

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DEL SISTEMA *Bactericera cockerelli* –
'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' EN MÉXICO

Tesis

Que presenta MARIANA BELTRAN BEACHE

como requisito parcial para obtener el Grado de
Doctor en Ciencias en Parasitología Agrícola

Saltillo, Coahuila

Septiembre 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DEL SISTEMA *Bactericera cockerelli* –
'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' EN MÉXICO

Tesis

Que presenta MARIANA BELTRAN BEACHE

como requisito parcial para obtener el Grado de
Doctor en Ciencias en Parasitología Agrícola

Dr. Ernesto Cerna Chávez
Director (UAAAN)

Ph.D Julien G. Levy
Director externo (Texas A&M)

Saltillo, Coahuila

Septiembre 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DEL SISTEMA *Bactericera cockerelli* –
'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' EN MÉXICO

Tesis

Que presenta MARIANA BELTRAN BEACHE

como requisito parcial para obtener el Grado de
Doctor en Ciencias en Parasitología Agrícola

Dr. Ernesto Cerna Chávez
Director (UAAAN)

Ph.D Juan Carlos Díaz Pérez
Director externo (Georgia University)


Saltillo, Coahuila

Septiembre 2017

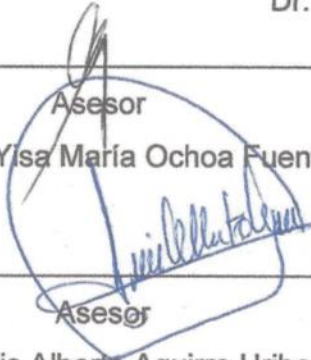
PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DEL SISTEMA *Bactericera cockerelli* –
'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' EN MÉXICO

Tesis

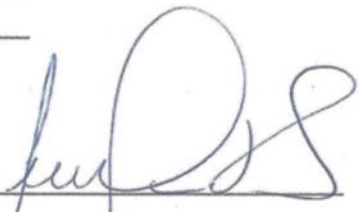
Elaborada por MARIANA BELTRAN BEACHE como requisito parcial para
obtener el Grado de Doctor en Ciencias en Parasitología Agrícola con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría




Asesor principal
Dr. Ernesto Cerna Chávez




Asesor
Dra. Yisa María Ochoa Fuentes



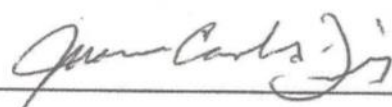
Asesor
Dr. Jerónimo Landeros Flores



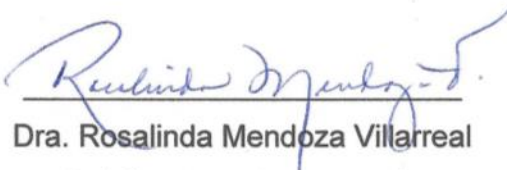
Asesor
Dr. Luis Alberto Aguirre Uribe



Asesor
Ph.D Julien G. Levy



Asesor
Ph.D Juan Carlos Díaz Pérez



Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal
Subdirectora de postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Septiembre 2017

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ernesto Cerna Chávez, por darme la oportunidad de trabajar bajo su tutela y por su total apoyo en conocimientos y materiales necesarios para la realización de este proyecto.

A la Dra. Yisa María Ochoa Fuentes por su apoyo incondicional en la realización del presente trabajo y por su constante motivación para lograr las metas planteadas y explorar hacia nuevos retos.

Al Dr. Jerónimo Landeros Flores, por su confianza, amistad y siempre oportunos consejos.

Al Dr. Luis Alberio Aguirre Uribe, por su interés y disposición para atender los asuntos relacionados a la realización de este proyecto

Un agradecimiento especial al Ph.D. Julien Levy, por su entera disposición para resolver mis dudas y por compartir información valiosa para el desarrollo de esta investigación. Así como al Ph.D. Juan Carlos Díaz Pérez por el interés mostrado hacia el proyecto y el apoyo brindado.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por bríndame la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado y por la aportación económica otorgada.

Finalmente a mis compañeros Omegar Hernández, Juan Carlos Delgado, Anselmo Hernández, Roberto Ríos y Jazmín Guerrero, por hacer más ameno el trabajo y la mutualidad generada.

DEDICATORIA

A mis hijos Mariana Delgado Beltran y
Juan Carlos Delgado Beltran
Por hacer cada día una experiencia nueva y especial.

A mis padres Margarita Beache y José Beltran.

Juan Carlos Delgado Ortíz, 



Oficio: INV- 289/15

YISA MARÍA OCHOA FUENTES
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA
P R E S E N T E

Le informo que el artículo a su cargo titulado “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE *Heliopsis longipes* (A. GRAY BLAKE) SOBRE NINFAS DE *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Trioziidae)”, y en colaboración con Mariana Beltrán Beache, Ernesto Cerna Chávez y Juan Carlos Delgado Ortiz, fue ACEPTADO para su publicación en la revista *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*.

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“SE LUMEN PROFERRE”
Aguascalientes, Ags., 29 de Junio de 2015

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ruiz'.

DRA. GUADALUPE RUIZ CUÉLLAR
EDITORA DE LA REVISTA INVESTIGACIÓN Y CIENCIA DE LA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES
ISSN 16654412

Certificado de Licitud de Título 12284
Certificado de Licitud de Contenido 8497
Índice de Revistas Mexicanas de Divulgación Científica y Tecnológica del CONACYT

smrg

15/9/2017

Gmail - [FLAENT] Submission Acknowledgement



Mariana Beltran <beltranmariana89@gmail.com>

[FLAENT] Submission Acknowledgement

1 mensaje

Florida Entomological Society <flaentsoc@gmail.com>
Para: Mariana Beltran <beltranmariana89@gmail.com>

21 de marzo de 2017, 23:44

Mariana Beltran:

Thank you for submitting the manuscript, "New Haplotype of *Bactericera cockerelli* Šulc, 1990 (Hemiptera: Triozidae) in Mexico" to Florida Entomologist. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL: <http://journals.fcla.edu/flaent/author/submission/90933>
Username: mariana

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Florida Entomological Society
Florida Entomologist

Florida Entomologist

15/9/2017

Gmail - [rcia] Submission Acknowledgement



Mariana Beltran <beltranmariana89@gmail.com>

[rcia] Submission Acknowledgement

1 mensaje

Valentina Lopresti <rcia@uc.cl>
Para: beltranmariana89@gmail.com

2 de abril de 2017, 22:17

Mariana Beltran:

Thank you for submitting the manuscript, "'Candidatus Liberibacter solanacearum' a widespread bacteria in Bactericera cockerelli populations from Mexico" to Ciencia e Investigación Agraria. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL: <http://rcia.uc.cl/index.php/rcia/author/submission/1768>
Username: mariana

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Valentina Lopresti
Ciencia e Investigación Agraria

Ciencia e Investigación Agraria
<http://www.rcia.uc.cl>

Introducción

Bactericera cockerelli (Sulc) (Hemiptera: Triozidae), es una plaga de importancia económica que afecta principalmente el cultivo de solanáceas, a través de su alimentación (Liu and Trumble, 2004), provocando daños directos de tipo toxinífero y daños indirectos por la transmisión de procariontes y fitoplasmas (Garzón *et al.*, 2005); ejemplo de ello es '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', una bacteria Gram-negativa parásita obligada del floema, casi exclusivamente en solanáceas (Liefting *et al.*, 2009). Las infecciones por '*Ca. L. solanacearum*', han provocado pérdidas millonarias en la industria de la papa (SINAVEF, 2012); por el abandono de los campos de siembra, así como por la merma en la producción y calidad del cultivo, que pueden alcanzar hasta el 100%. Además de papa, este patógeno infecta tomate, chile morrón, y otros cultivos de solanáceas (Liefting *et al.*, 2009). En tomate y chile, este patógeno reduce el rendimiento de la producción hasta en un 60% si se presenta solo, o hasta del 100% si se presenta en conjunto con virus o fitoplasmas (Hernández, 2013). '*Candidatus L. solanacearum*' ha sido reportada en diversas partes del mundo; en México los principales cultivos afectados son papa, chile y tomate en los estados de Sinaloa, Coahuila, Michoacán y en el Estado de México (Munyaneza *et al.*, 2007, 2009a, 2009b; Rubio *et al.*, 2011; Hernández, 2013; Rojas *et al.*, 2016).

La distribución de *B. cockerelli* es muy amplia y diversos ejemplares han sido colectados en varias zonas de importancia agrícola en México, como Durango, Tamaulipas, D.F y Michoacán (Pletsch, 1947), La región del Bajío y Valle de Arista en San Luis Potosí y la Comarca Lagunera, en Coahuila; también se tiene registro de la presencia de esta plaga en el estado de Morelos, Arteaga, Coahuila, y Delicias, Chihuahua, así como Nayarit, Jalisco, Baja California, Sinaloa (Nava *et al.*, 2006) y Zacatecas (Velásquez y Reveles, 2015), sin existir un registro acerca de sus características morfológicas y genéticas

En México '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' no ha sido reportada en zonas fuera de aquellas donde se encuentra el vector, lo que indica que son

áreas delimitadas por las condiciones de desarrollo del insecto (LANREF, 2013). En México, se han realizado pocos estudios que relacionen la presencia de '*Candidatus* L. solanacearum' y *B. cockerelli*. Por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de '*Candidatus* L. solanacearum' en diversas poblaciones de *B. cockerelli* provenientes de distintas zonas productoras de solanáceas, en la república mexicana, así como la caracterización morfológica y genética de *B. cockerelli*.

Revisión de literatura

Bactericera cockerelli

Bactericera cockerelli (Šulc) (Hemíptera: Triozidae), es una plaga de importancia económica en el cultivo de solanáceas. Este insecto es capaz de alimentarse y reproducirse en más de 40 especies hospederas, incluyendo especies silvestres y cultivadas de solanáceas como papa (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), chile (*Capsicum annuum* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), hierba mora (*Solanum* spp.), tomatillo (*Physalis* spp.) y vid del matrimonio (*Lycium* spp.) (Essig 1917; Knowlton and Thomas 1934; Pletsch 1947; Jensen 1954; Wallis 1955; Butler and Trumble 2012; Munyaneza *et al.*, 2013). También ha sido reportada en otras familias de plantas, incluyendo *Brassicaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Poaceae*, *Pinaceae*, *Salicaceae*, *Polygonaceae*, *Chenopodiaceae*, *Malvaceae*, *Fabaceae*, *Amaranthaceae*, *Menthaceae* y *Convolvulaceae*, aunque no hay indicios de que estas sean hospederos viables para *B. cockerelli* (Pletsch 1947; Wallis 1955; Cranshaw, 1993).

Clasificación taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Metazoa

Filum: Arthropoda

Subfilum: Uniramia

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Suborden: Sternorrhyncha

Superfamilia: Psylloidea

Familia: Triozidae

Género: *Bactericera*

Especie: *Bactericera cockerelli*.

Características morfológicas

Los adultos de *B. cockerelli* son pequeños, variando de 1.3-1.9 mm (Liu and Trumble, 2007), pero esta característica puede variar dependiendo de la planta huésped, el origen geográfico de las poblaciones, sexo y si la medición fue realizada con individuos de campo o laboratorio (Butler and Trumble, 2012). Los adultos de *B. cockerelli* poseen dos pares de alas claras; Las alas delanteras llevan venas conspicuas y son considerablemente más grandes que las alas posteriores. Las antenas son moderadamente largas, extendiéndose casi la mitad de la longitud del cuerpo. El color del cuerpo general varía de verde pálido en la emergencia a verde oscuro o marrón dentro de 2-3 días, y eventualmente se vuelve gris o negro. Las líneas blancas o amarillas prominentes se encuentran en la cabeza y el tórax, y las vendas blanquecinas dorsales se localizan en los segmentos abdominales primero y terminal. Estas marcas blancas son características puntuales del psílido, particularmente la banda blanca ancha y transversal en el primer segmento abdominal y la marca blanca en forma de "V" invertida en el último segmento abdominal (Pletsch, 1947; Wallis, 1955) y la línea blanca levantada alrededor de la circunferencia de la cabeza. Los adultos son activos en contraste con los estadios de ninfas en gran medida sedentarios. Estos insectos son buenos voladores y saltan fácilmente cuando son molestados.

Los diferentes instares ninfales de psílicos y triózidos se alimentan directamente de la savia elaborada de las plantas hospederas (Pletsch, 1947), por lo que se relaciona la planta hospedera con efectos directos en las características morfométricas del insecto. Efecto documentado por Yang y Liu, (2009) y Liu *et al.*, (2006) donde todos los estadios de desarrollo y ciclo de vida de *B. cockerelli* presentan cambios dependiendo del hospedero, chile, papa, tomate y berenjena, siendo este último en hospedero que propicia las mejores condiciones para el desarrollo del insecto.

Tuthill, 1945, menciona que la cabeza de *B. cockerelli* es de tamaño moderado, más estrecho que el tórax, procesos genales muy pequeños, antenas 1.5 veces más largas que el ancho de cabeza, tórax fuertemente arqueado, alas delanteras

rectas, 2.5 veces más largo que ancho; mientras que Lheman, (1930) indica que la medida del adulto es hasta de 2.75mm desde la cabeza hasta la punta del ala y la longitud del cuerpo varía de 1.333 a 1.666mm.

Los estudios de morfometría son una herramienta que ha demostrado ser muy efectiva para descomponer la variación resultante de la fisiología de los individuos (variación del tamaño), propia de la población y producto probablemente genético (variación de la forma) (Jaramillo *et al.*, 2002); la variación morfométrica se puede utilizar para discriminar “poblaciones fenotípicas”, definidas como grupos con un crecimiento, mortalidad y tasas de reproducción similares (Cadrin, 2000).

Características genéticas

Estudios sobre la variabilidad genética entre poblaciones de *B. cockerelli* han revelado biotipos separados que coinciden con la separación geográfica de las poblaciones analizadas (Liu *et al.*, 2006, Jackson *et al.*, 2009). Los biotipos de insectos reconocen cierta variación entre poblaciones de la misma especie que pueden incluir variación morfológica y la capacidad de sobrevivir, reproducirse o causar enfermedades en diferentes plantas (Shufran y Payton 2009). La comparación de los psílicos obtenidos de los Estados Unidos Occidental (Sur de California) y Central (Colorado y Nebraska) en 2003 sugiere que estos psílicos constituyen dos biotipos diferentes de la misma especie, los biotipos Occidental y Central (Liu *et al.*, 2006).

Con el propósito de entender la dinámica poblacional temporal y espacial de *B. cockerelli* se han utilizado análisis genéticos de un solo individuo para identificar diferentes poblaciones o haplotipos en base al análisis de polimorfismos de nucleótido simple o SNP (Single Nucleotide Polymorphism) (Swisher *et al.*, 2012), definiendo un haplotipo como una única forma genética que difiere de cualquier otra forma por variaciones en las posiciones individuales (al menos en un nucleótido) en una secuencia de ADN (Templeton, 2006), donde específicamente, se han descrito cuatro haplotipos; Western, Central, Northwestern y Southwestern en Norte y Centro América (Swisher *et al.*, 2012, 2013, 2014).

Distribución geográfica e importancia económica

B. cockerelli es una plaga presente en varios países, donde está causando daños extensos en cultivos en Norte y Centroamérica y en Nueva Zelanda, cuando se producen en altas densidades de población (Butler and Trumble, 2012). Los daños causados en las plantas por la alimentación se denominan amarillamientos de psíllidos (Sengoda *et al.*, 2010). Las hojas de las plantas infestadas de psyllid aparecen cloróticas o decoloradas, ahuecadas y con agallas, una infestación pesada puede conducir a la senescencia prematura y la muerte de la planta. *B. cockerelli* es vector de los haplotipos A y B de Lso (Nelson *et al.*, 2011), siendo capaz de provocar pérdidas totales en los cultivos donde se presentan (Munyanza *et al.*, 2012a, b).

Las infecciones por Lso, han provocado pérdidas millonarias en la industria de la papa (SINAVEF, 2012); por el abandono de los campos de siembra, así como por la merma en la producción y calidad del cultivo, que pueden alcanzar hasta el 100%. Además de papa, este patógeno infecta tomate, chile pimiento, y otras especies de cultivos de solanáceas (Liefting *et al.*, 2009). En tomate y chile, reduce el rendimiento de la producción hasta en un 60% si se presenta sola, o hasta el 100% si se presenta en conjunto con virus o fitoplasmas (Hernández, 2013). Provoca un aumento en los gastos de manejo del cultivo y control del vector (Gudmestad y Secor, 2007). Esta bacteria ha sido reportada en diversas partes del mundo; en México los principales cultivos afectados son papa, chile y tomate en los estados de Sinaloa, Coahuila, Michoacán y en el Estado de México (Munyanza *et al.*, 2007, 2009a, 2009b; Hernández, 2013; Rubio *et al.*, 2011).

La distribución de *B. cockerelli* es muy amplia y diversos ejemplares han sido colectados en varias zonas de importancia agrícola en México, como Durango, Tamaulipas, D.F y Michoacán (Pletsch, 1947), La región del Bajío y Valle de Arista en S.L.P. y la Comarca Lagunera; también se tiene registro de la presencia de esta plaga en el estado de Morelos, Arteaga, Coahuila, y Delicias, Chihuahua, así como Nayarit, Jalisco, Baja California, Sinaloa (Nava *et al.*, 2006) y Zacatecas (Velazquez y Reveles, 2015)

Lso no ha sido reportada en zonas fuera de aquellas donde se encuentra el vector, lo que indica que son áreas delimitadas por las condiciones de desarrollo del insecto (LANREF, 2013).

Candidatus Liberibacter solanacearum

Candidatus Liberibacter solanacearum (Lso) es una bacteria Gram-negativa, parásita obligada del floema en solanáceas y no cultivable *in vitro* (Jagoueix *et al.*, 1994; Bové, 2006). La morfología de las especies de Lso se observa en forma de varilla (similar a un bacilo) bajo microscopía electrónica (Tanaka *et al.*, 2007) y miden aproximadamente 0.2µm de ancho y 4µm de largo. Al igual que otras bacterias del género liberibacter, se puede transmitir por injerto e insectos vectores (Liefting *et al.*, 2009a; Secor *et al.*, 2009; Crosslin y Munyaneza, 2009). En México es responsable de la enfermedad “Permanente del tomate”, “Punta morada de la papa” (ZC) y algunos daños en chile, cuyos síntomas aéreos son similares en las tres especies (Munyaneza *et al.*, 2007a, 2009a, 2009b).

Ubicación taxonómica de *Candidatus liberibacter solanacearum*

Dominio: Bacteria

Phyllum: Proteobacteria

Clase: Alphaproteobacteria

Orden: Rhizobiales

Familia: Phyllobacteriaceae

Género: *Candidatus Liberibacter*

Especie: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (sin. *psyllauros*) (CAB International, 2012).

Las infecciones ocasionadas por Lso reducen la calidad del producto y su valor comercial en el mercado. Lso ha causado pérdidas millonarias en la industria de la papa (SINVEF, 2012); por el abandono de los campos de siembra así como

por la merma en la producción y calidad del cultivo, que pueden alcanzar hasta el 100%. En tomate, reduce el rendimiento de la producción en un 60% (Garzon, 1984) si se presenta sola, o hasta el 100% si se presenta en conjunto con fitoplasmas o infecciones por virus (Hernández, 2013). Además, aumentan los gastos de manejo del cultivo y control del vector (Gudmestad y Secor, 2007).

En el estado de Guanajuato se reportó por primera vez en 1984 la existencia de una enfermedad denominada “permanente del tomate” (PT), la cual causó 60% de daños en la producción del cultivo (Garzón, 1984; Garzón, *et al.*, 1986; Munyaneza, 2009b). Posteriormente, Secor y Rivera (2004) demostraron que una nueva especie de bacteria no cultivable denominada *Candidatus Liberibacter solanacearum*, era la responsable de la enfermedad “Permanente del tomate” (en conjunto con algunos fitoplasmas), este patógeno también está asociado a la enfermedad denominada “Punta morada de la papa” o Zebra chip (ZC), reportada por primera vez en 1994 en Saltillo, México, y el variegado del chile (Munyaneza *et al.*, 2007a, 2009a, 2009b; Hernández, 2013).

Munyaneza *et al.* (2009a) reportaron por primera vez la presencia de síntomas similares al “permanente del tomate”, enfermedad comúnmente asociada a fitoplasmas (Holguín *et al.*, 2007), en plantas de tomate en Sinaloa, México, cuyos síntomas mantenían una gran similitud con los causados por Lso (Liefting, 2009). Tras un análisis, no se detectó la presencia de algún fitoplasma, mientras que la bacteria Lso estuvo presente en todas las muestras evaluadas. Los síntomas de la enfermedad denominada “permanente del tomate” (PT) causada por Lso inician con una clorosis de los brotes apicales, las hojas inferiores se enrollan tomando la apariencia de “taco” y presentan una textura quebradiza. En las flores se manifiesta necrosis y son abortadas. Las plantas son pequeñas y de un color verde más intenso que las normales (Garzón, 1984 y 1986; Munyaneza *et al.*, 2009a).

Referencias

- BUTLER, C.D., TRUMBLE, J.T. 2012. The potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae): life history, relationship to plant diseases, and management strategies. *Terrestrial Arthropod Reviews*. 5(2):87-111.
- CADRIN, S.X. 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 10:91-112.
- CRANSHAW, W.S. 1993. An annotated bibliography of potato/tomato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc) (Homoptera; Psyllidae). Colorado State University Agricultural Experiment Station Bulletin, TB93-5.
- ESSIG, E.O. 1917. The tomato and laurel psyllids. *J. Econ. Entom.* 10, 433-444.
- GUDMESTAD, N.C. and SECOR G.A. 2007. Zebra Chip: A new disease of potato. *Nebr. Potato Eyes*. 19:1-4.
- HERNÁNDEZ, D.M.G. 2013. Etiología del variegado del Chile (*Capsicum annuum* L.) en Yurécuaro, Michoacán. Colegio de postgraduados, Campus Montecillos. Tesis de maestría.
- JARAMILLO, O.N., CALLE, D., CARO-RIAÑO, H., CALLE, J. y ORTEGA, B. E. 2002. Diferencias morfométricas asociadas a la distribución geográfica de *Rhodnius pallescens* provenientes de siete localidades de Colombia y Panamá. Organización Panamericana de la salud OPS/DPC/CD/273/03. En memorias: Taller Técnico de Estudio sobre *Rhodnius pallescens*, su Vigilancia y Control. Panamá, Panamá. Pp 15-23.
- JENSEN, D.D. 1954. Notes on the potato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Psyllidae). *Pan-Pacific Entomologist*. 30: 161-165.
- KNOWLTON, G. F., and W. L. THOMAS. 1934. Host plants of the potato psyllid. *J. Econ. Entomol.* 27: 547.
- Laboratorio Nacional de Referencia Epidemiológica Fitosanitaria (LANREF). 2013. Ficha técnica, Zebra chip, *Candidatus Liberibacter solanacearum*. SENASICA.
- LHEMAN, S.S.R. 1930. Some observations on the Life History of the Tomato Psyllid (*Paratrioza Cockerelli* Sulc.) (Homoptera), *Journal of the New York Entomological Society*, 38(3): 307-312.

- LIEFTING, L. W., SUTHERLAND, P. W., WARD, L. I., PAICE, K. L., WEIR, B. S., CLOVER, G. R. G. 2009. A new "*Candidatus Liberibacter*" species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Dis.* 93:208-214.
- LIU, D. and J.T. TRUMBLE. 2006. Ovipositional preferences, damage thresholds, and detection of the tomato- potato psyllid *Bactericera cockerelli* (Homoptera:Psyllidae) on selected tomato accesions. *Entomological Research.* 96: 197-204.
- LIU, D., J. T. TRUMBLE, and R. STOUTHAMER. 2006. Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western North America. *Entomol. Exp. Appl.* 118: 177-183.
- LIU, D., and J. T. TRUMBLE. 2007. Comparative fitness of invasive and native populations of the potato psyllid (*Bactericera cockerelli*). *Entomol. Exp. et Appl.* 123:35-42.
- MUNYANEZA, J.E., CROSSLIN, J.M., UPTON, J.E. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip", a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *J. Econ. Entomol.* 100: 656–663.
- MUNYANEZA, J.E., SENGODA, V.G., GARZÓN, T.J.A., CÁRDENAS, V.O.G. 2009a. First Report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in tomato plants in Mexico. *Plant Disease*, 93:10:1076.
- MUNYANEZA, J.E., SENGODA, V.G., GARZÓN, T.J.A., CÁRDENAS, V.O.G. 2009b. First Report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in pepper plants in Mexico. *Plant Disease*, 93:10:1076.
- MUNYANEZA, J.E., SENGODA, V.G., BUCHMAN, J.L., FISHER T.W. 2012a. Effects of temperature on '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' and zebra chip potato disease symptom development. *Plant Disease.* 96: 18–23.
- MUNYANEZA, J.E., SENGODA, V.G., STEGMARK, R., ARVIDSSON, A.K., ANDERBRANT, O., YUVARAJ, J.K., RÄMERT, B., NISSINEN, A. 2012b.

- First report of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” associated with psyllid affected carrots in Sweden. *Plant Disease*, 96, 453.
- MUNYANEZA, J. E., V.G. SENGODA, E. AGUILAR, B. BEXTINE, and K. F. McCUE. 2013. First report of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ associated with psyllid-infested tobacco in Nicaragua. *Plant Dis.* 97: 1244.
- NAVA, C. U. 2002. Muestreo, monitoreo y umbrales económicos del psilido del tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc). Pág. 55-77. Memoria taller sobre *Paratrioza cockerelli* Sulc., como plaga y vector de fitoplasmas en hortalizas. Culiacán, Sinaloa. 100p.
- NELSON, W.R., FISHER, T.J., MUNYANEZA, J.E. 2011. Haplotypes of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” suggest long-standing separation. *European Journal of Plant Pathology*, 130, 5–12.
- PLETSCH, D. J. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Šulc) its biology and control. Montana. *Agr. Exp. Stn. Bull.* 446.
- SENGODA, V.G., MUNYANEZA, J.E., CROSSLIN, J.M., BUCHMAN, J.L., PAPPU, H.R. 2010. Phenotypic and etiological differences between psyllid yellows and zebra chip diseases of potato. *American Journal of Potato Research*, 87, 41–49.
- SISTEMA NACIONAL DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA FITOSANITARIA (SINAVEF). 2012. Ficha técnica zebra chip *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Dirección General de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. México, DF. 24p.
- SWISHER, K.D., MUNYANEZA, J.E., and CROSSLIN, J.M. 2012. High Resolution Melting Analysis of the Cytochrome Oxidase I Gene Identifies Three Haplotypes of the Potato Psyllid in the United States. *Environ. Entomol.* 41(4): 1019-1028.
- SWISHER, K.D., ARP, A.P., BEXTINE, B.R., AGUILAR, E.Y., CROSSLIN, J.M., and MUNYANEZA, J.E. 2013. Haplotyping the Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli*, in Mexico and Central America. *South Entomol.* 38(2):201-208.

- SWISHER, K.D., HENNE, D.C., and CROSSLIN J.M. 2014. Identification of a Fourth Haplotype of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in the United States. *Insect Sci.* 14(161).
- TEMPLETON, A. 2006. Populations genetics and micro evolutionary theory. Chapter 1: Scope and Basic Premises of Population Genetics. Eds. John Wiley & Sons, Inc. pp. 700.
- TUNTHILL, D.L. 1945. Contribution to the knowledge of the psyllidae of Mexico. *Kansas entomological society.* 18 (1): 9-11.
- VELÁSQUEZ, V.R. y T.L. REVELES. 2015. Infestación natural de *Bactericera cockerelli* Sulc. en colectas de chile para secado ancho y mirasol en Zacatecas, México. *AGROFAZ.* 15:1.
- WALLIS, R. L. 1955. Ecological studies on the potato psyllid as a pest of potatoes. *USDA Tech. Bull.* 1107.
- YANG, X.B. and T.X. LIU. 2009. Life History and Life Tables of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) on Eggplant and Bell Pepper, *Environ. Entomol.* 38 (6). Pages 1661–1667.

Artículo 1

'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' a widespread bacteria in *Bactericera cockerelli* populations from Mexico

Mariana Beltran¹, Ernesto Cerna¹, Juan Carlos Delgado¹, Yisa María Ochoa¹, Jerónimo Landeros¹, Luis Alberto Aguirre¹, Julien G. Levy², Juan Carlos Díaz³.

1 Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Parasitología Agrícola. Calzada Antonio Narro 1923, col. Buenavista, Saltillo, Coahuila. Mexico.

2 Department of Plant Pathology and Microbiology, Texas A&M University, College Station 77843.

3 Department of Horticulture, The University of Georgia, 2360 Rainwater Road, Tifton GA 31793-5766.

Abstract

M. Beltran, E. Cerna, J. C. Delgado, Y. M. Ochoa, J. Landeros, L. A. Aguirre, J. G. Levy, J. C. Díaz. 2017. Detección de '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' en poblaciones de *Bactericera cockerelli* en México. Cien. Inv. Agr. *Bactericera cockerelli* is a pest of major economic importance in solanaceae crops due to its major role in the transmission of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*'. Few works have been done in Mexico linking '*Ca. L. Solanacearum*' and *B. cockerelli* presence. The purpose of this study is detecting the presence of Lso in different populations of *B. Cockerelli* from different solanaceae growing regions in Mexico. Finding Lso in several populations of *B. cockerelli* from twelve different states, in different solanaceae crops and different production systems. At least one insect population tested positive for Lso in the different

states sampled. Those results indicate that both vector and pathogen have the capacity to develop properly in different conditions as in a variety of solanaceae crops and production systems.

Key words

B. cockerelli, populations, ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’, Mexico.

Introduction

Bactericera cockerelli (Sulc) (Hemiptera: Triozidae), is a pest of economic importance mainly in solanaceae crops, causing direct harm while feeding (Liu and Trumble 2004) and indirect through the transmission of prokaryotes and phytoplasmas (Garzón, *et al.*, 2005) like ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ (Lso), a Gram-negative bacteria obligate phloem parasite almost exclusively of solanaceous crops (Liefting *et al.*, 2009).

Lso is present in several countries affecting Solanaceae in America and New Zealand (Abad, 2009; Hansen *et al.*, 2008; Liefting *et al.*, 2008), celery and carrot in Europe and Africa (Alfaro-Fernández *et al.*, 2012; Teresani *et al.*, 2014; Tamborindeguy *et al.*, 2017). Lso in Mexico has been detected in potato, pepper and tomato crops in the states of Sinaloa, Coahuila, Michoacán and in the State of Mexico (Munyaneza *et al.*, 2007, 2009a, 2009b; Rubio *et al.*, 2011; Hernández, 2013). Psyllids and Lso, have caused economic losses in the potato industry (SINAVEF, 2012); due to the decline in production and crop quality, which can reach up to 100% of yield and the abandonment of fields. In tomato and pepper plants, Lso reduce yield by up to 60% if presented alone, or up to 100% if presented in association with viruses or phytoplasmas (Hernández, 2013), in addition to

causing an increase in expenses crop management and vector control (Gudmestad y Secor, 2007).

Lso can be by *B. cockerelli* is vertical and horizontal mode (Torres *et al.*, 2015), with an incubation period of up to 24 h and an average transmission time of 15 min. Lso does not require a wild host to multiply (Casteel *et al.*, 2012). The physiological age of the vector does not influence the ability to transmit the bacteria, but *B. cockerelli* nymphs require less time (15 min) than the adults (30 min) to acquire Lso (Garzón *et al.*, 2009). All stages of *B. cockerelli* transmit Lso with an efficiency of 100%, except adults, which have a transmission capacity of 78% (Casteel *et al.*, 2012). Lso maintains a symbiotic relationship with *B. cockerelli*, being an endosymbiont and helps to unfold carbohydrates for its easy assimilation. Lso could affect most of the developmental processes of *B. cockerelli*; regulation of genes involved in metabolism, reproduction, development, activation of stress response and immune response were shown previously (Nachappa *et al.*, 2012).

B. cockerelli has widespread distribution and several specimens have been collected from different important agricultural regions in Mexico, such as the states of Durango, Tamaulipas, Mexico City, Michoacan (Pletsch 1947), and the regions of El Bajío and Valle de Arista in San Luis Potosí (S.L.P.). The presence of this pest has also been detected in Morelos, Coahuila, Chihuahua, Nayarit, Jalisco, Baja California, Sinaloa (Nava *et al.*, 2006) and Zacatecas states (Velásquez y Reveles 2015). Lso only has been reported in areas where the vector is present; indicating that the bacterium presence is limited to the regions where the insect thrives. In Mexico Lso has not been reported in

areas outside those where the vector is found, indicating that they are areas delimited by the conditions of development of the insect (LANREF 2013).

Few research works have been made in Mexico linking the presence of Lso and *B. cockerelli*, damaging solanaceous crops. Therefore, the purpose of this research work was to detect the presence of Lso in different populations of *B. Cockerelli* from different solanaceous crops growing regions in Mexico.

Materials and methods

Several states of Mexico were visited from June to September, 2015, in order to obtain the populations of *B. cockerelli* from solanaceae crops, under different production systems (Table 1). The insects were caught using a manual vacuum cleaner and were placed inside labeled flasks from every sampling zone. In those sites where the presence of adult individuals was limited, leaves infested with *B. cockerelli* nymphs were collected and introduced in wet chambers inside 250 mL plastic containers, in order to foster adult emergence. The resulting populations were transported on ice to be processed at the department of Agricultural Parasitology from “Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro”, located at Saltillo, Coahuila, Mexico. DNA was extracted using the method described by Doyle and Doyle (1990). Three to twenty insects were macerated individually from each population (depending on the number of insects caught) inside 1.5 mL tubes, with 200 μ L of lysis buffer (100mM Tris-HCl, 50mM EDTA, 50mM NaCl and 2% SDS), using an electrical homogenizer Omni TH[®]. 200 μ l of chloroform isoamyl alcohol 24:1 was added, before centrifuging at 16 000rpm/15min. The upper phase of the sample was recovered in a new tube and 100 μ L of isopropanol was added before incubating the samples at -20°C/20min and centrifuging them at 16 000rpm/6min.

Isopropanol was discarded and the resulting DNA was washed with ethanol at 70% and re-suspended in 20µL of MiliQ water. DNA was observed at a 2% agarose gel, using 1µL of Gel Red-loaded buffer (Gen Script) and 3µL of the sample, inside an electrophoresis chamber, at 60V during 30 minutes.

Lso TX 16/23 F (5'-AATTTTAGCAAGTTCTAAGGG-3') and Lso TX 16/23 R (5'-GGTACCTCCCATATCGC-3') primers were used to detect Lso by amplifying a region of 383bp, between 16S and 23S ribosomal DNA (Ravindran *et al.*, 2011). The secondary test used primers Lso F (5' GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT-3') and O12c (5' GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT-3') (Li et al. 2009), amplifying region 1, 163bp of 16s gen, to confirm the results obtained from the main test.

PCR reaction for Lso TX 16/23 F/Lso TX 16/23 R was done using 4µl of Taq&Go^T Mastermix (MP Biomedicals); 0.5µL of each primer at 10µM and 1µL of DNA, adjusting the final volume of the reaction to 20µL. Within the reaction parameters, the initial denaturation temperature of 98°C was programmed for 30s followed by 35 cycles of 98°C for 10s; 56°C for 20s (temperature to anneal the primers) and 72°C for 30s, followed by a final extension at 72° for 7 min, within Axygene's MaxyGene thermo cycler. The products obtained were checked on a 2% agarose gel using 1µL of Gel Red loading buffer (Gen Script) and 5µL of the PCR products, running the samples at 60V for 80min. The gels were observed with a MultiDoc-It transilluminator and UVP Digital Imaging System program.

Samples that present problems for Lso detection, were subjected to a second assay with a second primers set Lso F/O12c. PCR reaction mix contained 4µl of Taq&Go^T master mix, 0.5µl of each primer (10µM) and 1µl of sample DNA in a 20µl final reaction

volumen. PCR conditions were 94°C for 2min, then 40 cycles of 94°C for 30s, 62°C for 30 s and 72°C for 30s, followed by a final extension at 72°C for 10min. Products obtained was visualized in a 2% agarose gel, mixing 1µl of Gel Red loading buffer (Gen Script) and 5µl of PCR products.

Results

Lso positive populations with Lso TX 16/23 F/Lso TX 16/23 R primers were 26 of 32 populations tested. Six samples tested negative were assayed with a second primers set (Lso F/O12c), of which only four did not generate the amplicon expected, this samples were obtained from Potrero de Vaquerías, Calvillo, Aguascalientes (5); San Juan Tianguismanalco, Puebla (15); H. Márquez, Poanas, Durango (29) and El Refugio, Durango, Durango (30). 16 and 28 populations originated the amplicon hoped.

To confirm results, all positive populations with Lso TX 16/23 F/Lso TX 16/23 R primers set were assayed with LsoF/O12c, of which 22 populations results were the same, and four did not react; samples from Jalisco, S.L.P., Zacatecas and Nayarit states, samples no. 11, 19, 21, 23 respectively (Table 1; Figure 1).

Most of the samples of *B. cockerelli* were collected on pepper crop, where 15 populationes were assayed, 12 tested positive to Lso (Figure 2); in tomatoe Lso was found in 9 of 10 populations, wile in potato four of four were positive, additionally in three areas where the samples were obtained from tomato and pepper adjacent crops, all to Lso positives. In relation to production system, populations tested positive independently of technification level employed in the crop production; Obtaining two negative populations to Lso from open field and two from greenhouse, being from Potrero de Vaquerías,

Calvillo, Aguascalientes and San Juan Tianguismanalco, Puebla; H. Márquez, Poanas, Durango and El Refugio, Durango, Durango, respectively.

Discussion

In all sampled states, at least one Lso-positive population was obtained, which provides a broad overview of the distribution and vector-pathogen relationship between *B. cockerelli* and Lso.

Cadena (1993) reported the presence of potato purple tip in commercial plots of Leon Guanajuato, Nuevo Leon, Coahuila, Valle de Toluca (Edo. De Mexico), Michoacan, Tlaxcala, Hidalgo and Puebla; and coincided with the populations of *B. cockerelli* tested positive to 'Ca. L. solanacearum' in Leon Guanajuato, Nuevo Leon, Coahuila, Michoacan, Hidalgo and Puebla in this study, which indicates that the disease has been present in these areas for decades, with the possibility of having dispersed to other regions and crops, which is supported by the rest of the positive populations collected in the states of Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Durango, Nayarit and San Luis Potosi; Where there is no previous report of the bacterium or disease presence. In 2004 Secor *et al.* documented potato purple tip in Saltillo, Coahuila potato growing region, and the etiological agent was determined in 2007 by Munyaneza *et al.*, who also associated this disease with the presence of the vector, including Nuevo Leon state. Rubio *et al.* (2011) also detected Lso in the potato growing region of Toluca, where they also documented the presence of the vector. Alike Rojas *et al.*, (2016) who detected Lso haplotypes A and B from Toluca, Mexico in potato and in chili in Yurecuaro, Michoacan.

Lso has been reported in tomato in Michoacan (Hernández, 2009) and Sinaloa (Munyaneza *et al.*, 2009a) states and in bell pepper in Sinaloa (Munyaneza *et al.*, 2009b).

The presence of Lso in the vector populations obtained, according to the host crop and capture site, indicate that both vector and pathogen have the capacity to develop properly in different climatic conditions. Note: that route was performed in habanero pepper in Yucatan state, where the vector was not found and the obtained plant samples was negative to Lso.

The level of technology in the production of crops, generally influences the incidence of pests and diseases. According to the results of this study may both vector and the bacteria are able to adapt to any production system that is accessible. Both vector and pathogen are present in open field, shade marsh, macrotunnel and greenhouse production areas. Population of *B. cockerelli* from Potrero de Vaquerías, Calvillo, Aguascalientes on pepper crop and open field production system tested Lso negative, which was located adjacent to an area of tomato, whose infestation level was found to be considerably higher than pepper, decreasing the possibility that the captured insects carried the bacteria. While the Lso negative population from El Refugio, Durango, on pepper an open field, insect number were limited, decreasing the probability of taking those bacteria carriers. The remaining Lso negative samples were from greenhouses in San Juan Tianguismanalco, Puebla and H. Márquez, Poanas, Durango, pepper and tomato respectively; populations that may have not been in contact with individuals or host carriers of the bacteria.

Conclusion

The presence of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' was detected in populations of *Bactericera cockerelli* from twelve Mexican states. Whose presence, according to the results obtained, is not affected by the host or the degree of technification of the production system. In addition to indicating that it is widely distributed in the main vegetable

producing areas, and possibly throughout the national territory, as well as the vector insect.

Resumen

M. Beltran, E. Cerna, J. C. Delgado, Y. M. Ochoa, J. Landeros, L. A. Aguirre, J. Levy, J. C. Díaz. 2017. Ochoa. 2017. Detección de ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ en poblaciones de *Bactericera cockerelli* en México. Cien. Inv. Agr. *Bactericera cockerelli* es una plaga de importancia económica principalmente en solanáceas, debido a su protagonismo en la trasmisión de ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’. Pocos trabajos se han realizado en México relacionando la presencia de Lso y *B. cockerelli* afectando cultivos de solanáceas. El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de Lso en poblaciones de *B. cockerelli* provenientes de las principales zonas productoras de solanáceas en la república mexicana. Encontrando Lso en varias poblaciones de *B. cockerelli* provenientes de doce estados productores de solanáceas, en diferentes cultivos y sistemas de producción. Al menos una población dio positivo a Lso en todos los estados muestreados. La presencia de Lso en las poblaciones obtenidas, de acuerdo al hospedero y sitio de captura, indican que tanto vector como patógeno tienen la capacidad de desarrollarse adecuadamente en diferentes condiciones climáticas así como en cualquier sistema de producción al cual tengan acceso.

References

Abad, J.A., M. Bandla, R.D. French-Monar, L.W. Liefting, and G.R.G. Clover. 2009. First report of the detection of '*Candidatus Liberibacter*' species in zebra chip disease-infected potato plants in the United States. *Plant Dis.* 93: 108-109.

Alfaro-Fernández, A., M.C. Cebrián, F.J. Villaescusa, A.H. de Mendoza, J.C. Ferrandiz, S. Sanjuan, *et al.* 2012. First report of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in carrot in mainland Spain. *Plant Dis.* 96: 582.

Cadena, H. M.A. 1993. La punta morada de la papa en México: Incidencia y búsqueda de resistencia. *Agrociencia serie Protección Vegetal.* Vol. 4, Num. 2.

Casteel, C.L., A.K. Hansen, L.L. Walling, T.D. Paine. 2012. Manipulation of Plant Defense Responses by the Tomato Psyllid (*Bactericera cockerelli*) and Its Associated Endosymbiont *Candidatus Liberibacter Psyllaurosus*. *PLoS ONE* 7(4): e35191. doi:10.1371/journal.pone.0035191.

Doyle, J.J., and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.

Garzón, T.J.A., C.J.A Garzón, F.S. Velarde, J. A. Marín, V.O.G. Cárdenas. 2005. Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al “permanente del tomate” por el psílido *Bactericera cockerelli* SULC en México. *Entomología Mexicana*, 4:672-674.

Gudmestad, N.C. & Secor G.A. 2007. Zebra Chip: A new disease of potato. *Nebr Potato Eyes.* 19:1-4.

Hansen, A.K., J.T. Trumble, R. Stouthamer, and T.D. Paine. 2008. A new huanglongbing species, "*Candidatus liberibacter psyllaurosus*," found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Appl Environ Microbiol.* 74: 5862-5865. doi: 10.1128/AEM.01268-08 PMID: 18676707

Hernández, D.M.G. 2013. Etiología del variegado del Chile (*Capsicum annuum* L.) en Yurécuaro, Michoacán. Colegio de postgraduados, Campus Montecillos. Tesis de maestría.

Laboratorio Nacional de Referencia Epidemiológica Fitosanitaria (LANREF). 2013. Ficha técnica, Zebra chip- *Candidatus Liberibacter solanacearum*. SENASICA.

Li, W., J.A. Abad, R.D. French-Monar, J. Rascoe, A. Wen, N.C. Gudmestad, G.A. Secor, I-M. Lee, Y. Duan, and L. Levy. 2009. Multiplex realtime PCR for detection, identification and quantification of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ in potato plants with zebra chip. *J. Microbiol. Methods*. 78:59-65.

Liefting, L.W., Z.C. Perez-Egusquiza, G.R.G. Clover, and J.A.D. Anderson. 2008. A new ‘*Candidatus Liberibacter*’ species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Dis*. 92: 1474.

Liefting, L.W., P.W. Southerland, L.I. Ward, K.L. Paice, B.S. Weir, and G.R.G. Clover. 2009. A new “*Candidatus Liberibacter*” species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Dis*. 92:208–214.

Liu, D. & Trumble T.J. 2004. Tomato psyllid behavioral responses to tomato plant lines and interactions of plant lines with insecticides. *J. Econ. Entomol.* 97 (3):1078-1985

Munyaneza, J.E., J.M. Crosslin, J.E. Upton. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: *Psyllidae*) with “zebra chip”, a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology*. 100: 656–663.

Munyaneza, J.E., V.G. Sengoda, T.J.A. Garzón, V.O.G. Cárdenas. 2009a. First Report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in tomato plants in Mexico. *Plant Disease*. 93:10:1076.

Munyaneza, J. E., V.G. Sengoda, T.J.A. Garzón, Cárdenas V. O. G. (2009b). First Report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in pepper plants in Mexico. *Plant Disease*, 93:10:1076.

Munyaneza, J.E., T.W. Fisher, V.G. Sengoda, S.F. Garczynski, A. Nissinen, and A. Lemmetty. 2010. First report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" associated with psyllid-affected carrots in Europe. *Plant Dis*. 94: 639.

Nachappa, P., J. Levy, C. Tamborindegy. 2012. Transcriptome analyses of *Bactericera cockerelli* adults in response to "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" infection. *Mol. Genet. Genomics*. 287:803–817.

Pletsch, D.J. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc) its biology and control. *Mont. Ag. Exp. Stn. Bull*. 446.

Ravindran, A., J. Levy, E. Pierson, and D.C. Gross. 2011. Development of primers for improved PCR detection of the potato zebra chip pathogen, '*Candidatus Liberibacter solanacearum*'. *Plant Dis*. 95:1542-1546.

Rubio, C., L. Almeyda, H. Cadena, and S. Lobato. 2011. Relation between *Bactericera cockerelli* and presence of *Candidatus Liberibacter psyllauros* in commercial fields of potato. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2(1): 17-28.

Rojas, R.I., M. Camacho, E. Zavaleta, and J. Levy. 2016. First report of the presence of haplotypes A and B of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in chili (*Capsicum annum* L.) in the central región of México. *Revista di patología vegetale*. 98:1.

Sengoda, V.G., W.R. Cooper, K.D. Swisher, D.C. Henne, and J.E. Munyaneza. 2014. Latent period and transmission of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" by the potato psyllid *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *PLoS One*. 9: e93475. Doi: 10.1371/journal.pone.0093475 PMID: 24682175.

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (SINAVEF). 2012. Ficha técnica zebra chip *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Dirección General de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. México, DF. 24p.

Tamborindeguy, C., O.B. Hout, F. Ibanez and J. Levy. 2017. The influence of bacteria on multitrophic interactions among plants, psyllids, and pathogen. *Insect science*. 00, 1-14. DOI 10.1111/1744-7917.12474.

Teresani, G.R., Bertolini E., A. Alfaro-Fernández, C. Martõáñez, F.A.O. Tanaka, E.W. Kitajima, and *et al.* 2014. Association of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' with a vegetative disorder of celery in Spain and development of a real-time PCR method for its detection. *Phytopathology*. 104: 804±811. doi: 10.1094/ PHYTO-07-13-0182-R PMID: 24502203.

Torres, G.L., W.R. Cooper, D.R. Horton, K.D. Swisher, S.F. Garczynski, J.E. Munyaneza, *et al.* 2015. Horizontal Transmission of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" by *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) on *Convolvulus* and

Ipomoea (Solanales: Convolvulaceae). PLoS ONE 10(11):e0142734.
doi:10.1371/journal.pone.0142734.

Velásquez, V.R., T.L. Reveles. 2015. Infestación natural de *Bactericera cockerelli* Sulc.

En colectas de chile para secado ancho y mirasol en Zacatecas, México. AGROFAZ. 15:1.

Table 1. Collection sites of *B. cockerelli*, hosts, production systems and detection of Lso with 16/23 F/Lso TX 16/23 R and Lso F/O12cTX.

Sample	Location	State	Host	Production system	'Ca. solanacearum'	L.
1	Pinos	Zacatecas	Tomato	Greenhouse	Positive	
2	El Taray	Aguascalientes	Pepper	Open field	Positive	
3	Villa Hidalgo	Jalisco	Tomato	Open field	Positive	
4	Villa Hidalgo	Jalisco	Pepper	Open field	Positive	
5	Calvillo	Aguascalientes	Pepper	Open field	Negative	
6	Calvillo	Aguascalientes	Tomato	Open field	Positive	
7	Calvillo	Aguascalientes	Pepper	Open field	Positive	
8	León	Guanajuato	Pepper	Open field	Positive	
9	San Fco. del Rincón	Guanajuato	Potato	Open field	Positive	
10	León	Guanajuato	Pepper, tomato	Open field	Positive	
11	Ciudad Guzmán	Jalisco	Tomato	Greenhouse	Positive ^b	
12	San Agustín Metzquititlan	Hidalgo	Pepper	Open field	Positive	
13	San Cristóbal	Hidalgo	Pepper	Open field	Positive	
14	Tlaola	Puebla	Pepper	Open field	Positive	
15	Tianguismanalco	Puebla	Pepper	Greenhouse	Negative	
16	Tianguismanalco	Puebla	Pepper	Open field	Positive ^a	
17	Villa de Arista	S.L.P	Pepper	Open field	Positive	
18	Bocas	S.L.P	Tomato	Open field	Positive	
19	Moctezuma	S.L.P	Pepper	Macro-tunnel	Positive ^b	
20	Villa de Cos	Zacatecas	Pepper, tomato	Open field	Positive	
21	Fresnillo	Zacatecas	Potato	Open field	Positive ^b	
22	Calera de V. R.	Zacatecas	Tomato	Open field	Positive	
23	Sta. María del Oro	Nayarit	Pepper, tomato	Greenhouse	Positive	
24	San Rafael	Nuevo León	Potato	Open field	Positive	
25	Navidad	Nuevo León	Potato	Open field	Positive	
26	San Rafael	Nuevo León	Tomato	Screen mesh	Positive	
27	Poanas	Durango	Pepper	Open field	Positive	

28	Poanas	Durango	Pepper	Open field	Positive ^a
29	Poanas	Durango	Tomato	Greenhouse	Negative
30	Durango	Durango	Pepper	Open field	Negative
31	Charapan	Michoacán	Tomato	Open field	Positive
32	Saltillo	Coahuila	Tomato	Greenhouse	Positive

a: Tested positive only whit Lso TX 16/23 F /Lso TX 16/23 R primers

b: Tested positive only whit Lso F/O12c primers

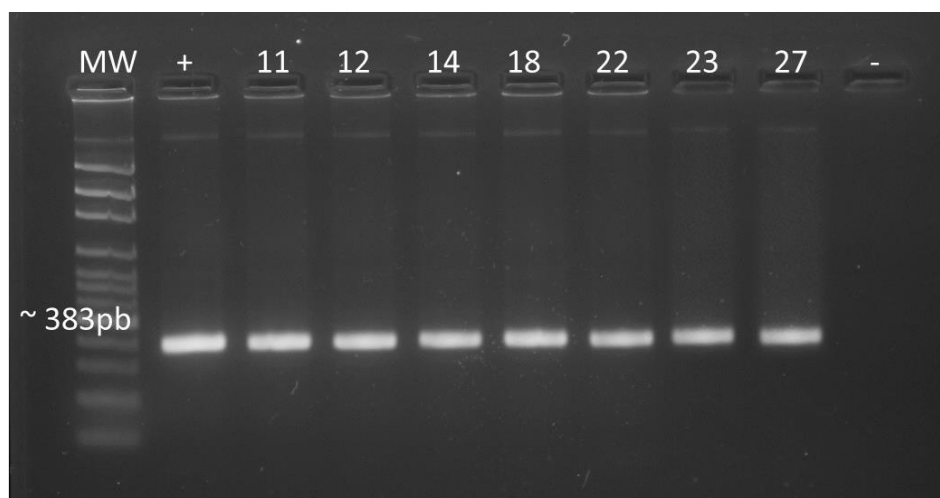


Figure 1. PCR products from initiators Lso TX 16/23 F/Lso TX 16/23 R, showing the results of populations: 11, 12, 14, 18, 22, 23 and 27 from Jalisco, Hidalgo, Puebla, S.L.P., Zacatecas, Nayarit and Durango respectively. Molecular weight 100bp.

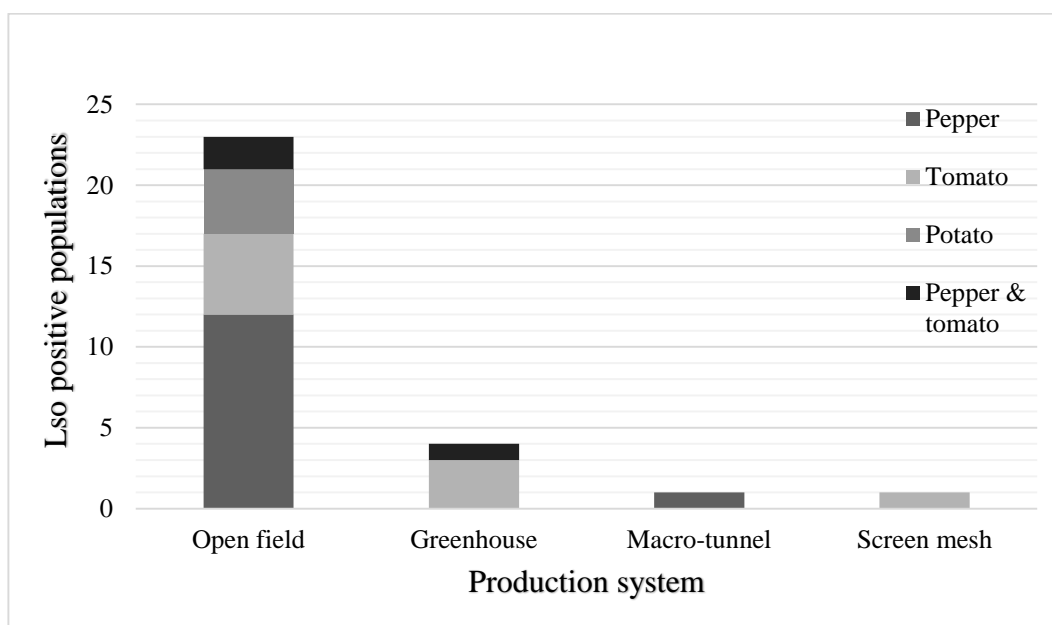


Figure 2. Lso positive populations in relation to production system and crop.

Artículo 2

New Haplotype of *Bactericera cockerelli* Šulc, 1990 (Hemiptera: Triozidae) in México

Ernesto Cerna Chavez¹, Mariana Beltran Beache¹, Juan Carlos Delgado Ortiz¹, Yisa María Ochoa Fuentes¹, Jerónimo Landeros Flores¹, Luis Alberto Aguirre Uribe¹, Julien G. Levy², Juan Carlos Díaz Pérez³.

1 Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. ZC. 25315.

2 Department of Plant Pathology and Microbiology, Texas A&M University, College Station 77843.

3 Department of Horticulture, The University of Georgia, 2360 Rainwater Road, Tifton GA 31793-5766.

Cita del trabajo: Cerna, C. E, Beltran B. M., Delgado, O. J. C., Ochoa F. Y. M., Levy, J., and Díaz, P. J. C. New Haplotype of *Bactericera cockerelli* Šulc, 1990 (Hemiptera: Triozidae) in México. [Nuevo haplotipo de *Bactericera cockerelli* Šulc, 1990 (Hemiptera: Triozidae) en México.

Titulo corto: *B. cockerelli* haplotipo MXH1.

New Haplotype of *Bactericera cockerelli* Šulc, 1990 (Hemiptera: Triozidae) in México

ABSTRACT. *Bactericera cockerelli* is an important pest in solanaceae crops and vector of 'Candidatus Liberibacter solanacearum'. In order to learn about the haplotype based in genetic variation using COI mitochondrial gene of *B. cockerelli* from two populations in Mexico, adult insects of *B. cockerelli* were collected from commercial greenhouses in Villa Union, Durango and Saltillo, Coahuila, Mexico, and a section of 500pb from COI gene was amplified and sequenced. All the sequences obtained differed from the haplotypes described at base number 247 of the amplification, where the change involves the replacement of one adenine (A) by a Guanine (G), show the presence of a new haplotype that has been named Haplotype 1 Mexico (MXH1).

Key words. Haplotype, MXH1, COI.

RESUMEN. *Bactericera cockerelli* es una plaga de importancia agrícola en cultivos de solanáceas y principal vector de 'Candidatus Liberibacter solanacearum'. Con el fin de conocer la variación genética basada en haplotipos utilizando el gen mitocondrial COI de *B. cockerelli* de dos poblaciones en México, se colectaron insectos adultos en invernaderos comerciales en Villa Union, Durango y Saltillo, Coahuila, México. Una sección de 500 pb correspondientes al gen COI fue amplificada y secuenciada. Las secuencias obtenidas difieren de los haplotipos descritos en trabajos previos en la base número 247 del amplificado, donde el cambio implica la sustitución de una adenina (A) por una Guanina (G), indicando la presencia de un nuevo haplotipo el cual ha sido denominado Haplotipo 1 México (MXH1).

Bactericera cockerelli (Šulc, 1909) is a pest of economic importance in solanaceae crops, mainly in potato (*Solanum tuberosum* L.) and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) (Munyanza, 2010), due to the yellowing caused by feeding on those crops; but specially due to the transmission of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' (Munyanza *et al.* 2007, Liefting *et al.* 2009), a negative-Gram bacterium limited to the phloem (Munyanza *et al.* 2007; Secor *et al.* 2009) and a putative agent causing zebra chip and tomato permanent yellowing diseases (Munyanza *et al.* 2009, 2010; Croslin *et al.* 2011).

Genetic variability studies among *B. cockerelli* populations have revealed the presence of two biotypes called Western (California South East) and Central (Colorado and Nebraska) in USA (Liu *et al.* 2006); while in Mexico the genetic differences are described according to ISSR, in the populations of Northeast (Sinaloa), Southwest (Michoacán) and Southeast (Oaxaca) (López *et al.* 2013). In order to better understand the temporary and spatial population dynamic of *B. cockerelli*, genetic studies of single individuals were used to identify different populations or haplotypes (Swisher *et al.* 2012). The determination of *B. cockerelli* haplotypes according to simple nucleotide polymorphism (SNP) of COI mitochondrial gen, has led to the determination of four haplotypes: Western, Central, Northwestern and Southwestern in different geographical regions (Swisher *et al.* 2012, 2013a, 2014). Central haplotype has been found initially at East Mexico, through Texas, Kansas, Colorado, Nebraska, Wyoming, and North Dakota, until reaching Latin America, including Mexico, El Salvador, Nicaragua and Honduras (Liu *et al.* 2006; Swisher *et al.* 2012, 2013a,b). Western haplotype was found in California, New Mexico, Washington, Oregon and Idaho (Swisher *et al.* 2012, 2013a). Northwestern haplotype was found in Washington, Oregon and Idaho (Swisher *et al.* 2012, 2013a), and the Southwestern haplotype was found in the states of New Mexico and Colorado (Swisher *et al.* 2014). Previous studies (Swisher *et al.* 2013b) have identified the presence of Central haplotype in the states of Toluca, Queretaro and Sinaloa, Mexico. The purpose of this research work is to learn about haplotype-based genetic variation, by analyzing COI mitochondrial gene of *B. cockerelli* in two populations from Mexico.

Adult insects of *B. cockerelli* were collected from commercial greenhouses at Villa Union, Durango and Saltillo, Coahuila, Mexico. DNA was extracted from five insects individually, using the technique described by Doyle & Doyle (1990). Initiators CO1 F3 (‘5-TACGCCATACTAGCAATCGG-3’) and CO1 R3 (‘5-GAGTAACGTCGTGGTATTCC-3’) were used to amplify a region of 500bp from mitochondrial gene Cytochrome C Oxidase subunit I (GenBank EF372597) (Liu *et al.* 2006; Swisher *et al.* 2012). 4µL of Taq&Go^T Mastermix (MP

Biomedicals), 0.5µL of each initiator at 10µM and 1µL of DNA were used in the PCR reaction. The reaction schedule was: an initial temperature of 98°C for 30s, followed by 35 cycles of 98°C for 10s, 56°C for 20s (mean alignment temperature) and 72°C for 30s, followed by a final extension at 72°C for 7min, in Axygene's MaxyGene thermo cycler. The resulting products were verified in 2% agarose gel mixed with a Gel Red-loaded buffer (Gen Script). The amplifications were sequenced in both senses (Macrogen, USA) and the sequences obtained were analyzed in BLAST (NCBI), by comparing them with the already reported *B. cockerelli* haplotypes. Both populations were established in entomological cages and repeat the process with 20 individuals from each population, obtaining the same result as in the initial identification.

All the sequences obtained differed from the described haplotypes in base number 247 of the 500bp amplification, from a portion of COI mitochondrial gene of *B. cockerelli*, whose change involves the presence of a new haplotype, designated Haplotype 1 Mexico (MXH1) (GenBank Accession number KX130767). This new haplotype differs in 2 SNPs (simple nucleotide polymorphism with Western haplotype in positions 51 and 247; differs in SNP with Central haplotype in position 247; and differs in 18 SNPs with Northwestern haplotype and 3 with Southwestern haplotype (Fig. 1). Among the four existing haplotypes, only one SNP varies among Western and Central haplotypes; while in 16 and 17 SNPs of Northwestern haplotype vary from Central and Western haplotypes respectively (Swisher *et al.* 2012). Southwestern haplotype has two SNPs that are absent from the rest of the haplotypes (Swisher *et al.* 2014). It should be mentioned that this is the first research work that identifies a new variation genetic based on SNPs of *B. cockerelli* in Mexico, because only the presence of the central haplotype had been reported (Swisher *et al.* 2013b), such haplotype was also found in this research work (data not show).

MXH1	(1)	TACGCCATACTAGCAATCGGAATCTAGGATTCATTGTTGAGCACATCA
Western	(1)
Central	(1)
Northwestern	(1)C.....
Southwestern	(1)
MXH1	(51)	TATATTTACAGTAGGTATAGATGTTGATTCTCGTGCCTATTTCACTTCGG
Western	(51)	C.....
Central	(51)

Northwestern	(51)T.
Southwestern	(51)G.....
MXH1	(101)	CAACTATAATTATTGCTGTCCCTACAGGAATTAATAATTTTGTAGTTGATTA
Western	(101)
Central	(101)
Northwestern	(101)
Southwestern	(101)
MXH1	(151)	GCAACTATTTATGGGATAAAAAATATATTTTTCTCCAAGTATTATTGATC
Western	(151)
Central	(151)
Northwestern	(151)T.....C.....C.....
Southwestern	(151)
MXH1	(201)	TCTAGGATTCATTTTCTGTTTACACTGGGAGGTTTAAACAGGTGTAGTTT
Western	(201)A.....
Central	(201)A.....
Northwestern	(201)A.....TA.....
Southwestern	(201)A.....
MXH1	(251)	TAGCAAATTCCTCAATTGACATTATTTTACATGACACATACTATGTAGTA
Western	(251)
Central	(251)
Northwestern	(251)T.....G.....T.....T.....
Southwestern	(251)
MXH1	(301)	GCACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTGCAATTATTGC
Western	(301)
Central	(301)
Northwestern	(301)C.....T.....
Southwestern	(301)G.....
MXH1	(351)	TAGATTTATTAATTGATACCCTTTAATAACAGGAGTAATTATAAATAAAA
Western	(351)
Central	(351)
Northwestern	(351)C.....
Southwestern	(351)
MXH1	(401)	CTTTATTAATAACACAATTATTAGTACTTTTATTGGTGTTAACCTTACT
Western	(401)
Central	(401)
Northwestern	(401)	T.....
Southwestern	(401)
MXH1	(451)	TTTTTCCCCAACATTTCTTAGGACTCATAGGAATACCACGACGTTACTC
Western	(451)
Central	(451)
Northwestern	(451)G..T.....
Southwestern	(451)

Fig.1. Comparison of DNA sequence from a 500pb portion of COI gene from *Bactericera cockerelli*, identifying the new MXH1 haplotype. Comparison against four previously reported haplotypes: Central, Western, Northwestern and Southwestern shows that haplotype MXH1 contains a new SNP (**G**) that is absent in the other four haplotypes.

This new haplotype (MXH1) tested negative to Lso presence by PCR's detection technique (data not shown); and this trait is shared by Southwestern haplotype, which is not reported either as

Lso's carrier (Swisher *et al.* 2014). Both populations came from greenhouses, which might be related to the absence of the bacterium and the fact that this haplotype has not been reported in previous research works, especially in the research works done at Saltillo, Coahuila.

The results of this research work show a broader outlook of genetic variations among *B. cockerelli* populations, as well as the feasibility of the population's dynamic and the biology of available haplotypes; as well as the haplotypes that are not yet discovered and can provide strategies for their management and for controlling the diseases transmitted by them, in particular Lso.

CITED LITERATURE

Crosslin, J. M., Lin, H. & Munyaneza, J. E. 2011. Detection of *Candidatus Liberibacter solanacearum* in the potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc), by conventional and real-time PCR. *Southwestern Entomologist*. 36: 125-135.

Doyle, J.J. & Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.

Hansen, A. K., Trumble J. T., Stouthamer R. & Paine T. D. 2008. A new Huanglongbing species, “*Candidatus Liberibacter psyllauros*,” found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Appl. Environmental Microbiology*. 74: 5862-5865.

Liefting, L. W., Sutherland, P. W., Ward, L. I., Paice, K. L., Weir, B. S. & Clover, G. R. G. 2009. A new ‘*Candidatus Liberibacter*’ species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease*. 93: 208–214.

Liu, D., Trumble, J. T. and Stouthamer R. 2006. Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western North America. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 118: 177-183.

- López, B., Favela, S., Ponce, G., Foroughbakhch, R. & Flores, A. 2013. Genetic Variation in *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) From Mexico. *Journal of Economic Entomology*. 106(2): 1004-1010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/EC12258>.
- Munyanza, J. E. 2010. Psyllids as vectors of emerging bacterial diseases of annual crops. *Southwestern Entomologist*. 35: 417-477.
- Munyanza, J. E., Sengoda V. G., Garzón T. J. A., & Cárdenas V. O. G. 2009. First Report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in tomato plants in Mexico. *Plant Disease*. 93:10:1076.
- Munyanza, J.E., Crosslin J.M. & Upton J. E. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip", a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology*. 100: 656–663.
- Secor, G. A., Rivera, V. V., Abad, J. A., Lee, I. M., Clover, G.R.G., Liefting, L. W., Li, X. & De Boer, S. H. 2009. Association of *Candidatus Liberibacter solanacearum* with zebra chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy, and PCR. *Plant Disease*. 93: 574-583.
- Swisher, K. D., Arp, A. P., Bextine, B. R., Aguilar, E. Y., Crosslin, J. M. & Munyanza, J. E. 2013b. Haplotyping the Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli*, in Mexico and Central America. *Southwestern Entomologist*, 38(2):201-208. DOI: <http://dx.doi.org/10.3958/059.038.0205>
- Swisher, K. D., Henne, D. C. & Crosslin J. M. 2014. Identification of a Fourth Haplotype of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in the United States. *Insect Science*. 14(161). DOI: 10.1093/jisesa/ieu023.
- Swisher, K. D., Munyanza, J. E. & Crosslin, J. M. 2012. High Resolution Melting Analysis of the Cytochrome Oxidase I Gene Identifies Three Haplotypes of the Potato Psyllid in the United States. *Environmental Entomology*. 41(4): 1019-1028. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/EN12066>.

Swisher, K. D., Munyaneza, J. E. & Crosslin, J. M. 2013a. Temporal analysis of potato psyllid haplotypes in the United States. *Environmental Entomology*. 42: 381–393.

Artículo 3

Variabilidad morfológica y genética entre poblaciones de *Bactericera cockerelli* en México

Ernesto Cerna Chavez¹, Mariana Beltran Beache¹, Juan Carlos Delgado Ortiz¹, Yisa María Ochoa Fuentes¹, Jerónimo Landeros Flores¹, Luis Alberto Aguirre Uribe¹, Julien G. Levy², Juan Carlos Díaz Pérez³.

1 Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP 25315.

2 Department of Plant Pathology and Microbiology, Texas A&M University, College Station 77843.

3 Department of Horticulture, The University of Georgia. 2360 Rainwater Road, Tifton GA 31793-5766.

RESUMEN

Bactericera cockerelli conocido también como salerillo, pulgón saltador o psilido de la papa, es una plaga de importancia económica que afecta principalmente cultivos de solanáceas en México, Estados Unidos y Nueva Zelanda. Su importancia radica en los daños directo de tipo toxinífero y daño indirecto por la transmisión de procariontes como *Candidatus Liberibacter solanacearum*. La distribución de *B. cockerelli* en México es muy amplia y diversos ejemplares han sido colectados en varias zonas de importancia agrícola sin existir registro acerca de sus características morfológicas y genéticas, por lo cual el objetivo del trabajo fue analizar individuos de *B. cockerelli*, de diferentes zonas agrícolas, para obtener su caracterización morfológica y genética. Durante 2015 y 2016 se realizaron colectas de adultos de *B. cockerelli* en diversos estados de la República Mexicana; se analizaron un promedio de 36 adultos al azar de cada

población para determinar sus dimensiones externas. Se extrajo ADN de forma individual de los insectos medidos, utilizando los iniciadores CO1F3/CO1R3. Basado en la similitud de los parámetros como: largo de ala, ancho de ala, longitud de antenas, largo de abdomen, ancho de abdomen y longitud del cuerpo; se lograron segregar en seis grupos las poblaciones de *B. cockerelli*, destacando las poblaciones del estado de Aguascalientes. En relación al amplicón del gen COI se pudo determinar la presencia del haplotipo Central en dichas poblaciones.

PALABRAS CLAVE

B. cockerelli, Haplotipos, Morfometría

INTRODUCCIÓN

Bactericera cockerelli (Šulc, 1909) (Hemiptera: Triozidae), conocido también como salerillo, pulgón saltador o psilido de la papa, es una plaga de importancia económica en México, Estados Unidos y Nueva Zelanda (Munyanza, 2010). Su importancia radica en los daños generados, que son de dos tipos: daño directo de tipo toxinífero y daño indirecto por la transmisión de procariontes (Ramírez et al., 2012), como *Candidatus Liberibacter solanacearum*, patógeno de importancia económica en cultivos de solanáceas en México, Honduras, Guatemala, Belice, Estados Unidos, Nueva Zelanda, Europa, Noruega y Suecia (Munyanza, 2013; Gross et al., 2014), capaz de provocar pérdidas totales en los cultivos donde se presenta (Munyanza et al., 2012a, b).

Estudios sobre la variabilidad genética entre poblaciones de *B. cockerelli* han revelado biotipos separados que coinciden con la separación geográfica de las poblaciones analizadas (Liu et al., 2005, Jackson et al., 2009). Los biotipos de insectos reconocen cierta variación entre poblaciones de la misma especie que pueden incluir variación morfológica y la capacidad de sobrevivir, reproducirse o

causar enfermedades en diferentes plantas (Shufran y Payton 2009). La comparación de los psílicos obtenidos de los Estados Unidos Occidental (Sur de California) y Central (Colorado y Nebraska) en 2003 sugirió que estos psílicos constituyen dos biotipos diferentes de la misma especie, los biotipos Occidental y Central (Liu et al. 2005).

Con el propósito de entender la dinámica poblacional temporal y espacial de *B. cockerelli* se han utilizado análisis genéticos de un solo individuo para identificar diferentes poblaciones o haplotipos en base al análisis de polimorfismos de nucleótido simple o SNP (Single Nucleotide Polymorphism) (Swisher et al. 2012), definiendo un haplotipo como una única forma genética que difiere de cualquier otra forma por variaciones en las posiciones individuales (al menos en un nucleótido) en una secuencia de ADN (Templeton, 2006), donde específicamente, se han descrito cuatro haplotipos; Western, Central, Northwestern y Southwestern en Norte y Centro América (Swisher et al. 2012, 2013, 2014).

La distribución de *B. cockerelli* en México es muy amplia y diversos ejemplares han sido colectados en varias zonas de importancia agrícola; como Durango, Tamaulipas, D.F y Michoacán (Pletsch, 1947), La región del Bajío y Valle de Arista en S.L.P. y la Comarca Lagunera; también se tiene registro de la presencia de esta plaga en el estado de Morelos, Coahuila y Chihuahua, así como Nayarit, Jalisco, Baja California y Sinaloa (Nava et al., 2002), sin existir registro acerca de sus características morfológicas y genéticas, por lo cual el objetivo del trabajo fue analizar individuos de *B. cockerelli*, de diferentes zonas, para obtener su caracterización morfológica y genética.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante 2015 y 2016 se realizaron colectas de adultos de *B. cockerelli* en poblaciones de los estados de Aguascalientes, Jalisco, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Michoacán, Zacatecas, Nuevo León, Coahuila, Nayarit, San Luis Potosí (S.L.P.) y Tamaulipas, México, obteniendo un total de 35 poblaciones

de diferentes hospederos, pertenecientes a la familia de las solanaceas (Tabla 1). Los insectos se recolectaron en con ayuda de un aspirador manual y se conservaron en etanol al 70%, para su traslado a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila.

Tabla 1. Sitios de muestreo de poblaciones de *B. cockerelli*.

Población	Localidad	Estado	Hospedero
1	Ojocaliente	Zacatecas	Tomate
2	½ Kilo	Aguascalientes	Berenjena
3	La finca de Adobe, El Taray	Aguascalientes	Chile
4	Los Laureles, Villa Hidalgo	Jalisco	Tomate
5	El Reparito, Villa Hidalgo	Jalisco	Chile
6	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Aguascalientes	Chile
7	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Aguascalientes	Tomate
8	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Aguascalientes	Chile
9	Rcho. Nuevo de la Luz, León	Guanajuato	Chile
10	San Fco. del Rincón	Guanajuato	Papa
11	Rcho. Nuevo de la Luz, León	Guanajuato	Chile y Tomate
12	Ciudad Guzmán	Jalisco	Tomate
13	San Agustín Metzquitlan	Hidalgo	Chile
14	San Cristóbal	Hidalgo	Chile
15	La gallera, Tlaola	Puebla	Chile
16	San Juan Tianguismanalco	Puebla	Chile
17	San Juan Tianguismanalco	Puebla	Chile
18	La víbora, Villa de Arista	S.L.P.	Chile
19	Bocas	S.L.P.	Chile
20	Santa Fe, Moctezuma	S.L.P.	Chile y Tomate
21	Campechana, Villa de Cos	Zacatecas	Chile y Tomate
22	Las Catarinas, Fresnillo	Zacatecas	Papa
23	La Laborcilla, Calera de V. R.	Zacatecas	Tomate
24	Sta. María del Oro	Nayarit	Tomate
25	San Rafael	Nuevo León	Papa
26	Navidad	Nuevo León	Papa
27	San Rafael	Nuevo León	Tomate
28	Labor de Abajo, Poanas	Durango	Chile
29	La Borrega, Poanas	Durango	Chile

30	H. Márquez, Poanas	Durango	Tomate
31	El Refugio, Durango	Durango	Chile
32	Cocucho, Charapan	Michoacán	Tomate
33	Saltillo	Coahuila	Tomate
34	Hidalgo	Tamaulipas	Chile
35	Tecamachalco	Puebla	Tomate

Caracterización morfométrica

Se analizaron un promedio de 36 adultos (Hernández, 2013) al azar de cada población para determinar sus dimensiones externas, tomando medidas del largo de ala (LA), ancho de ala (AA), longitud de antenas (LAN), largo de abdomen (LAB), ancho de abdomen (AAB) y longitud del cuerpo (LC). Con el programa Dino-Capture 2.0 en un microscopio Motic®.

Los insectos conservados en etanol 70% se transfirieron a una mezcla de glicerol al 90%, para posteriormente realizar montajes en un estereoscopio Motic® exponiendo las partes del insecto y eliminando el exceso de glicerol, para la toma de medidas. Los datos obtenidos se analizaron con el programa R Studio versión 1.0.143.

Caracterización genética

Se extrajo ADN de forma individual de los insectos medidos, empleando la técnica descrita por Doyle & Doyle, (1990) modificada. Utilizando los iniciadores CO1 F3 ('5-TACGCCATACTAGCAATCGG-3') y CO1 R3 ('5-GAGTAACGTCGTGGTATTCC-3'), que amplifican una región de 500pb del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa subunidad I (GenBank EF372597) (Swisher *et al.*, 2012) mediante PCR de punto final; en la reacción de PCR se emplearon 4µL de Taq&Go^T Mastermix (MP Biomedicals), 0.5µL de cada iniciador a 10µM y 1µL de ADN. El programa de reacción fue una temperatura inicial de 98°C durante 30s, seguida por 35 ciclos de 98°C por 10s, 56°C por 20 s, como temperatura media de alineación y 72°C por 30s, seguidos de una extensión final de 72°C durante 7min, en un termociclador MaxyGene de la marca Axygene. Los productos obtenidos se verificaron en un gel de agarosa 2% empleando como fluorógeno buffer de carga-Gel Red (Gen Script). Los amplificados generados se

secuenciaron en ambos sentidos (Macrogene, USA); las secuencias obtenidas se alinearon con el programa Bio Edit y se compararon en el programa BLAST (NCBI) con los haplotipos de *B. cockerelli* disponibles.

Con las secuencias obtenidas se elaboró un árbol filogenético en el programa MEGA 7 con un BOOTSTRAP 1000, bajo el método de Neighbor-joining. Incluyendo la secuencia reportada por Cerna *et al.* (en prensa) del haplotipo MXH1, GenBank número de acceso KX130767.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfometría

Se analizó un total de 28 poblaciones de las cuales se obtuvieron dimensiones corporales del largo de ala (LA), ancho de ala (AA), longitud de antenas (LAN), largo de abdomen (LAB), ancho de abdomen (AAB) y longitud del cuerpo (LC) en mm. Las poblaciones 1, 21, 24, 25, 29,31 y 33 no se incluyeron en el análisis al no contar con adultos para la toma de datos.

Tabla 2. Morfometría (mm±std) de caracteres de *Bactericera cockerelli* por población.

Población	Variable ^a					
	LC	LAB	AAB	LA	AA	LAN
2	2.028±0.163 a	1.024±0.108 a	0.672±0.082 ab	2.630±0.066 a	1.010±0.039 abc	0.873±0.093 bcd
3	1.969±0.097 abc	0.977±0.042 ab	0.682±0.060 ab	2.649±0.105 a	1.002±0.034 abcd	0.879±0.056 bcd
4	1.926±0.121 abc	0.911±0.108 b	0.586±0.089 bc	2.578±0.096 ab	1.011±0.046 abc	0.886±0.053 bc
5	1.754±0.108 cd	0.820±0.104 b	0.550±0.054 bc	2.583±0.103 ab	0.989±0.038 bcd	0.890±0.078 b
6	1.989±0.114 ab	0.949±0.088 ab	0.683±0.074 a	2.639±0.197 a	1.073±0.119 ab	0.881±0.102 bc
7	1.995±0.115 ab	0.962±0.090 ab	0.592±0.061 bc	2.579±0.111 ab	1.001±0.046 abcd	0.863±0.087 bcd
8	1.867±0.246 c	0.909±0.092 b	0.683±0.334 a	2.487±0.296 abc	1.093±0.380 a	0.817±0.124 bcd
9	1.943±0.124 abc	0.932±0.090 b	0.613±0.066 abc	2.524±0.179 abc	1.004±0.121 abcd	0.843±0.064 bcd
10	1.833±0.135 c	0.897±0.107 b	0.597±0.085 bc	2.376±0.136 abc	0.932±0.053 cd	0.797±0.090 bcd
11	1.796±0.101 cd	0.873±0.081 b	0.562±0.070 bc	2.341±0.153 c	0.933±0.127 cd	0.795±0.054 bcd
12	1.737±0.125 cd	0.798±0.127 bc	0.542±0.101 bc	2.378±0.074 abc	0.898±0.039 cd	0.818±0.061 bcd
13	1.701±0.101 cd	0.813±0.072 b	0.574±0.063 bc	2.325±0.078 c	0.907±0.038 cd	0.781±0.063 bcd
14	1.785±0.103 cd	0.867±0.099 b	0.539±0.067 bc	2.285±0.089 c	0.865±0.037 d	0.739±0.077 cd
15	1.485±0.061 d	0.566±0.013 c	0.481±0.042 bc	2.332±0.097 c	0.905±0.040 cd	0.747±0.047 bcd

16	1.839±0.089c	0.899±0.079 b	0.570±0.071 bc	2.434±0.091 abc	0.934±0.036 cd	0.925±0.627 b
17	1.793±0.099 cd	0.855±0.097 b	0.552±0.059 bc	2.346±0.093 bc	0.899±0.044 cd	0.806±0.062 bcd
18	1.759±0.109 cd	0.848±0.100 b	0.577±0.084 bc	2.349±0.082 bc	0.897±0.036 cd	0.803±0.056 bcd
19	1.829±0.110 c	0.882±0.076 b	0.562±0.086 bc	2.397±0.086 abc	0.916±0.043 cd	0.726±0.076 d
20	1.792±0.119 cd	0.822±0.081 b	0.540±0.089 bc	2.400±0.163 abc	0.961±0.123 cd	0.704±0.098 d
22	1.962±0.090 abc	0.916±0.082 b	0.611±0.091 abc	2.609±0.071 ab	1.019±0.038 abc	0.725±0.091 d
23	1.919±0.114 abc	0.884±0.098 b	0.604±0.084 abc	2.559±0.108 abc	0.984±0.052 bcd	1.771±0.074 a
26	1.966±0.115 abc	0.939±0.089 ab	0.642±0.070 ab	2.596±0.137 ab	0.995±0.077 abcd	1.796±0.106 a
27	1.790±0.291 cd	0.793±0.220 bc	0.547±0.050 bc	2.610±0.060 ab	1.004±0.033 abcd	0.752±0.079 bcd
28	1.942±0.197 abc	0.950±0.205 ab	0.629±0.140 abc	2.362±0.151 abc	0.876±0.028 cd	0.695±0.167 d
30	1.799±0.221 cd	0.809±0.134 bc	0.549±0.138 bc	2.577±0.100 abc	1.009±0.058 abcd	0.829±0.029 bcd
32	1.870±0.178 bc	0.851±0.142 b	0.599±0.096 abc	2.569±0.092 abc	0.990±0.054 abcd	0.770±0.108 bcd
34	1.448±0.121 d	0.579±0.083 c	0.409±0.033 c	2.289±0.083 c	0.871±0.041 d	0.721±0.080 d
35	1.840±0.163 c	0.816±0.111 b	0.508±0.087 bc	2.467±0.111 abc	0.944±0.049 cd	0.728±0.127 d

^a Variable con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

La población que presento mayor LC corresponde a la población 2 capturada en Aguascalientes en cultivo de berenjena, presentando también mayor proporción en el LAB y compartiendo similitud en la LA con la población 3, también proveniente del estado de Aguascalientes en el cultivo de chile. Los demás caracteres no muestran diferencia estadística con el resto de las poblaciones. La población con menores dimensiones corporales fue la 34, recolectada de chile en Tamaulipas. (Tabla 2).

Estadísticamente, la mayoría de las poblaciones comparten características morfométricas similares, aunque en base a éstas, se pueden destacar seis grupos principales (Figura 1): el primero integrado por las poblaciones 2, 3, 6, 7 y 8 de Aguascalientes, la 4 de Jalisco, la 9 de Guanajuato, la 22 de Zacatecas y la 32 de Michoacán, como las que presentan mayor tamaño de los caracteres evaluados, a excepción de LAN. En este grupo se encuentran todos los hospederos muestreados; en el segundo grupo las poblaciones 10 y 11 de Guanajuato, 12 de Jalisco, 13 y 14 de Hidalgo, 16, 17 y 35 de Puebla, 18, 19 y 20 de S.L.P. que muestran menor tamaño que el grupo uno, pero manteniendo relación de proporciones entre las variables evaluadas. Dentro del grupo dos se encuentran papa, chile y/o tomate, pero la mayoría de éstas en chile; el grupo tres formado por la población 5 de Jalisco en chile y las 27 y 30 de Nuevo León y Durango respectivamente, ambas en cultivo de tomate, que presentan menor

tamaño respecto caracteres corporales, pero las extremidades (LA, AA y LAN) más grandes; el grupo cuatro con las poblaciones 23 de Zacatecas en tomate y 26 de Nuevo León en papa, comparten proporciones con el grupo uno, pero destaca LAN, cuya media es igual o mayor a LC de algunas poblaciones; el grupo cinco donde solo se ubica la población 28 del estado de Durango en chile, cuyas características son inversamente proporcionales al grupo cuatro; por último el grupo seis con las poblaciones 15 y 34 de Puebla y Tamaulipas, ambas de chile, siendo los insectos más pequeños en todos los caracteres evaluados en este estudio.

La ubicación geográfica no se observa como una determinante en el tamaño corporal de las poblaciones evaluadas, ya que dentro del mismo estado, se encuentran poblaciones en dos o tres de los principales grupos mencionados. Pero sí el hospedero, donde las mayores proporciones corporales se ubican en insectos alimentados en un cultivo de berenjena, mientras que en papa, chile y/o tomate, no se encuentran diferencias.

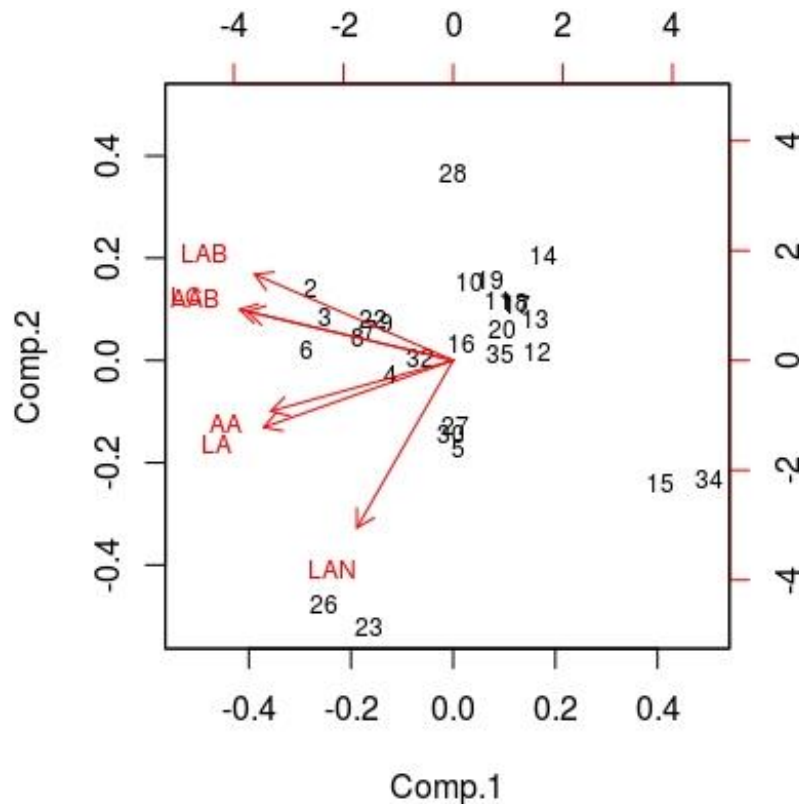


Figura 1. Biplot de caracteres morfométricos por población de *B. cockerelli*.

Entre poblaciones, las hembras presentaron mayor tamaño que los machos en la mayoría de las poblaciones y caracteres medidos mediante un ANOVA ($F_{27, 658}$; $P \leq 0.05$): LC (1.870, 1.824); LAB (0.898, 0.851); AAB (0.635, 0.532); LA (2.509, 2.441); AA (0.986, 0.949) y LAN (0.888, 0.895) para hembras y machos respectivamente. Estadísticamente la característica que presenta mayor diferencia se encuentra en AAB, donde las hembras presentan hasta un milímetro de diferencia con los machos, lo cual se atribuye a la carga de huevecillos, mientras que la longitud de antenas se encuentra estadísticamente similar en ambos sexos.

La morfometría de ambos sexos por población, indica que las hembras de mayor tamaño en LC (cuadro A, figura 2) respecto al tamaño de los machos se encuentran en Aguascalientes (población 2) y las más pequeñas en Tamaulipas (población 34), mientras que los machos más grandes son los de la población 28 de Durango y los más pequeños, al igual que las hembras, en la población 34. Siempre manteniendo la característica de mayor tamaño que caracteriza a las hembras sobre los machos, a excepción de la población 27, que decae drásticamente, cuyo patrón se presenta también en LAB (cuadro B, figura 2). Donde los machos de la población 28 superan las hembras de cualquier población.

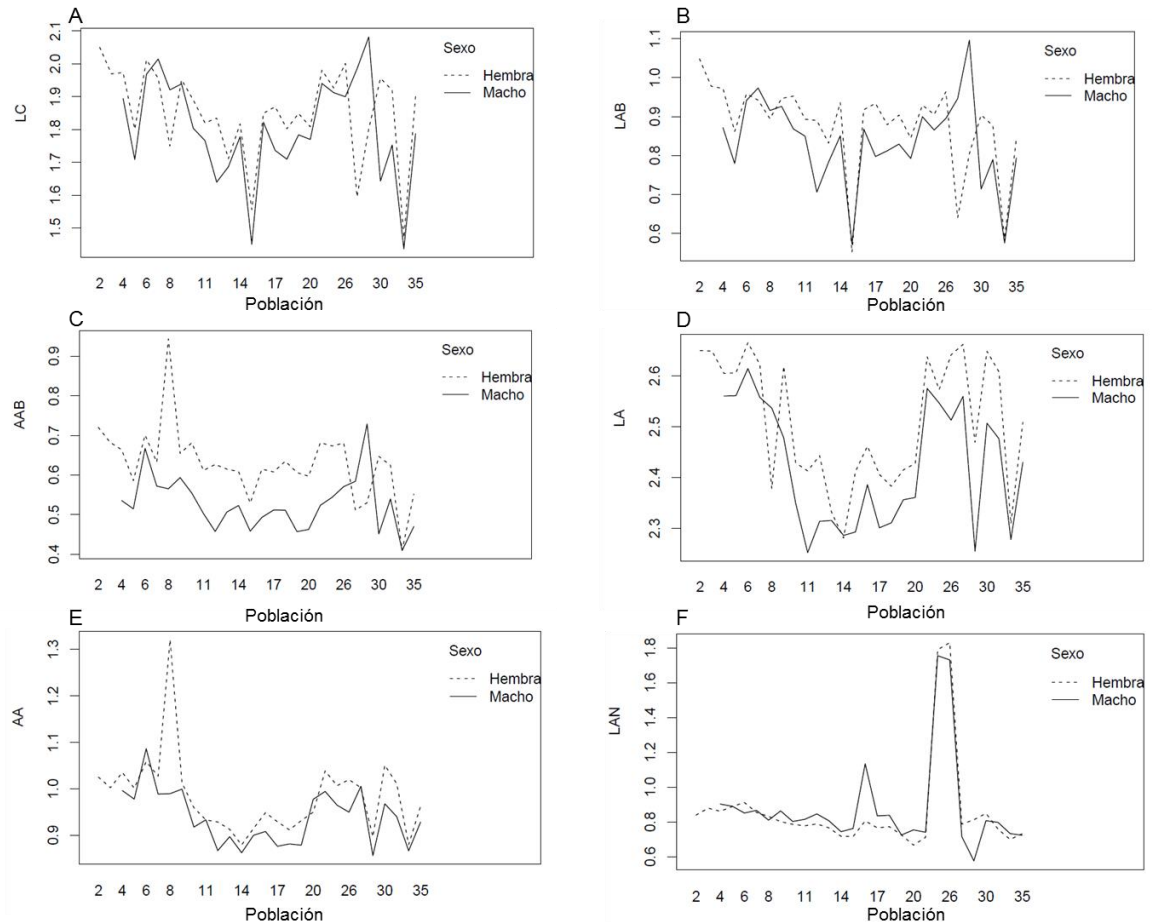


Figura 2. Comparación de caracteres por sexo entre poblaciones de *B. cockerelli*. En AAB (cuadro C, figura 2) las hembras de la mayoría de las poblaciones se encuentran por encima de la media de los machos, excepto en las poblaciones 27 y 28. Resaltando la población 8 de Aguascalientes como las de mayor tamaño.

En la variable de LA hembras y machos mantienen un comportamiento similar entre poblaciones, donde las hembras superan en tamaño a los machos; solo en la población 8, LA disminuye drásticamente, mientras que en AA (cuadro E, figura 2) las hembras de esta misma población presenta los valores máximos. Los machos en la variable LAN (cuadro F, figura 2) presentaron los mayores valores entre las poblaciones analizadas, superados únicamente por las hembras de la población 6, 27 y 28, siendo esta última, donde los machos presentaron el valor mínimo de LAN.

EL análisis de poblaciones por sexo, indica que geográficamente, las hembras del estado de Aguascalientes, Nuevo León y Durango presentan las mayores dimensiones corporales, mientras que los machos de mayores proporciones, se ubican en las poblaciones Aguascalientes y Durango. En relación al cultivo hospedero, no se observa un patrón específico, por lo que los caracteres de *B. cockerelli*, en base a la distinción por sexo, pueden estar más influenciados por el ambiente que por la alimentación.

Los adultos de *B. cockerelli* son pequeños, variando de 1.3-1.9 mm (Liu and Trumble, 2007), pero esta característica puede variar dependiendo de la planta huésped, el origen geográfico de las poblaciones, sexo y si la medición fue realizada con individuos de campo o laboratorio (Butler and Trumble, 2012).

Vargas et al. (2013) demostraron que la morfometría de adultos y ninfas de *B. cockerelli* se ve afectada por el cultivar del tomate de cría.

La fecundidad, tasa de sobrevivencia y fecundidad de *B. cockerelli*, son mejores en berenjena que en chile pimiento (Yang and Liu, 2009).

Los estudios de morfometría son una herramienta que ha demostrado ser muy efectiva para descomponer la variación resultante de la fisiología de los individuos (variación del tamaño), propia de la población y producto probablemente genético (variación de la forma) (Jaramillo et al., 2002); la variación morfométrica se puede utilizar para discriminar “poblaciones fenotípicas”, definidas como grupos con un crecimiento, mortalidad y tasas de reproducción similares (Cadrin, 2000).

Variabilidad genética

Todos los productos de PCR generaron el amplicón esperado de 500bp (Figura 3), posterior a la secuenciación en doble sentido, se obtuvo una secuencia de bases idéntica entre las muestras analizadas. Tras la comparación de secuencias, se obtuvo un 100% de similaridad con el haplotipo descrito como Central por Swisher et al. (2012); el cual difiere en solo un SNP con el haplotipo Western en el residuo 51 donde presenta una citosina en sustitución de una

tiamina; 16 SNPs con el Northwestern (Swisher *et al.* 2012) y dos con el haplotipo Southwestern (Swisher *et al.* 2014).

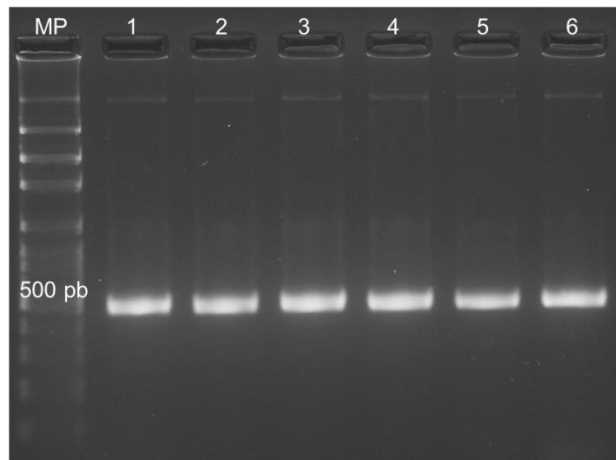


Figura 3. Resultados de PCR de insectos, mostrando los amplificados obtenidos a un peso de 500pb (MP 100pb).

El haplotipo Central se localiza en los estados de Wyoming, Nebraska, Texas y Washington en USA; El Salvador, Honduras y Nicaragua en Centro América; en México, se ha ubicado en los estados de Toluca y Querétaro (Swisher *et al.*, 2013). En este estudio, se detecta la presencia del haplotipo Central en los estados de Aguascalientes, Jalisco, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Michoacán, Zacatecas, Nuevo León, Coahuila, Nayarit, San Luis Potosí y Tamaulipas, zonas cuyas condiciones climáticas son muy variadas, yendo desde climas muy secos y semisecos, como Durango y Zacatecas, hasta cálidos semihúmedos en Michoacán, Hidalgo y Puebla por mencionar algunos; cuyas temperaturas promedio van desde los 3°C a más de 30 °C (INEGI, 2017), que han permitido la adaptación del psilido.

Los estudios de diversidad genética proporcionan información para comprender los patrones de variación entre individuos y poblaciones mediante el uso de marcadores genéticos, como los genes mitocondriales (Allendorf *et al.*, 2013, Ekblom y Wolf 2014), que permiten identificar las relaciones genéticas entre especies, caracterizar la variación genética y clasificar a los individuos en cepas, clados subespecíficos o haplotipos (Liu *et al.*, 2005). Uno de estos marcadores

mitocondriales es el gen COI, cuyo análisis ha permitido distinguir poblaciones de insectos que muestran diferencias biológicas y fenológicas de formas morfológicamente idénticas (Gordh and Headrick, 2011). Liu et al., 2005, reporta dos biotipos de *B. cockerelli* en el centro y occidente de estados unidos; los cuales Chapman et al. (2012) separó en Central y Western, mediante análisis de fusión de alta resolución y secuenciación de ADN del gen COI. Los cuales presentan una variación de un nucleótido en la posición 297 de un amplificado de 421 pares de bases, donde el biotipo central presenta una guanina (G) y el biotipo Western una adenina (A). Siendo el biotipo central el biotipo nativo y el Western el invasivo.

De acuerdo a los estudios realizados por Montiel et al., 2016, el biotipo central (Texas y Nebraska) y el haplotipo Southwestern están estrechamente relacionados, mientras que el biotipo Western, diverge de estas poblaciones, pero se relaciona con una aparente nueva población del noroeste, la cual puede haber surgido a partir de éste biotipo.

A partir del resultado del alineamiento de secuencias, se seleccionaron aquellas con la mayor cobertura y porcentaje de similaridad, para la construcción del árbol filogenético (figura 4), donde la historia evolutiva se dedujo utilizando el método Neighbor-Joining, con una longitud de rama = 0.04. Inferido con un Bootstrap a partir de 1000 repeticiones. Las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método de máxima probabilidad compuesta. El análisis involucró 10 secuencias (nueve de la base de datos y la secuencia obtenida en este estudio) de nucleótidos donde se eliminaron todas las posiciones que contenían vacíos y datos perdidos. Comparando un total de 500 posiciones en el conjunto de datos final.

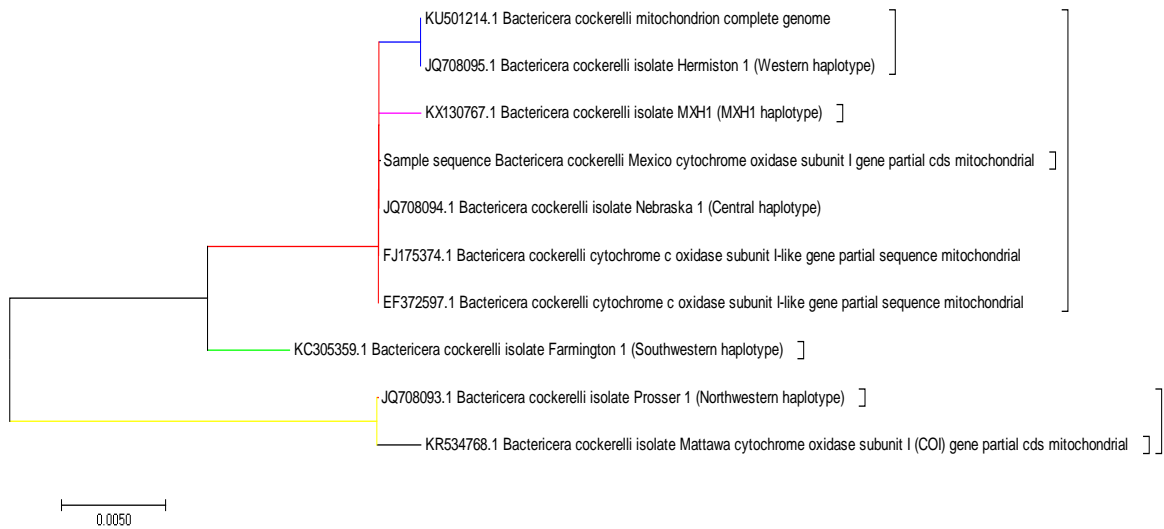


Figura 4. Dendrograma mostrando haplotipos de *B. cockerelli* y su cercanía evolutiva calculada con el método Neighbor-Joining, con una longitud de rama = 0.04. Inferido con un Bootstrap a partir de 1000 repeticiones.

En el árbol se puede observar como la secuencia obtenida a partir de la secuenciación de los productos de PCR de cada una de las poblaciones obtenidas de Aguascalientes, Jalisco, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Michoacán, Zacatecas, Nuevo León, Coahuila, Nayarit, San Luis Potosí y Tamaulipas, se relaciona directamente con el haplotipo Central, ubicándose en un mismo clade, que incluye los haplotipos Western y MXH1. Relacionándose en un menor grado con el haplotipo Southwestern y divergiendo en mayor proporción con el haplotipo Northwestern el cual se ubica en un clade independiente.

Los resultados de este estudio, muestran un panorama más amplio acerca de las variaciones genéticas y morfométricas entre poblaciones de *B. cockerelli*, y la viabilidad del estudio de la dinámica poblacional y biología de los haplotipos disponibles, así como aquellos por definir, que puedan dar indicios de estrategias para su manejo y de las enfermedades que transmite, especialmente Lso.

REFERENCIAS

- Allendorf, F. W., G. Luikart, and S. N. Aitken. 2013. Conservation and the Genetics of Populations. 2nd ed. Wiley-Blackwell, Malaysia.
- Butler CD; Trumble JT, 2012. The potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae): life history, relationship to plant diseases, and management strategies. *Terrestrial Arthropod Reviews*. 5(2):87-111.
- Cadrin, S.X. 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 10:91-112.
- Chapman, R. I., J. F. Macias-Velasco, A. P. Arp, and Blake R. Bextine. 2012. Using quantitative real time PCR melt curve analysis of partial CO1 sequence for rapid biotype differentiation of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Southwest. Entomol.* 37: 475-484.
- Ekblom, R., and J. B. W. Wolf. 2014. A field guide to whole-genome sequencing, assembly and annotation. *Evol. Applic.* 7: 1026-1042.
- Esparza, D.G., Villanueva R.T., Paetzold L., Henne D., Rush C. 2014. The Mexican Conundrum of Hot Potato Psyllids: Importance of Commercial Hosts, and Surveyed Sites. Proceedings of the 14th annual 2014 Zebra Chip Reporting Session. Portland, OR. P- 147-151.
- Jaramillo, O.N., Calle, D., Caro-Riaño, H., Calle, J. y Ortega, B. E. 2002. Diferencias morfométricas asociadas a la distribución geográfica de *Rhodnius pallescens* provenientes de siete localidades de Colombia y Panamá. Organización Panamericana de la salud OPS/DPC/CD/273/03. En memorias: Taller Técnico de Estudio sobre *Rhodnius pallescens*, su Vigilancia y Control. Panamá, Panamá. Pp 15-23.

- Gordh, G., and D. Headrick. 2011. A Dictionary of Entomology. 2nd ed. CSIRO Publishing.
- Gross D. C., Lichens A., Kole C. 2014. Genomics of plant-associated bacteria. Ed. Springer p. 205.
- Hernández B. O. 2016. Costos de adaptación en cuatro poblaciones de *Bactericera cockerelli* (Sulc) resultado de la resistencia a insecticidas. Tesis de maestría. UAAAN.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2017. <http://www.inegi.org.mx/>. Fecha de consulta 12/09/2017.
- Jackson, B. C., J. Goolsby, A. Wzykowski, N. Vitovksy, and B. Bextine. 2009. Analysis of genetic relationships between potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) populations in the United States, Mexico and Guatemala using ITS2 and inter simple sequence repeat (ISSR) data. *Subtropical Plant Sci.* 61: 1-5.
- Liu, D., J. T. Trumble, and R. Stouthamer. 2005. Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western North America. *Entomol. Exp. Appl.* 118: 177- 183.
- Montiel, A. L., Hail, D., Macias-Velasco, J. F., Powell, C. M., & Bextine, B. R. (2016). The Mitochondrial Genome of the Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli* Sulc., and Differences Among Potato Psyllid Populations of the United States. *Southwest. Entomol.* 41(2), 347-360.
- Munyanenza J. E. 2013. *Bactericera cockerelli*. EPPO Bulletin, 43 (2), 202–208.
- Munyanenza J.E.; Sengoda V. G.; Stegmark R.; Arvidsson A. K. Anderbrant O, Yuvaraj J.K. 2012a. First report of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” associated with psyllid-affected carrots in Sweden. *Plant Disease*, 96, 453.

- Munyanzeza J. E.; Sengoda V. G.; Sundheim L. and Meadow R. 2012b. First report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" associated with psyllid-affected carrots in Norway. *Plant Disease*, 96, 454.
- Munyanzeza J. E. 2010. Psyllids as vectors of emerging bacterial diseases of annual crops. *Southwest. Entomol.* 35: 417-477.
- Nava C. U. 2002. Muestreo, monitoreo y umbrales económicos del psílido del tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc).Pág. 55-77. Memoria taller sobre *Paratrioza cockerelli* Sulc., como plaga y vector de fitoplasmas en hortalizas. Culiacán, Sinaloa. 100p.
- Pletsch, D.J. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc) its biology and control. Mont. Ag. Exp. Stn. Bull. 446.
- Ramírez J.F., Porcayo E., Sánchez, J. R., Vázquez L. M. 2012. Spatial Behavior Comparison of *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Triozidae) in Mexico. *Neo. Entomol.* 41:9–16.
- Shufran, K. A., and T. L. Payton. 2009. Limited genetic variation within and between Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotypes in the United States. *J. Econ. Entomol.* 102: 440-445.
- Swisher, K. D., Arp, A. P., Bextine, B. R., Aguilar, E. Y., Crosslin, J. M. & Munyanzeza, J. E. 2013. Haplotyping the Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli*, in Mexico and Central America. *Southwest. Entomol.* 38(2):201-208. DOI: <http://dx.doi.org/10.3958/059.038.0205>
- Swisher, K. D., Henne, D. C. & Crosslin J. M. 2014. Identification of a Fourth Haplotype of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in the United States. *Insect Science.* 14(161). DOI: 10.1093/jisesa/ieu023.
- Swisher, K. D., Munyanzeza, J. E. & Crosslin, J. M. 2012. High Resolution Melting Analysis of the Cytochrome Oxidase I Gene Identifies Three Haplotypes of the Potato Psyllid in the United States. *Env. Entomol.* 41(4): 1019-1028. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/EN12066>.

- Templeton, A. 2006. Populations genetics and micro evolutionary theory. Chapter 1: Scope and Basic Premises of Population Genetics. Eds. John Wiley & Sons, Inc. pp. 700.
- Vargas, M. H., N. Bautist, J. Vera, C. García and C. Chavarín. 2013. Morphometrics of eggs, nymphs, and adults of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae), grown on two varieties of tomato under greenhouse conditions. *Florida Entomologist*, 96(1):71-79.
- Yang, X.B. and T. X. Liu. 2009. Life History and Life Tables of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: *Psyllidae*) on Eggplant and Bell Pepper, *Env. Entomol.*, Volume 38, Issue 6, Pages 1661–1667, <https://doi.org/10.1603/022.038.0619>.

Artículo 4



Investigación y Ciencia
ISSN: 1665-4412
revistaiyc@correo.uaa.mx
Universidad Autónoma de Aguascalientes
México

Beltrán Beache, Mariana; Cerna Chávez, Ernesto; Delgado Ortiz, Juan Carlos; Ochoa fuentes, Yisa María
Evaluación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes* (A. Gray) S. F. Blake sobre
ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Trioziidae)
Investigación y Ciencia, vol. 23, núm. 66, septiembre-diciembre, 2015, pp. 12-15
Universidad Autónoma de Aguascalientes
Aguascalientes, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67446014002>

- ▶ [Cómo citar el artículo](#)
- ▶ [Número completo](#)
- ▶ [Más información del artículo](#)
- ▶ [Página de la revista en redalyc.org](#)



Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

**Evaluación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes*
(A. Gray) S. F. Blake sobre ninfas de *Bactericera cockerelli*
(Sulc.) (Hemiptera: Triozidae)**

**Evaluation of the insecticidal activity of *Heliopsis longipes*
(A. Gray) S. F. Blake on nymphs of *Bactericera cockerelli*
(Sulc.) (Hemiptera: Triozidae)**

Mariana Beltrán Beache¹, Ernesto Cerna Chávez¹, Juan Carlos Delgado Ortiz¹, Yisa María Ochoa Fuentes^{1*}

Beltrán Beache, M., Cerna Chávez, E., Delgado Ortiz, J. C., Ochoa Fuentes, Y. M. Evaluación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes* (A. Gray) S. F. Blake sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. Número 66: 12-15, septiembre-diciembre 2015.

RESUMEN

Bactericera cockerelli (Sulc.) es una plaga de importancia económica cuyo control principal se basa en la aplicación de insecticidas de origen químico. Con el objetivo de demostrar la acción insecticida del extracto de *Heliopsis longipes* sobre ninfas de *B. cockerelli*, se elaboró y concentró un extracto etanólico a partir de raíces de esta planta, al cual se le cuantificó la cantidad de afinina presente, con base en la cual se establecieron las concentraciones evaluadas y se obtuvo una densidad letal media de 234.09 p.p.m. y mortalidades hasta del 100% en 24 h, lo cual demuestra el potencial insecticida del extracto como medio de control de las poblaciones de esta plaga.

ABSTRACT

The potato psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc.) is an economically important pest, whose management focuses on the application of chemical insecticides. The objective of this study was to demonstrate the insecticidal activity of *Heliopsis longipes* extract

Palabras clave: *Heliopsis longipes*, afinina, actividad insecticida, *Bactericera cockerelli*.

Keywords: *Heliopsis longipes*, afinin, insecticidal activity, *Bactericera cockerelli*.

Recibido: 17 de septiembre de 2014, aceptado: 29 de junio de 2015

¹ Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
* Autor para correspondencia: yisa8a@yahoo.com

on *B. cockerelli* nymphs. An ethanolic extract was prepared from roots and the amount of afinin present in the extract was determined by this several concentrations were tested, obtaining a median lethal concentration of 234.09 ppm and mortalities of upto 100% in 24 h. This demonstrates the potential of the extract controlling populations of this pest.

INTRODUCCIÓN

B. cockerelli (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae), conocido también como salerillo, pulgón saltador o psilido de la papa/tomate, es una plaga de importancia económica que afecta principalmente cultivos de solanáceas en México, Estados Unidos y Nueva Zelanda (Munyanza, 2010). El origen de los daños generados es de dos tipos: directo de tipo toxínifero e indirecto por la transmisión de procariontes (Ramírez Dávila et al., 2012), como *Candidatus liberibacter solanacearum*, bacteria Gram negativa limitada al floema y patógeno de importancia económica en cultivos de solanáceas en México, Honduras, Guatemala, Belice, Estados Unidos de América, Nueva Zelanda, Europa, Noruega y Suecia (Munyanza, 2013b; Gross et al., 2014), capaz de provocar pérdidas totales en los cultivos donde se presenta (Munyanza et al., 2012a, b).

Se han desarrollado varias estrategias para el control de *B. cockerelli*, pero hasta el momento la más efectiva para su manejo y el de los patógenos que transmite es el control químico (Munyanza, 2013a). El uso de pesticidas convencionales y biorra-

cionales de origen vegetal y mineral ha demostrado una importante capacidad para disuadir o repeler la alimentación y ovoposición del psilido (Yang et al., 2010) y podrían ser herramientas útiles en programas de manejo integrado de plagas para el control de *B. cockerelli* (Munyanza, 2013a).

H. longipes o chilcuague es una planta silvestre que produce en gran cantidad afinina (N-isobutil-2, 6, 8-dectrienoamida), un metabolito secundario del grupo de las alcaloides, al cual se le atribuyen los efectos biológicos que se le adjudican a la planta, entre los que destacan la acción anestésica y el estímulo organoléptico, así como la actividad insecticida, bactericida y fungicida (Molina Torres et al., 1996; Ramírez Chávez et al., 2000; González Morales et al., 2011), además de funcionar como un estimulador del crecimiento y la regeneración de tejidos vegetales (Ramírez Chávez et al., 2004; Hernández Cruz, 2009). La afinina es un compuesto muy similar al piretro que se extrae de las flores de crisantemo *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Casida, 1980) y muestra el mismo grado de acción paralizante y de toxicidad contra insectos como la mosca doméstica (*Musca domestica*), el lepidóptero *Diaphania hyalint*a, el díptero *Aedes aegypti* (vector del dengue) y el mosquito vector del paludismo (*Anopheles albimanus*) (Hernández Morales et al., 2012).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la acción insecticida del extracto etanólico de raíces de *H. longipes* sobre ninfas de *B. cockerelli* para determinar su potencial como insecticida natural en el manejo de esta plaga.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila.

Extracto de *H. longipes*

Se obtuvo un macerado a partir de raíces secas y pulverizadas de *H. longipes*, con etanol al 98% como solvente en una proporción de 1:10; 1.0 g de raíz macerada por cada 10 mL de solvente, reposado durante 30 d a temperatura ambiente. El extracto crudo se filtró a través de un papel Whatman No. 1 y se concentró en Rotavapor IKA-RV 10 a 78 °C durante 2 h a 150 r.p.m. La determinación de la concentración de afinina se realizó en el Centro de

Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV- IPN), unidad Irapuato, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), en una columna C18, utilizando como fase móvil acetonitrilo y agua en un gradiente de 40% a 70% con un tiempo de corrida de 40 min a un flujo de 1 mL min⁻¹. Se obtuvo una concentración de 70.8 mg ml⁻¹ de afinina del extracto concentrado de *H. Longipes*. Las dosis empleadas para la realización de los bioensayos se basaron en la cantidad de afinina presente en el extracto.

Material biológico

Se estableció una colonia de *B. cockerelli*, con adultos recolectados en una zona papera en la localidad de Jame, municipio de Arteaga, Coahuila; la cual se mantuvo a 23 °C con un fotoperiodo de 14:10 h luz/obscuridad, utilizando como hospedero plantas de papa, las cuales fueron cambiadas con regularidad debido al daño causado por la alimentación del insecto.

Bioensayo

El bioensayo se realizó con ninfas del cuarto instar de *B. cockerelli* colocando 10 ninfas por unidad experimental con cinco repeticiones. El método empleado fue el número 002 del IRAC (2009) para ninfas de psilidos. Como primer paso, se estableció una ventana biológica mediante seis concentraciones que fueron de 100, 500, 1000, 1500, 3000 y 5000 p.p.m. de afinina, más un testigo absoluto con agua y uno negativo con etanol. Se colocaron las ninfas en la superficie de hojas de tomate tipo saladette (variedad Río Grande) y estas sumergidas durante 5s en cada una de las concentraciones propuestas; se dejaron secar al aire y se colocaron dentro de una caja Petri con un trozo de papel de estraza húmedo para mantener la turgencia de la hoja. Se almacenaron a 23 °C con un fotoperiodo de 14:10 h luz/obscuridad. Para determinar la mortalidad, las ninfas fueron observadas cada 24 h durante 3 d con ayuda de un microscopio estereoscópico, con la falta de respuesta ante un estímulo físico como criterio de muerte.

De acuerdo a los resultados de la ventana biológica, se desarrolló un segundo bioensayo de la misma forma pero utilizando ocho dosis seriadas de 100, 300, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 y 3000 p.p.m. más el testigo absoluto con agua y otro negativo con etanol. Se registró la lectura de mortalidad cada

24 h de iniciado el experimento. La concentración letal media (CL50) fue calculada con el paquete estadístico SAS 9.0 con el programa Probit, con corrección de mortalidad mediante la fórmula de Abbott (1925).

RESULTADOS

Para determinar la actividad insecticida se evaluaron cinco concentraciones de afinina d, el extracto etanólico (correspondientes al segundo bioensayo), en las que se observaron mortalidades del 100% a las 24 h en las concentraciones de 1000 y 3000 p.p.m.; mientras que en los tratamientos de 100, 300 y 500 p.p.m. fueron más bajas con 30%, 66% y 82% de mortalidad, respectivamente. Aquellos de 1500, 2000 y 2500 p.p.m. tuvieron por arriba de 95%.

A las 48 h, la tendencia fue similar, pero con un aumento en la mortalidad en las dosis de 100, 300 y 500 p.p.m. a 36%, 76% y 98%. Para las 72 h el tratamiento de 500 p.p.m. alcanzó 100% de mortalidad, mientras que aquellos de 100 y 200 p.p.m. mostraron 62% y 80%, respectivamente.

La CL50 obtenida del bioensayo a las 24 h, arrojó un valor de 234.09 p.p.m. de afinina presente en el extracto etanólico, con una ecuación de predicción de $0.1695x + 17.864$ y un coeficiente de correlación (R²) de 0.979.

DISCUSIÓN

La elevada concentración de afinina (70.8 mg mL⁻¹) obtenida en el extracto etanólico de raíz de *H. longipes* coincide con lo reportado por Ramírez Chávez et al. (2000), quienes indican que la afinina es el compuesto mayoritario en la raíz de *H. longipes* y la señalan como responsable de las diversas propiedades terapéuticas en humanos y biocidas sobre bacterias, hongos, insectos y moluscos; es posible la

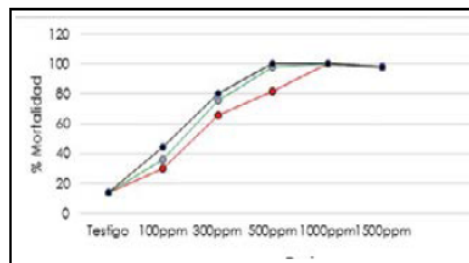


Figura 1. Comportamiento de la mortalidad de las ninfas de *B. cockerelli* de acuerdo al tiempo y a las diferentes concentraciones de afinina aplicadas.

participación de otros compuestos bioactivos presentes en el extracto.

El análisis de los resultados del experimento arrojó una concentración letal media (CL50) de 234.09 p.p.m. Al respecto Hernández Morales et al. (2012) reportan una CL50 de 2.85 p.p.m. de afinina como la cantidad necesaria para eliminar 50% de larvas de *A. albimanus*, lo cual comprueba la efectividad del extracto para controlar insectos. Asimismo, Juárez Flores et al. (2001), quienes utilizaron polvo de raíz de *H. longipes* sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*), reportaron mortalidades de 100% a los 15 d.

Jacobson et al. (1947) y Domínguez et al. (1958) comprobaron la actividad biocida de la afinina en mosca doméstica y gorgojo de frijol, respectivamente. Por su parte, Del Castillo (1983) reporta la capacidad insecticida del extracto crudo de raíz de *H. longipes* en larvas de *Oestrus ovis*. Cabe mencionar que no se han reportado trabajos sobre el efecto del extracto o de la afinina provenientes de *H. longipes*, sobre *B. cockerelli* o insectos de la misma familia.

Tabla 1. Concentraciones letales y límites fiduciales en ninfas de *B. cockerelli*

	Dosis p.p.m.	Límites fiduciales	
CL ₅₀	234.09	197.71	271.73
CL ₉₅	1,267	1,029	1648
Ecuación de predicción		Y= 0.1695x + 17.864	
Coeficiente de correlación		R ² =0.979	

CONCLUSIONES

Se demostró la actividad insecticida del extracto etanólico de *H. longipes* en ninfas de cuarto instar de *B. cockerelli*, se obtuvo una concentración letal media de 234.09 p.p.m. y mortalidades de 100% a las 24 h a partir de concentraciones de 3000

p.p.m. Estos resultados muestran un panorama del potencial del extracto etanólico de *H. longipes* como insecticida en el control de *B. cockerelli* en cultivos orgánicos, así como resultados preliminares sobre las concentraciones efectivas y la viabilidad de la purificación y evaluación de la afinina en la formulación de insecticidas.

LITERATURA CITADA

- CASIDA, J. E. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environmental Health Perspectives*, 34: 189-202, 1980.
 - DEL CASTILLO R., A. R. Efecto insecticida in vitro de la raíz de chilcúan (*Heliopsis longipes*) sobre las larvas de la mosca *Oestrus ovis*. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México, 27 pp., 1983.
 - DOMÍNGUEZ, J. A. et al. Síntesis de N-isopropil y N-isobutilamida de algunos ácidos y comparación de su acción insecticida con la afinina. *Ciencia*, 17: 213-216, 1958.
 - GONZÁLEZ MORALES, S. et al. Actividad inhibitoria del extracto de *Heliopsis longipes* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 29(2): 146-153, 2011.
 - GROSS, D. C. et al. (Eds.). *Genomics of Plant-associated Bacteria* (p. 205). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014.
 - HERNÁNDEZ CRUZ, M. Evaluación del efecto de la afinina presente en extractos de *Heliopsis longipes* en la recuperación de ápices de vainilla sometidos a tratamientos con crioprotectores. Tesis de maestría. Universidad Veracruzana. Unidad de Ciencias Químicas. México, 2009.
 - HERNÁNDEZ MORALES, A. et al. Determinación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes* A. Gray Blake, una planta endémica del estado de Guanajuato. *Ra Ximhai*, 8(3): 111-118, 2012.
 - JACOBSON, M. et al. Correction of the source of affinin (N-isobutil-2, 6, 8-decatrienoamide). *The Journal of Organic Chemistry*, 12: 731-732, 1947.
 - JUÁREZ FLORES, B. I. et al. Actividad del chilcuague *Heliopsis longipes* (Asteraceae) sobre el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Memorias del II Simposio Internacional y VII Nacional sobre sustancias vegetales y minerales en el combate de plagas*. Querétaro, México, 43-48, 2001.
 - MOLINA TORRES, J. et al. Purely olefinic alkamides in *Heliopsis longipes* and *Acmella* (*Spilanthes*) *oppositifolia*. *Biochemical Systematic Ecology*, 24(1): 43-47, 1996.
 - MUNYANEZA, J. E. *Bactericera cockerelli*. *EPPO Bulletin*, 43(2): 202-208, 2013a.
 - MUNYANEZA, J. E. *Candidatus liberibacter solanacearum*. *EPPO Bulletin*, 43(2): 197-201, 2013b.
 - MUNYANEZA, J. E. Psyllids as vectors of emerging bacterial diseases of annual crops. *Southwestern Entomologist*, 35: 417-477, 2010.
 - MUNYANEZA, J. E. et al. First report of *Candidatus liberibacter solanacearum* associated with psyllid-affected carrots in Norway. *Plant Disease*, 96(3): 454, 2012a.
 - MUNYANEZA J. E. et al. First report of *Candidatus liberibacter solanacearum* associated with psyllid-affected carrots in Sweden. *Plant Disease*, 96(3): 453, 2012b.
 - RAMÍREZ CHÁVEZ, E. et al. Actividad fungicida de la afinina y del extracto crudo de raíces de *Heliopsis longipes* en dos especies de *Sclerotium*. *Agrociencia*, 34(2): 207-215, 2000.
 - RAMÍREZ CHÁVEZ, E. et al. Alkamides Isolated from Plants Promote Growth and Alter Root Development in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 134(3): 1058-1068, 2004.
 - RAMÍREZ DÁVILA, J. F. et al. Spatial Behavior Comparison of *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Trioziidae) in Mexico. *Neotropical Entomology*, 41(1): 9-16, 2012.
 - YANG, X. B. et al. Repellency of selected biorational insecticides to potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae). *Crop Protection*, 29(11): 1324-1329, 2010.
- De páginas electrónicas**
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267, 1925. doi: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
 - INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMITEE (IRAC). Method. 002. *Susceptibility Test Methods Series*. Version: 3, 2009. Recuperado de http://www.irac-online.org/content/uploads/Method_002_v3_june09.pdf

Conclusión general

El haplotipo predominante de *Bactericera cockerelli* de las diferentes poblaciones analizadas fue el descrito como haplotipo central.

Se identificó un nuevo haplotipo en los estados de Durango y Coahuila, cuya característica molecular es la variación de la base 247 de la secuencia de nucleótidos correspondiente al gen mitocondrial citocromo C oxidasa subunidad 1.

'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' se detectó en los estados de Zacatecas, Jalisco, Aguascalientes, Guanajuato, S.L.P., Michoacán, Coahuila, Hidalgo, Puebla, Durango, Nuevo León y Nayarit; la cual fue consistente con los sitios donde se ubicó el insecto vector *Bactericera cockerelli*, excepto en el estado de Tamaulipas donde los individuos resultaron negativos y cuya presencia no se ve afectada por el hospedero ni el grado de tecnificación del sistema de producción. La morfometría de *B. cockerelli*, esta principalmente influenciada por el hospedero, siendo la geografía un factor de mínimo impacto en esta.

Los resultados de este estudio, muestran un panorama más amplio acerca de las variaciones genéticas y morfométricas entre poblaciones de *B. cockerelli*, y su papel como vector de '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' en México, así como la necesidad del estudio de la dinámica poblacional y biología de los haplotipos de *B. cockerelli* presentes en México, que puedan aportar información para diseñar estrategias de manejo.