las pruebas serológicas y de análisis de dsRNA viral se emplearon raíces de plantas de triticale sanas e infectadas con el mismo aislamiento del MRCV transmitido por *D. kuscheli*.

Pequeñas porciones de hoja de triticale con síntomas fueron fijadas, deshidratadas e incluidas en resina Spurr para obtener cortes ultrafinos en ultramicrotomo, teñidos con acetato de uranilo al 2% y citrato de plomo, y posteriormente observadas en un microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM 1200 EX II en magnificaciones de 10000X. La presencia de partículas virales y posibles alteraciones fueron analizadas y comparadas con las alteraciones descritas para otros aislamientos del MRCV (Nome *et al.*, 1981; Arneodo *et al.*, 2002a).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aislamiento del MRCV obtenido originariamente en Jesús María fue transmitido a triticale cv. Tizné por *P. tigrinus* a partir de los 17 días pos-adqui-

sición y con una eficiencia de 4,8% (Tabla 1), empleando períodos de adquisición y de inoculación similares a los utilizados con *D. kuscheli* (Truol *et al.*, 2001). Si bien no fue objetivo de este trabajo estudiar la eficiencia de transmisión del MRCV por *P. tigrinus*, ésta se incrementó progresivamente hasta lograr los máximos valores de eficiencia (23,1%) y de concentración viral a los 21 días pos-adquisición. La ausencia de transmisión que presentaron períodos inferiores a los 17 días de pos-adquisición, se debió quizás a la baja concentración viral en el organismo del insecto del mismo modo como ha sido demostrado en *D. kuscheli* (Arneodo *et al.*, 2002b).

Los primeros síntomas (hojas rígidas de color verde-oscuro) se manifestaron entre las 3 y 4 semanas luego de la inoculación. Posteriormente, las plantas presentaron achaparramiento severo y hojas con bordes recortados y en forma de tirabuzón. Estos síntomas, así como el tiempo transcurrido entre la inoculación y la aparición de los mismos, no difirieron de los registrados en cereales de invierno con transmisiones experimentales realizadas con *D. kuscheli* (Truol *et al.*, 2001). Todas las plantas sintomáticas inoculadas presentaron reacción positiva en presencia del antisuero del MRCV. Los valores de absorbencia para las muestras positivas fueron relativamente altos y similares a los hallados para plantas inoculadas por *D. kuscheli* (Truol *et al.*, 2001).

El análisis del gel de poliacrilamida del dsRNA viral extraído desde raíces de triticale inoculado presentó los 10 segmentos característicos de los *Fijivirus*, y las bandas 2 y 3 migraron conjuntamente, al igual que las 9 y 10. El perfil electroforético hallado fue idéntico al del dsRNA viral extraído desde raíces de triticale inoculado por *D. kuscheli*. Este patrón es el que comúnmente se observa en transmisiones realizadas con *D. kuscheli* (Conci, 1997).

La microscopía electrónica de transmisión reveló la presencia de viroplasmos y viriones de 60-70 nm de diámetro en el citoplasma de células del tejido floemático. Las características y el tamaño de las partículas observadas fueron similares a las descritas por Truol *et al.* (2001) y Arneodo *et al.* (2002a) para el MRCV.

Al igual que para *D. kuscheli* (Brentassi y Remes Lenicov, 1997) y otros delfácidos (Khan & Saxena, 1984), se ha observado que la principal fuente de alimentación de *P. tigrinus* la constituye el floema (Velazquez *et al.*, datos no publicados), lo cual constituye una vía certera de adquisición por ser éste el tejido en donde el patógeno frecuentemente se localiza (Nome *et al.*, 1981; Truol *et al.*, 2001; Arneodo *et al.*, 2002a). La preferencia alimenticia hacia los cereales de invierno, principalmente cebada y trigo,

antes que a maíz, demuestra un comportamiento alimentario similar al observado bajo condiciones experimentales para *D. kuscheli* (Virla y Remes Lenicov, 1991; Brentassi y Remes Lenicov, 1999, 2005).

La eficiencia lograda en la cría artificial del insecto sobre cebada y trigo, y las transmisiones del MRCV realizadas hacia triticale empleando como fuente de inóculo el mismo cereal, sugieren que *P. tigrinus* tiene un rol importante en el ciclo de la enfermedad, principalmente en aquellos agroecosistemas agrícola-ganaderos en donde el maíz es cultivado extensivamente alternando con cereales de invierno, incluido el triticale, y en donde también las poblaciones de este insecto alcanzan altas densidades (Laguna *et al.*, 2002). Esta hipótesis se fundamenta también en que en el área endémica del MRCV los cereales de invierno constituyen la principal fuente de inóculo para la transmisión del virus a maíz (Remes Lenicov *et al.*, 1985; Ornaghi *et al.*, 1993; March *et al.*, 1995).

Estudios posteriores más exhaustivos serán necesarios a fin de determinar la biología de la transmisión del MRCV para *P. tigrinus*. Determinar si las poblaciones naturales de *P. tigrinus* pueden adquirir el virus y transmitirlo a las especies de mayor importancia epidemiológica es uno de los objetivos que serán necesarios cumplir en el futuro, además de hallar posibles diferencias en cuanto a eficiencias de transmisión y síntomas empleando un rango más amplio de hospedantes diferenciales.

CONCLUSIONES

La sintomatología observada en las plantas infectadas, la reacción del virus en las pruebas serológicas, su patrón electroforético y la presencia de agregados de partículas virales en células floemáticas, confirmaron que *P. tigrinus* tuvo la capacidad de adquirir el MRCV desde triticale y de transmitirlo al mismo cereal bajo condiciones experimentales. Los resultados permiten suponer el posible rol de *P. tigrinus* como vector y reservorio del MRCV en la naturaleza.

AGRADECIMIENTOS

Al INTA, al FONCyT, a la Agencia Córdoba Ciencia (Gobierno de la Provincia de Córdoba), al CAB-BIO y al CONICET. Trabajo realizado con el financiamiento de: Proyecto PICT 1998 FONCyT N° 084416, Proyecto CABBIO-FONCyT N° 0006 y Proyecto Estratégico Nacional de INTA de Siembra Directa N° 52-522103-14011.

BIBLIOGRAFÍA

- Arneodo, J.; E. Lorenzo; I. Laguna; G. Abdala and G. Truol, 2002a. Cytopathological characterization of *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV, *Fijivirus*) in corn, wheat and barley. *Fitopatología Brasileira* 27:298-302.
- Arneodo, J.D.; F.A. Guzmán; L.R. Conci and G.A. Truol, 2002b. Transmission features of *Mal de Río Cuarto virus* in wheat by its planthopper vector *Delphacodes kuscheli*. *Annals of Applied Biology* 141:195-200.
- Brentassi, M.E. y A.M. de Remes Lenicov, 1997. Comportamiento alimentario del vector del "Mal de Río Cuarto del maíz", *Delphacodes kuscheli* Fennah, Insecta, Homoptera, Delphacidae. En: Resúmenes VI Congreso Nacional de Maíz. Pergamino, Buenos Aires, Argentina. Tomo II, pp. 46-50.
- Brentassi, M.E. y A.M.M. de Remes Lenicov, 1999. Oviposición de *Delphacodes kuscheli* (Homoptera-Delphacidae) sobre plantas de cebada en condiciones de laboratorio. *Revista de la Facultad de Agronomía* 104(1): 67-74.
- Brentassi, M.E. y A.M.M. de Remes Lenicov, 2005. Actividad alimentaria del vector del "Mal de Río Cuarto del maíz", *Delphacodes kuscheli*, sobre hojas de maíz y avena (Insecta-Fulgoromorpha-Delphacidae). En: Actas VIII Congreso Argentino de Maíz. Rosario, Santa Fe, Argentina. *Protección Vegetal*. pp. 292-295.
- Clark, M.F. and A.N. Adams, 1977. Characteristics of microplates methods of Enzyme Linked Immunosorbent Assay for detection of plant viruses. *Journal General of Virology* 34:475-483.
- Conci, L.R., 1997. Caracterización molecular del virus del Mal de Río Cuarto (MRCV) y desarrollo de sistemas de diagnóstico basado en técnicas de hibridación molecular. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 197 pp.
- Conci, L.R.; M. Valdivia y S. Nome, 1992. Prospección del virus del enanismo rugoso del maíz (MRDV, "Mal de Río IV") en malezas hospedantes mediante la técnica de ELISA y de IEM. *Fitopatología* 27:26-32.
- Conci, L.R. y F.A. Guzmán, 1999. Virus del mal de Río Cuarto. Sonda de hibridación molecular para la detección del virus del mal de Río Cuarto. En: Docampo, D.M. y S.L. Lenardón (Eds.). *Métodos para detectar patógenos sistémicos*. IFFIVE, INTA, JICA. Córdoba, Argentina. pp. 95-97.
- Distéfano, A.J.; L.R. Conci; M. Muñoz Hidalgo; F.A. Guzmán; H.E. Hopp and M. Del Vas, 2002. Sequence analysis of genome segments S4 and S8 of *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV): evidence that the virus should be a separate *Fijivirus* species. *Archives of Virology* 147:1699-1709.

- Giménez Pecci, M.P.; S.F. Nome y R.G. Milne, 1986. Purificación y obtención de antisuero de las partículas del virus causal del mal de Río IV. En: Resúmenes II Congreso Argentino de Virología. Córdoba, Argentina. pp. 23.
- Giménez Pecci, M.P.; I.G. Laguna; E. Dagoberto y P.E. Rodríguez Pardina, 1997. Detección del virus del Mal de Río Cuarto (MRCV) en triticale (*Triticum x Secale*) y en cebadilla criolla (*Bromus unioloides* H.B.K.). En: Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Montevideo, Uruguay. pp. 89.
- Khan, Z.R. and R.C. Saxena, 1984. Technique for demonstrating phloem or xylem feeding by leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) and planthoppers (Homoptera: Delphacidae) in rice plant. *Journal of Economical Entomology* 77:550-552.
- Laguna, I.G.; M.P. Giménez Pecci; P.S. Herrera; C. Borgogno; J. Ornaghi y P. Rodríguez Pardina, 2000. Rol de los cereales de invierno y verano en la epidemiología del virus del mal de Río Cuarto (Provincia de Córdoba, Argentina). *Fitopatología* 35:41-49.
- Laguna, I.G.; A.M. de Remes Lenicov; E. Virla; A.O. Avila; M.P. Giménez Pecci; P. Herrera; J. Garay; D. Ploper y R. Mariani, 2002. Difusión del virus del Mal de Río Cuarto (MRCV) del maíz, su vector, delfácidos asociados y huéspedes alternativos en la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 61:87-97.
- Lenardón, S.L.; G.J. March; S.F. Nome and J.A. Ornaghi, 1998. Recent outbreak of "Mal de Río Cuarto virus" on corn in Argentina. *Plant Disease* 82:448.
- Lenardón, S.L.; G.J. March y J.A. Ornaghi, 1999. Virus del Mal de Río Cuarto en maíz. En: Lenardón, S.L. (Ed.). Enfermedades causadas por virus y fitoplasmas en cultivos extensivos - intensivos. Proyecto de Investigaciones en Fitovirología. IFFIVE, INTA, JICA. Hoja Informativa. Maíz N° 2, 10 pp.
- March, G.J.; M. Balzarini; J.A. Ornaghi; J.E. Beviacqua and A. Marinelli, 1995. Predictive model for "Mal de Río Cuarto" disease intensity. *Plant Disease* 79:1051-1053.
- Morris, T.J. and J.A. Dodds, 1979. Isolation and analysis of double strand RNA from virus infected plant and fungal tissue. *Phytopathology* 69: 854-858.
- Nome, S.F.; S.L. Lenardón; B.C. Raju; I.G. Laguna; S.K. Lowe and D. Docampo, 1981. Association of Reovirus-like particles with "Enfermedad de Río Cuarto" of maize in Argentina. *Phytopathologische Zeitschrift* 101:7-15.
- Ornaghi, J.A.; G. Boito; G. Sánchez; G. March and J.E. Beviacqua, 1993. Studies on the populations of *Delphacodes kuscheli* Fennah in different years and agricultural areas. *Journal of Genetics & Breeding* 47:277-282.
- Ornaghi, J.A.; G.J. March; G.T. Boito; A. Marinelli; J.E. Beviacqua; J. Giuggia and S.L. Lenardón, 1999. Infectivity in natural populations of *Delphacodes kuscheli* vector of "mal de Río Cuarto" virus. *Maydica* 44: 219-223.
- Remes Lenicov, A.M.M. de; A. Tesón; E. Dagoberto y N. Huguet, 1985. Hallazgo de uno de los vectores del Mal de Río Cuarto en maíz. *Gaceta Agronómica* 5(25):251-258.
- Remes Lenicov, A.M.M. de; E. Virla y E. Dagoberto, 1991. Cambios estacionales en la población del vector del "Mal de Río Cuarto" del maíz (*Delphacodes kuscheli* Fennah, 1955) en cultivos de avena y sus malezas circundantes en Sampacho, Córdoba (Insecta-Homoptera-Fulgoroidea). En: Actas Taller de Actualización sobre Mal de Río Cuarto. INTA, CIMMYT. pp. 116-129.
- Remes Lenicov, A.M.M. de; G. Laguna; R. Mariani; S. Paradell; I. Catalano; E. Virla y M.P. Giménez Pecci, 2005. La diversidad de delfácidos en áreas maiceras de la provincia de Córdoba: hacia la detección de otros posibles vectores del MRCV (Insecta-Hemiptera). En: Actas VIII Congreso Argentino de Maíz. Rosario, Santa Fe, Argentina. *Protección Vegetal*. pp. 289-291.
- Remes Lenicov, A.M.M. de y G. Varela, 2005. *Pyrophagus tigrinus*, a new genera and species of Delphacini in crops from Argentina (Insecta-Fulgoroidea-Delphacidae). Inédito.
- Rodríguez Pardina, P.E.; M.P. Giménez Pecci; I.G. Laguna; E. Dagoberto and G. Truol, 1998. Wheat: a new natural host for the Mal de Río Cuarto Virus in the endemic disease area, Río Cuarto, Córdoba province, Argentina. *Plant Disease* 82:149-152.
- Truol, G.A.; T. Usugi; J. Hirao; J.D. Arneodo; M.P. Giménez Pecci y I.G. Laguna, 2001. Transmisión experimental del virus del mal de Río Cuarto por *Delphacodes kuscheli*. *Fitopatología Brasileira* 26:39-44.
- Velazquez, P.D.; J.D. Arneodo; F.A. Guzmán; L.R. Conci and G.A. Truol, 2003. *Delphacodes haywardi* Muir, a new natural vector of *Mal de Río Cuarto virus* in Argentina. *Journal of Phytopathology* 151:669-672.
- Virla, E. y A.M.M. de Remes Lenicov, 1991. Ciclo de vida de *Delphacodes kuscheli* criado sobre diferentes hospedantes en condiciones de laboratorio (Insecta-Homoptera-Delphacidae). En: Actas Taller de Actualización sobre Mal de Río Cuarto. INTA, CIMMYT. pp. 104-115.