

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Detección de “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” en Poblaciones de
Bactericera cockerelli y su Relación con la Temperatura

Por:

RUBÍ GUTIÉRREZ GUERRA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Octubre 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Detección de "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" en Poblaciones de *Bactericera cockerelli* y su Relación con la Temperatura

Por:

RUBÍ GUTIÉRREZ GUERRA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría

Dr. Ernesto Cerna Chávez
Asesor Principal

Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Coasesor

Dra. Mariana Beltrán Beache
Coasesor

Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Octubre 2017

AGRADECIMIENTOS

A Dios: Por darme su bendición y fortaleza en todo momento de mi camino, para alcanzar mis sueños e iluminar mi camino y darme el mejor pilar de mi vida, mi familia.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: Por abrirme las puertas y darme la oportunidad de formarme como profesionista. Y formar parte de ti, así como pasar momentos felices, tristes, gratos que pase en este bello lugar. A mi Alma Terra Mater.

Al Dr. Ernesto Cerna Chávez. Por asesorarme para realizar este trabajo tan importante para mí.

A Dra. Mariana Beltrán Beache. Por su total apoyo, amistad, paciencia y su entera disposición para la revisión del trabajo, así como su magnífica colaboración para la culminación de esta tesis.

A la Dra. Yisa María Ochoa Fuentes. Por su apoyo y colaboradora de este trabajo y por ser mi tutora a lo largo de mi carrera por darme sus sabios consejos.

Al Dr. Juan Carlos Delgado. Por ser colaboración y tener esa paciencia de revisar dicho trabajo.

A mis compañeras de cuarto: Ing. Erika Alba, Ing. Nidia e Ing. Daniela Adán. Por contar con su apoyo, por brindarme su grande y valiosa amistad y sobre todo momentos increíbles.

A mis compañeros de generación: De la carrera Ingeniero Agrónomo Parasitólogo, Gracias por su amistad...

A mis amigos: a Claudia, Candy, Abi, Isabel, Ricardo Genis, Nicolás, Marquitos, Alonso, Max, Edwin. Por vivir momentos increíbles, por cada vivencia, locuras y desmanes hechos con ustedes, sin importar consecuencias. Les agradezco infinitamente su amistad y momentos vividos con cada uno de ustedes.

DEDICATORIAS

A Mis padres

Sr. Placido Martínez Cortes Y Sra. Hortencia Guerra López. Por brindarme su apoyo, por el amor, el cariño y consejos que me han guiado, por el buen camino de la vida. Por estar siempre conmigo y darme la mejor familia.

Mis Hermanos: Diana Yulissa, Luis Armando y Juan Andrés, por contar siempre con ustedes. Por regalarme momentos increíbles, ser los únicos y mejores del mundo. Por apoyarme en todo momento.

En especial al Ing. **José Luis Gutiérrez Guerra.** Por ser ejemplo para mí, por todos los consejos que me has dado y depositar esa confianza en mí, por el apoyo incondicional durante mi estancia en la UAAAN por hacer hasta lo imposible de que no me faltara nada, te quiero mucho. ¡Gracias!

A mis abuelos

Sr. Esteban Guerra García Y Sra. Fidelia López Flores. Por ser las mejores personas, por haber tenido esa confianza en mí, mientras estaba lejos de casa y brindarme su apoyo y cariño.

A mi tía Isabel Guerra López: Por el apoyo económico, por todos los consejos y confianza que me dio para terminar la carrera como ingeniero.

A mi tía Cristal Guerra López: Por su paciencia conmigo en los primeros días de llegada a la uaaan y su compañerismo.

A mi esposo, el Ing. Luis rojas linares: Por ser el mejor compañero en este logro desde el inicio, por impulsarme a realizar las cosas con gran satisfacción y ser el motivo de concluir este trabajo, por todo tu apoyo y consejos hacia mí.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIAS	iv
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE CUADROS	viii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN	x
JUSTIFICACIÓN.....	xi
OBJETIVO	xi
Objetivos Específicos.....	xi
HIPÓTESIS	xi
REVISION DE LITERTURA	1
<i>Bactericera cockerelli</i>	1
Ciclo Biológico	1
Huevo	1
Estadios Ninfales	1
Primer instar	2
Segundo instar	2
Tercer instar	2
Cuarto instar.....	2
Quinto instar.....	3
Adulto.....	4
Requerimientos Climáticos	4
Clasificación Taxonómica.....	5
Distribución geográfica	5
Hospederos	6
Importancia Económica	7
Daños	7
Directo.....	7
Indirecto.....	8
Control de <i>Bactericera cockerelli</i>	8
Cultural	8

Control Biológico	9
Hongos entomopatógenos e Insectos entomopatógenos	9
Control Químico	9
<i>Candidatus</i> Liberibacter solanacearum	10
Descripción	10
Clasificación Taxonómica	11
Distribución Geográfica	11
Hospederos	11
Importancia Económica	13
Punta Morada de la papa, o Zebra chip	13
Permanente del Tomate	14
Control de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacearum	15
Control Genético	15
Control Químico	15
MATERIALES Y METODOS	16
Ubicación del Experimento	16
Obtención de Material	16
Extracción de ADN	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
CONCLUSIÓN	25
LITERATURA CITADA	26
ANEXO 1	34

INDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Ciclo biológico de <i>Bactericera cockerelli</i>	3
2. Bacteria, <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> (CIFA. 2017)	10
3. Síntomas de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> en planta de tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>) (CABI, 2017b).....	12
4. Plantas de papa (<i>Solanum tuberosum</i>) afectadas por <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> , mostrando coloración purpura (CABI, 2017b).....	12
5. Zanahorias con síntomas de infección por <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> : enrollamiento y coloración púrpura de las hojas (CABI, 2017b).	13
6. Maceración de individuos cada una de las poblaciones de la zona de muestreo.	16
7. Formación de pastilla de ADN en el fondo del tubo eppendorff.	17
8. Gel de agarosa al 2% depositando cada una de las muestras en poso diferente	18
9. Cámara de electroforesis, retirando el gel de agarosa al 2% para llevarlo al transiluminador de luz ultravioleta, y observar los resultados de PCR.	18
10. Observación del gel de agarosa al 2% en luz ultravioleta.....	19
11. Productos de Amplificación de PCR en Gel de agarosa al 2%, positivos a <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	21

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Grupo de insecticidas para el control de <i>Bactericera cockerelli</i>	9
2. Sitios de muestreo de <i>Bactericera cockerelli</i> ; con presencia de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> y temperatura media anual, de acuerdo con la información disponible del Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática (INEGI) y estaciones del INIFAP.	20
3. Número de muestra de con resultados negativo y su respectiva temperatura, la cual indica que no hubo presencia de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> en poblaciones de <i>Bactericera cockerelli</i>	21

RESUMEN

El psilido *Bactericera cockerelli* se ha asociado a la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, que en los últimos años han afectado a una gran cantidad de cultivos, principalmente solanáceas, provocando un gran daño económico. El objetivo de esta investigación fue detectar la presencia de “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” en poblaciones de *Bactericera cockerelli* provenientes de diversos estados de la República Mexicana y su relación a la temperatura de cada una de las zonas de las muestras obtenidas, las cuales son provenientes de diferentes estados de la república mexicana: Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, San Luis Potosí, Nayarit, Nuevo León, Durango, Coahuila, Michoacán y Tamaulipas., La detección de *Candidatus Liberibacter solanacearum* se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con los iniciadores específicos Lso TX 16/23 F y Lso TX 16/23 R que amplifican una región conservada de 383pb entre el 16S y 23S del ADN ribosomal. De los 13 estados 12 resultaron positivos a la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum*. EL rango de temperaturas de las muestras positivas fue de los 14.4 °C hasta los 25.9 °C, encontrándose dentro del mismo rango las muestras negativas.

Palabras clave: *Bactericera cockerelli*, *Candidatus Liberibacter solanacearum*, Temperatura, Detección.

INTRODUCCIÓN

El psílido *Bactericera cockerelli* está ampliamente distribuido en la mayoría de las zonas agrícolas de México, este insecto se le conoce como pulgón saltador, está adaptado a climas templados no muy calurosos. Su desarrollo óptimo es de 27 °C., para ovoposición y supervivencia debe ser menor a 32 °C, cesando a temperaturas superiores (CIFA, 2017). Se alimenta de la sabia de las plantas hospederas, causando grandes daños directos e indirectos, siendo los indirectos los más perjudiciales, por la transmisión de bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (SFE, 2010).

Los antecedentes de *Bactericera cockerelli* en México, datan desde 1947 en los estados de Durango, Estado de México, Guanajuato, Michoacán y Tamaulipas causando un gran daño económico (Vega *et al.*, 2008).

En fechas recientes en regiones productoras de solanáceas y otras plantas en el mundo, se han registrado pérdidas por la presencia de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*, pero existen estudios que certifican que esta bacteria no tolera temperaturas altas. A 17 °C o menos, se ve afectada, ya que el desarrollo óptimo de la bacteria se encuentra entre los 27 °C y 32 °C. Esta bacteria y su sensibilidad al calor puede explicar la incidencia y la severidad de esta enfermedad y la distribución geográfica de la bacteria (CIFA, 2017). Con la idea de contribuir al conocimiento de esta enfermedad y su distribución, la presente investigación tuvo como objetivo, detectar la presencia de “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” en poblaciones de *Bactericera cockerelli* provenientes de diversos Estados de la República Mexicana y su relación con la temperatura de las zonas donde se presenta.

JUSTIFICACIÓN

Se desconoce la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* dispersada por *Bactericera cockerelli* en México y su comportamiento en relación con la temperatura media anual.

OBJETIVO

Detectar la presencia de “*Candidatus Liberibacter solanacearum*”, en poblaciones de *Bactericera cockerelli* provenientes de diversos estados de la República Mexicana, y su relación con la temperatura.

Objetivos Específicos

Detectar la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en individuos de *Bactericera cockerelli*.

Relacionar la presencia y/o ausencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en los insectos, con las temperaturas y cultivos características de la zona de captura.

HIPÓTESIS

La temperatura es un factor determinante en la presencia de las infecciones causadas por *Candidatus Liberibacter solanacearum* en solanáceas en México.

REVISIÓN DE LITERTURA

Bactericera cockerelli

Este insecto fue descubierto en 1990 en el estado de Colorado (Estados Unidos) por el investigador Cockerelli, y como reconocimiento se le denominó científicamente *Trioza cockerelli* pero más tarde se le cambió el nombre a *Bactericera (paratrioza) cockerelli* (Garzón, 2011).

Bactericera cockerelli tiene un aparato bucal tipo picador-chupador, que está armado con un estilete, formado por dos conductos semejantes a un par de popotes, uno para succionar y otro para expulsar (Garzón, 2011).

Bactericera cockerelli se reproduce sexualmente y pasa por los estados de huevecillo, ninfa (cinco estadios) y adulto. Es una plaga que se alimenta de la sabia de las plantas hospedadoras, la duración de su ciclo biológico es de 27 días (SAGARPA, 2014). Ocasiona diferentes tipos de daño, por su alimentación (Munyanza *et al.*, 2007), y puede ser un eficiente transmisor de organismos tipo bacteria como *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Liefting *et al.*, 2009), es el patógeno causante de la destrucción masiva de cultivos, por lo que para el manejo de esta enfermedad debe ser prioritario el control de *Bactericera cockerelli* orientado a disminuir sus elevadas poblaciones (Almeyda, 2008).

Ciclo Biológico

Huevo

Miden 0.42 mm de largo y 0.21 mm de ancho, son de forma ovoide, están sobre un pequeño pedicelo, su coloración varía del amarillo al anaranjado. Son depositados por separado en el envés de las hojas (Cortes, 2011).

Estadios Ninfales

Son de forma oval, aplanados dorso-ventralmente, con ojos bien definidos. Las antenas presentan estructuras circulares con función olfatoria, las cuales

aumentan en número y son más notorias, conforme el insecto alcanza los diferentes estadios. El perímetro del cuerpo presenta estructuras cilíndricas que contienen filamentos cerosos, los cuales forman un halo alrededor del cuerpo (Marín *et. al.*, 1995). Pasan por cinco instares.

Primer instar: Son de color naranja, tienen la cabeza y tórax fusionados, ojos rojos, antenas cortas y paquetes alares poco notables y patas con una uña; tienen poco movimiento.

Segundo instar: Se aprecian claramente las divisiones entre cabeza, tórax y abdomen. La cabeza presenta un matiz amarillento, las antenas son gruesas en su base y se estrechan hacia su parte apical presentando en ésta, dos setas censorsas. Los ojos de color anaranjado oscuro, el tórax de color verde-amarillento y los paquetes alares se hacen visibles; la segmentación en las patas se hace notoria, el tórax y abdomen incrementan su tamaño, con esto las diferentes estructuras contenidas en ellos. El abdomen presenta una coloración amarilla y se aprecia un par de espiráculos en cada uno de los cuatro primeros segmentos (Marín, 2002. Citado por Leyva, 2005).

Tercer instar: La segmentación entre cabeza, tórax y abdomen es notoria. La cabeza es de color amarilla y las antenas presentan las mismas características que el estadio anterior. Los ojos rojizos. El tórax es verde amarillento y se observan muy bien los paquetes alares en el mesotórax y metatórax. El abdomen es amarillento (Marín, 2004).

Cuarto instar: La segmentación entre la cabeza, tórax y abdomen está bien definida. La cabeza y el abdomen son de color verde claro y el tórax tiene una tonalidad más oscura. Las antenas están seccionadas en dos partes por una hendidura localizada cerca de la parte media, la parte basal es gruesa, los ojos son de color guinda, los tres pares de patas presentan segmentación bien definida, los paquetes alares están claramente diferenciados, abdomen semicircular con un par de espiráculos en cada uno de los cuatro primeros segmentos (Marín, 2004).

Quinto instar: La segmentación entre la cabeza, tórax y abdomen está bien definida; La cabeza y el abdomen son verde-claro, el tórax tiene una tonalidad más oscura, las antenas están seccionadas en dos partes por una hendidura localizada cerca de la parte media, los ojos son de color guinda. Tres pares de patas presentan segmentación bien definida, los paquetes alares están claramente diferenciados, abdomen semicircular con un par de espiráculos en cada uno de los cuatro primeros segmentos (Marín, 2004).

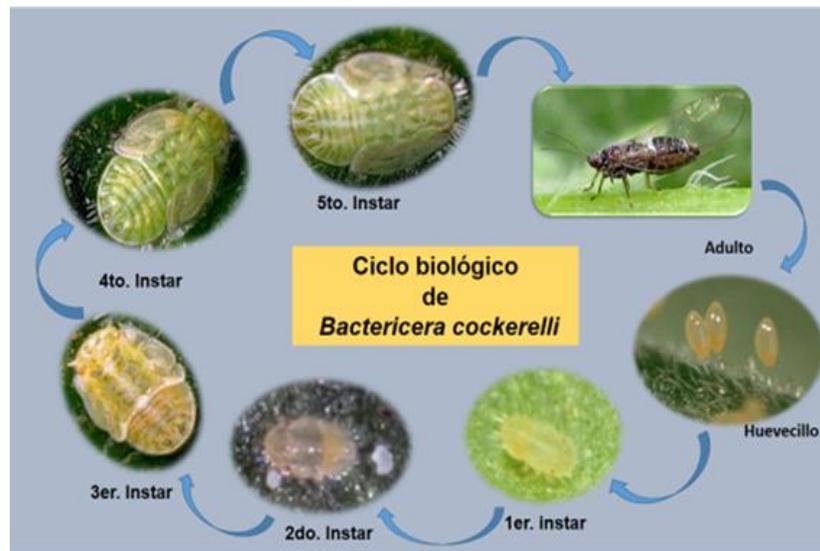


Figura 1. Ciclo biológico de *Bactericera cockerelli*.

Adulto

Al emerger el adulto presenta una coloración verde-amarillenta; es inactivo, alas blancas que, al paso de 3 o 4 horas, se tornan transparentes. La coloración del cuerpo pasa de ligeramente ámbar a café oscuro o negro. Cabeza: 1/10 del largo del cuerpo, con una mancha de color café que marca la división con el tórax, ojos grandes de color café y antenas filiformes; tórax: blanco amarillento con manchas café bien definidas, la longitud de las alas es aproximadamente 1.5 veces el largo del cuerpo; y venación propia de la familia. El abdomen en las hembras presenta cinco segmentos visibles más el segmento genital; éste es de forma cónica en vista lateral; en la parte media dorsal se presenta una mancha en forma de “Y” con los brazos hacia la parte terminal del abdomen. Los machos presentan seis segmentos visibles más el genital; este último segmento se encuentra plegado sobre la parte media dorsal del abdomen; al ver este insecto dorsalmente se distinguen las valvas genitales con estructuras en forma de pinza que caracteriza a este sexo (Marín, 2004). Las hembras ponen un promedio de 300-500 huevos durante su vida (INTAGRI, 2017b).

Requerimientos Climáticos

Bactericera cockerelli es un gran volador, este acostumbra a emigrar cuando aumenta la temperatura a principios de verano y puede sobrevivir en climas fríos e incluso puede llegar a reproducirse cuando la temperatura desciende. Existen estudios que indican que las ninfas pueden sobrevivir a -15 °C por periodos cortos de tiempo y a -10 °C durante 24 horas, sin embargo, este psílido parece estar adaptado a climas templados, y no muy calurosos. *Bactericera cockerelli* en su fase adulta, la temperatura mínima de desarrollo es de 7 °C alcanzando un desarrollo óptimo a los 27 °C. La ovoposición y supervivencia disminuye a 32 °C, la cual cesa a temperaturas superiores (CIFA, 2017; Seminis, 2017).

Clasificación Taxonómica

Dominio: Eukaryota

Reino: Metazoa

Filo: Arthropoda

Subfilo: Uniramia

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Suborden: Sternorrhyncha

Superfamilia: Psylloidea

Familia: Triozidae

Género: *Bactericera*

Especie: *Bactericera cockerelli*

(CABI, 2017a).

Distribución geográfica

La distribución de *Bactericera cockerelli* es muy amplia y diversos ejemplares han sido colectados en Norteamérica: Ontario, Quebec, Arizona, California, Colorado, Idaho, Kansas, Minnesota, Nebraska, Nevada, Nuevo México, Dakota Norte, Oklahoma, Dakota del Sur, Texas, Uta, Washington y Wyoming en Estados Unidos; Alberta Saskatchewan y Columbia Británica. Canadá lo reporta por primera vez como plaga de algunas solanáceas cultivadas como tomate, chile y berenjena (EPPO, 2013). En México, poblaciones de este insecto han sido reportadas en: Baja California Norte, Chihuahua, Coahuila, Guanajuato, Nuevo León, Sinaloa, Sonora, Tlaxcala, Distrito Federal, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas y Veracruz (Rojas, 2010; EPPO, 2013).

Al noroeste de México se ha reportado esta plaga, como plaga potencial en los cultivos de papa, en el Bajío y el Valle de Arista, S.L.P. y la Comarca Lagunera, también se tienen conocimiento de la presencia de esta plaga en el área tomatera de Morelos, región papera de Arteaga, Coahuila y área chilera de Delicias, Chihuahua, así como Nayarit, Jalisco, Baja California y Sinaloa (Nava *et al.*, 2006).

Bactericera cockerelli se ha reportado en América central en los países de Guatemala, Honduras y Nicaragua; en Oceanía: Nueva Zelanda en cultivos de papa, para Guatemala dentro de los lotes comerciales de papa se encontraron insectos en hospederos alternos en *Datura stramonium* (EPPO, 2013; FHIA, 2014).

Hospederos

Como plaga tiene una amplia gama de hospederos cultivados y silvestres, de las cuales ataca principalmente solanáceas, como chile (*Capsicum annuum* L), papa (*Solanum tuberosum* L), tomate (*Solanum lycopersicum* L), tomate de cascara (*Physalis isocarpa*) y berenjena (*Solanum melongena* L.), los cuales son preferidos por las hembras, para depositar sus huevecillos y desarrollar sus poblaciones (CIFA, 2017). Se considera que el ciclo biológico de este insecto no varía con los cultivos de papa y tomate; ya que el estado ninfal es más prolongado en aquellas plantas que no pertenecen a la familia de las solanáceas, Otras plantas hospederas son: tabaco nicotina (*Tabacum* L.), toluache (*Datura stramonium* L.), hierba mora (*Solanum nigrum* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.), trébol (*Trifolium spp.*), amaranto (*Amaranthus spp.*) y malva (*Malva spp.*) (Bujanos *et al.*, 2007).

El insecto puede hibernar como adulto en plantas coníferas o en alguna planta perene como la dulcamara (*Solanum dulcamara*) (CIFA, 2017).

Importancia Económica

Bactericera cockerelli es una de las plagas más importantes de solanáceas causando daños, no solo por la alimentación, sino que también por ser vector de enfermedades en papa y tomate, lo cual ocasiona pérdidas millonarias en estados Unidos de América, México y Centroamérica (Rojas, 2010).

En los últimos años los productores de papa, tomate y chile han sufrido grandes pérdidas, asociadas con la plaga *Bactericera cockerelli* (Munyanza *et al.*, 2009). El daño es debido a una bacteria que es transmitida por *Bactericera cockerelli* llamada *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Hansen *et al.*, 2008) (Munyanza *et al.*, 2007).

Daños

Bactericera cockerelli se asocia al patógeno que adquiere después de 15 minutos de estarse alimentando de plantas infectadas y lo trasmite con mayor efectividad después de dos horas de haberlo adquirido, teniendo un período de transmisión de 12 días. El estadio del psílido más eficiente para adquirirlo y transmitirlo es durante sus distintas etapas de ninfa hasta cuatro semanas después de la infección. La enfermedad se presenta en cualquier etapa de desarrollo del cultivo cuando hay fuente de inóculo y adultos de *Bactericera cockerelli* infectados con este patógeno. El periodo crítico de infección (período libre del patógeno necesario para evitar grandes mermas en la producción) de la enfermedad por la transmisión del vector es hasta que se tenga el sexto racimo de flores en el cultivo de tomate (INTAGRI, 2017a).

Directo: *Bactericera cockerelli* causa daños directos sobre la planta hospedante ya que las ninfas introducen el estilete hasta el floema, por uno de los conductos el insecto succiona la savia, mientras que por el otro inyecta toxinas (Rojas, 2010). En la que ocasiona amarillamiento y debilita las plantas, afectando el rendimiento y la calidad de frutos y tubérculos (SFE, 2010).

Indirecto: Se ha relacionado a *Bactericera cockerelli* con las enfermedades, sin embargo la importancia de los daños indirectos se debe a la transmisión de procariontes y fitoplasmas (Garzón *et al.*, 2005). *Bactericera cockerelli* está asociada con la transmisión de la enfermedad conocida como punta morada en papa y permanente del tomate, cuyo agente causal es un fitoplasma. En el cultivo de la papa se le relaciona con la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*, que afecta el rendimiento del tubérculo, al cual se le conoce como zebra chip (SFE, 2010).

Control de *Bactericera cockerelli*

El control comprende una serie de medidas para controlar o evitar la presencia de *Bactericera cockerelli* así mismo controlar los patógenos que transmite en los cultivos donde se presenta.

Para el manejo de paratíoxa se requiere establecer en campo trampas amarillas pegajosas para determinar la fluctuación de las poblaciones del adulto que son la fuente primaria de colonización del cultivo en campo. Las trampas se colocan en cada uno de los puntos cardinales, con una más ubicada en el centro del cultivo. Debe de existir al menos una trampa por hectárea. La revisión de las trampas se realiza semanalmente (Velázquez, 2015).

Cultural: Se recomienda la rotación de cultivos con plantas monocotiledóneas, como las gramíneas, además de otras prácticas de saneamiento (CAB, 2006).

Se sugiere el uso de acolchados para establecer el cultivo en campo y utilizar plásticos de color plata brillante para acolchar las plantas ya que éstos son repelen a los adultos de paratíoxa; con ésta medida se reduce el establecimiento del vector en el cultivo. Sin embargo, éste método de control pierde efectividad conforme se desarrolla el cultivo; especialmente después de tres a cuatro semanas después del trasplante (Velázquez, 2015).

Otra medida de control importante es la remoción de plantas silvestres como que se encuentren cerca de los sitios donde se vaya a trasplantar el cultivo, ya que éstas son fuentes tanto de la bacteria como del insecto vector (Ontiveros, 2012).

Control Biológico: Se basa en la utilización de microorganismos patógenos e insectos depredadores de los agentes causales de las enfermedades y de su vector. En este caso el control se dirige principalmente sobre el insecto vector *Bactericera cockerelli*.

Hongos entomopatógenos e Insectos entomopatógenos: *Beauveria bassiana* ataca al insecto en todas sus fases de desarrollo incluyendo huevecillos de *Bactericera cockerelli*; *Metarhizium anisopliae*. Ataca al insecto en su fase adulta; *Paecilomyces fumosoroseus*. Ataca adulto y ninfa. *Tamarixia triozae* es una avispa que deposita sus huevecillos en las ninfas de *Bactericera cockerelli* y ahí se desarrolla la larva del parasitoide. *Hippodamia convergens* y *Crysoperla ssp* (Intagri, 2016).

Control Químico: El principal control es la aplicación de insecticidas en los últimos años se han utilizado una gran variedad de insecticidas (Cuadro 1) dando resultados en el control de *Bactericera cockerelli* (OIRSA, 2016).

Cuadro 1. Grupo de insecticidas para el control de *Bactericera cockerelli*

Grupo y modo de acción	Subgrupo químico o Ingrediente activo
Inhibidores del acetil colinesterasa	Carbamatos
	Organofosforados
Antagonistas de los canales de cloruro GABA	Endosulfan
Moduladores de los canales de sodio	Piretroides
Antagonistas de los receptores de la acetilcolina	Neonicotinoides
Antagonistas de los receptores acetilcolina nicotínicos	Spinosinos (Spinosad)
Activadores de los canales de cloro	Avermectina

Mímicos de la hormona juvenil	Pyriproxyfen
Inhibidores de la biosíntesis de quitina	Buprofezin
Inhibidores de la síntesis de lípidos	Derivado ácido tetronico: Spiromesifen

Candidatus Liberibacter solanacearum

Descripción

Es una bacteria Gram- negativa restringida al floema de las plantas, la cual no puede ser cultivada. Esta bacteria tiene forma de varilla alargada de 0.2 µm de ancho y 4 µm de largo, El efecto de las condiciones medioambientales que afectan a *Candidatus Liberibacter solanacearum* no es muy conocido. Aunque existen diversos estudios que afirman que esta bacteria no tolera temperaturas altas. Se estima que a 17 °C o menos, se ve afectada y no impide el crecimiento de la planta, mientras que a 32 ° C, o más la bacteria se inhibe junto a los síntomas ocasionados por ésta. Por lo tanto, el desarrollo óptimo de la bacteria se encuentra entre 27 °C y 32 °C. La sensibilidad al calor puede explicar la incidencia y la severidad de esta enfermedad en las áreas productoras de papa y la distribución geográfica de esta bacteria (CIFA, 2017).



Figura 2. Bacteria, *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CIFA, 2017).

Clasificación Taxonómica:

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Alphaproteobacteria

Orden: Rhizobiales

Familia: phyllobacteriaceae

Género: *Candidatus* Liberibacter

Especie: *Candidatus* Lliberibacter solanacearum (CABI, 2017b).

Distribución Geográfica

Candidatus Liberibacter solanacearum se ha reportado en países de África como: (Marruecos, España, Islas Canarias), en Norteamérica (Canadá, Alberta) en Estados Unidos está (Arizona, California, Colorado, Idaho, Kansas, Montana, Nebraska Nevada, Nuevo México, Dakota del Norte, Oregón, Texas, Utah, Washington y Wyoming), América Central y el Caribe esta (el Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua), Europa (Finlandia, Francia, Países Bajos, Noruega, España, Suecia, Reino Unido), en los países de Oceanía (Nueva Zelanda. Australia) (CABI, 2017b; FAO, 2017).

Hospederos

Se asocia principalmente a especies de solanáceas, incluyendo papa (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), pimiento (*Capsicum annum*), berenjena (*Solanum melongena*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), tomatillo (*Physalis peruviana*), tomarillo (*Solanum betaceum*), especies de la familia *Convolvulaceae* como la batata (*Ipomoea batata*), especies de la familia *Laminaceae*, como la hierba buena (*Micromeria douglasii*) y la menta (*Mentha sp.*) así como varias

especies de malas hierbas de la familia de las solanáceas por ejemplo: (*Solanum dulcamara*, *Solanum nigrum*).

En países europeos se asocia a zanahoria (*Daucus carota*), apio (*Apium graveolens*), chirivía (*Pastinaca sativa*), perejil (*Petroselinum crispum*), hinojo (*Foeniculum búlgaro*), perifollo (*Antriscus crefolium*) y plantas como el aneldo (*Anethum graveolens*) y la alcaravea (*Carvum carvi*) (CIFA, 2017).



Figura 3. Síntomas de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en planta de tabaco (*Nicotiana tabacum*) (CABI, 2017b).



Figura 4. Plantas de papa (*Solanum tuberosum*) afectadas por *Candidatus Liberibacter solanacearum*, mostrando coloración purpura (CABI, 2017b).



Figura 5. Zanahorias con síntomas de infección por *Candidatus Liberibacter solanacearum*: enrollamiento y coloración púrpura de las hojas (CABI, 2017b).

Importancia Económica

El patógeno está asociado con algunas enfermedades de importancia económica en las principales zonas productoras de tomate, papa y chile en centro y Norteamérica (Melgoza, 2016).

Melgoza (2016) identificó en México a la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*, a partir de plantas que presentaron las características morfológicas de las enfermedades: permanente del tomate en tomate, punta morada de la papa o Zebra Chip en papa y clorosis de los brotes, en Chile en las principales regiones productoras de México donde el 60% de la producción de hortalizas se concentra en cultivos de tomate, papa y Chile y este es el principal factor que afecta la producción de dichas hortalizas.

Punta Morada de la papa, o Zebra chip.

En papa ocasiona síntomas como enrollamiento de las hojas hacia el haz, amarillamiento del follaje, entre nudos cortos, coloración púrpura del tejido joven, producción de tubérculos aéreos, reducción del tamaño del tubérculo y decoloración del mismo. En la parte interna de los tubérculos ocasiona un síntoma conocido como “Zebra chip” por el manchado similar a las rayas de una

cebra en la parte interna del tubérculo, los síntomas son mejor apreciados cuando se fríe la papa (SAGARPA, 2017).

Este daño lo causan solo las ninfas, debido a la inyección de toxinas, inducen síntomas en las hojas de las plantas de papa que se conoce como amarillamiento de la papa y que llega a causarle el manchado del tubérculo. En tomate, papa y chile. Los daños ocasionados por las ninfas pueden matar a las plantas si se establecen en las hojas antes de su floración. Las hojas son colonizadas por las ninfas. Se ha encontrado una actividad anormal tipo hormonas. Las plantas se ven amarillentas y raquíticas, con merma de rendimiento y tubérculos pequeños, de poca calidad comercial. Si las ninfas permanecen en la planta, también llegan a causar el manchado del tubérculo; no obstante, éste, como semilla, puede producir plantas normales si no fue infectado por el patógeno (Garzón, 2002).

Permanente del Tomate

El permanente del tomate, inicia con una clorosis de los bordes y un enrollamiento de las hojas inferiores que adquieren una estructura quebradiza, con un verde intenso y brillante, las flores se secan (aborto). Las plantas quedan achaparradas, más verdes de lo normal y finalmente se tornan amarillentas, secándose por fungosis en la raíz, causada por el debilitamiento de la planta y mayor susceptibilidad al ataque de otros patógenos (INTAGRI, 2017b).

Garzón en el año 1984 Y 1987, reportó la existencia de una enfermedad en Guanajuato a la cual nombró "permanente del tomate (PT), posteriormente él reportó que esta enfermedad era causada por un fitoplasma. Actualmente se conoce que es una bacteria que vive en el xilema de la planta. Las ninfas succionan los jugos de las plantas hospederas produciendo efectos tóxicos (fitotoxemia) e inyectando la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*. La enfermedad puede causar daños del 30 al 95% de plantas infectadas. Los síntomas inician con una clorosis en los bordes de los folíolos de la hoja apical, estos tienden a ser lanceolados y presentan epinastia. Las hojas que terminaron

su etapa de crecimiento adquieren una coloración verde oscura, de consistencia quebradiza, el crecimiento de los brotes jóvenes se inhiben, hay necrosis en el ovario y la flor es abortada. Las hojas de la base quedan enrolladas hacia el haz en forma de "cuchara" que con su achaparramiento característico le da el nombre a esa enfermedad, las hojas o brotes axilares pueden llegar a ser muy largos y el desarrollo de la fruta puede ser desigual (Liefting *et al.*, 2009).

Control de *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Control Genético: La genética de las plantas es un componente muy importante en el esquema de control integrado de plagas y enfermedades, puesto que en México ya existen programas de mejoramiento genético para obtener variedades que resistan la infección por la bacteria o que sean resistentes al ataque del insecto vector (Rubio, 2013).

Control Químico: El control de *Candidatus Liberibacter solanacearum* se enfoca en reducir las fuentes de inóculo, como el uso de plantas libres, remoción de plantas sintomáticas y el control químico del insecto para reducir la transmisión de la bacteria, o bien la aplicación de estreptomina pues su principal mecanismo de acción de la está vinculado al ribosoma 30S de la bacteria; cambia su forma e inhibe la síntesis de proteínas y provoca una lectura errónea del ARNm. Puede ser viable para el control de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Camacho *et al.*, 2015).

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del Experimento.

El experimento se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en el Departamento de Parasitología, en el Laboratorio de Toxicología.

Obtención de Material

El material biológico (*Bactericera cockerelli*) fue proporcionados por la Dra. Mariana Beltrán Beache.

Extracción de ADN

Se extrajo el ADN de *Bactericera cockerelli* de cada muestra de los diferentes sitios capturados, empleando el método descrito por Doyle y Doyle (1990).

La extracción de ADN se realizó macerando en un mortero estéril de 3-5 individuos de cada una de las poblaciones, agregando 200 μ L de buffer de lisis (EDTA pH 8.5, 50Mm; tris HCL pH 8. 100Nm; NaCL 50Mm; SDS 2%).

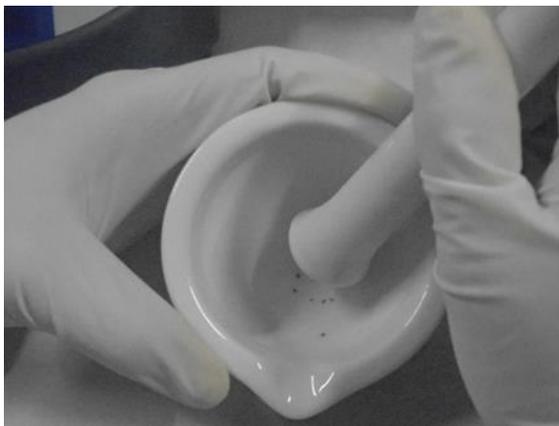


Figura 6. Maceración de individuos cada una de las poblaciones de la zona de muestreo.

El extracto se recuperó y se depositó en un tubo de eppendorff de 1.5 μ L, al cual se le adicionaron 200 μ l de cloroformo-alcohol isoamílico 24:1 mezclando en vortex durante 30 s.

La solución se centrifugó a 16 000rpm a temperatura ambiente por 15min. La fase superior de la muestra se recuperó en un nuevo tubo estéril al cual se le adicionaron 100µL de isopropanol frio con la finalidad de precipitar el ADN, y se incubó a 4°C durante 15min.

Pasado el tiempo la solución se centrifugo a 16 000rpm a temperatura ambiente durante 6min para formar una pastilla de ADN en el fondo del tubo. Se desechó el isopropanol por decantación y se le agregaron 200 µL etanol al 70% al ADN obtenido, se lavó la pastilla con inmersiones suaves, se desechó el etanol y se dejó secar a temperatura ambiente; finalmente se resuspendió la pastilla en 20µL agua estéril MiliQ. El ADN fue analizado por electroforesis en un gel de agarosa al 2% empleando 1µL de buffer de carga-Gel Red (Gen Script) y 3µL de muestra, en una cámara de electroforesis a 60V durante 1hra. 10min.

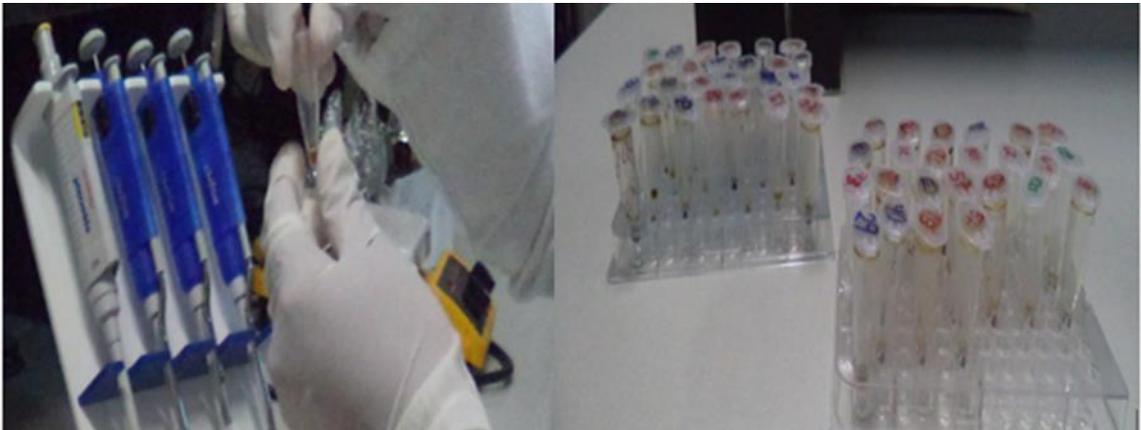


Figura 7. Formación de pastilla de ADN en el fondo del tubo eppendorff.

La detección de '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', se realizó mediante PCR de punto final, empleando los iniciadores Lso TX 16/23 F (5'-AATTTTAGCAAGTTCTAAGGG-3') y Lso TX 16/23 R (5'-GGTACCTCCCATATCGC-3'), que amplifican una región conservada de 383pb entre el 16S y 23S del ADN ribosomal (Ravindran *et al.*, 2011). La reacción de PCR se preparó con 4µL de Taq&Go™ Master mix (MP Biomedicals), 0.5 µL de cada iniciador a 10µM y 1µL de ADN, ajustando con agua un volumen final de

15µL. El programa de reacción fue, una temperatura inicial de 94°C durante 30s, temperatura media de alineamiento a 62 °C por 20s, y una extensión de 72 °C por 20s, con una extensión final de 72 °C por 10min, en un termociclador MaxyGene de la marca Axygene. Los resultados obtenidos se verificaron en un gel de agarosa al 2%, empleando como fluorógeno buffer de carga- Gel red (Gen Script). Los amplificados generados se secuenciaron en ambos sentidos (Macrogen, usa), las secuencias obtenidas se analizaron en el programa BLAST (NCBI).

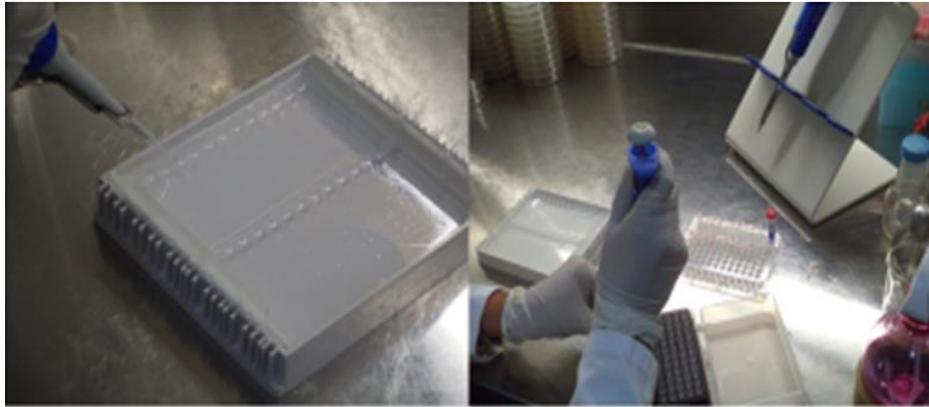


Figura 8. Gel de agarosa al 2% depositando cada una de las muestras en poso diferente.

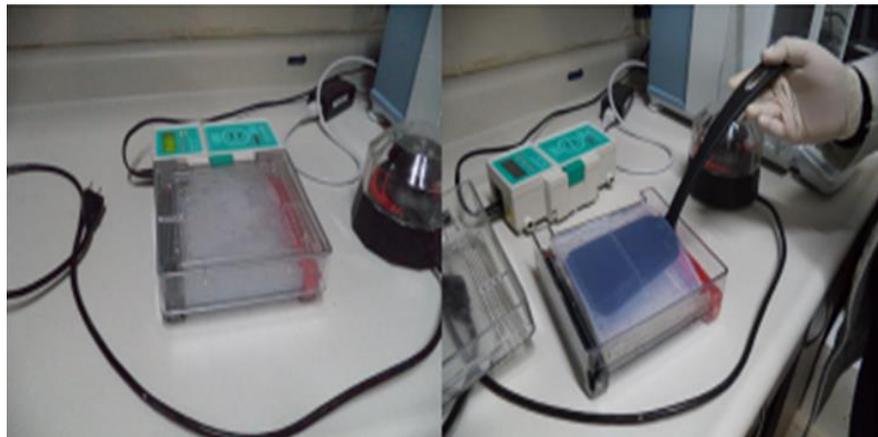


Figura 9. Cámara de electroforesis, retirando el gel de agarosa al 2% para llevarlo al transiluminador de luz ultravioleta, y observar los resultados de PCR.

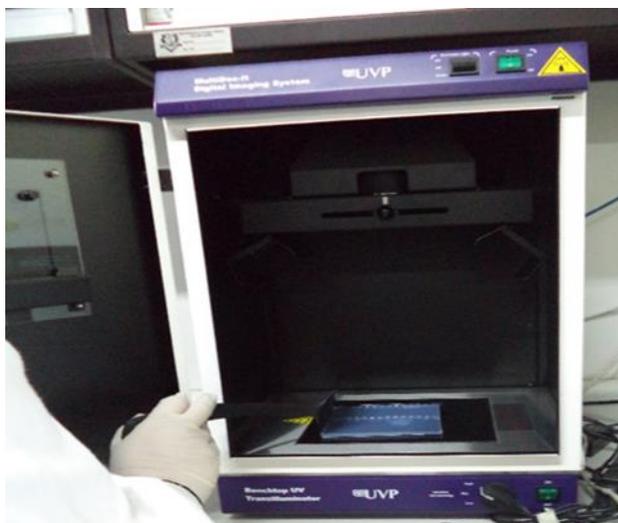


Figura 10. Observación del gel de agarosa al 2% en luz ultravioleta

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo un total 26 amplificaciones (Figura 11) de los sitios provenientes de Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, San Luis Potosí, Nayarit, Nuevo León, Durango, Michoacán, Coahuila y Tamaulipas (Cuadro 2). Las muestras secuenciadas por estado se identificaron como *Candidatus Liberibacter solanacearum* (ANEXO 1).

Cuadro 2. Sitios de muestreo de *Bactericera cockerelli*; con presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y temperatura media anual, de acuerdo con la información disponible del Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática (INEGI) y estaciones del INIFAP.

No. de Muestra	Estado	C. Liberibacter solanacearum	Temperatura media anual °C
1	Zacatecas	+	16.8
2	Aguascalientes	+	17.59
3	Jalisco	+	19
4	Jalisco	+	19
6	Aguascalientes	+	20
7	Aguascalientes	+	20
8	Guanajuato	+	19.2
9	Guanajuato	+	19.4
10	Guanajuato	+	19.2
11	Jalisco	+	21.7
12	Hidalgo	+	18
13	Hidalgo	+	16
14	Puebla	+	18
17	S.L.P	+	17.6
18	S.L.P	+	16.8
19	S.L.P	+	16.9
20	Zacatecas	+	17.1
21	Zacatecas	+	16
22	Zacatecas	+	16
23	Nayarit	+	23.8
24	Nuevo León	+	19
25	Nuevo León	+	19
26	Nuevo León	+	19
27	Durango	+	25.9
31	Michoacán	+	14.4
32	Coahuila	+	18

El resultado de PCR se observó un fragmento de 383pb (Figura 11) confirmando de esta manera la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

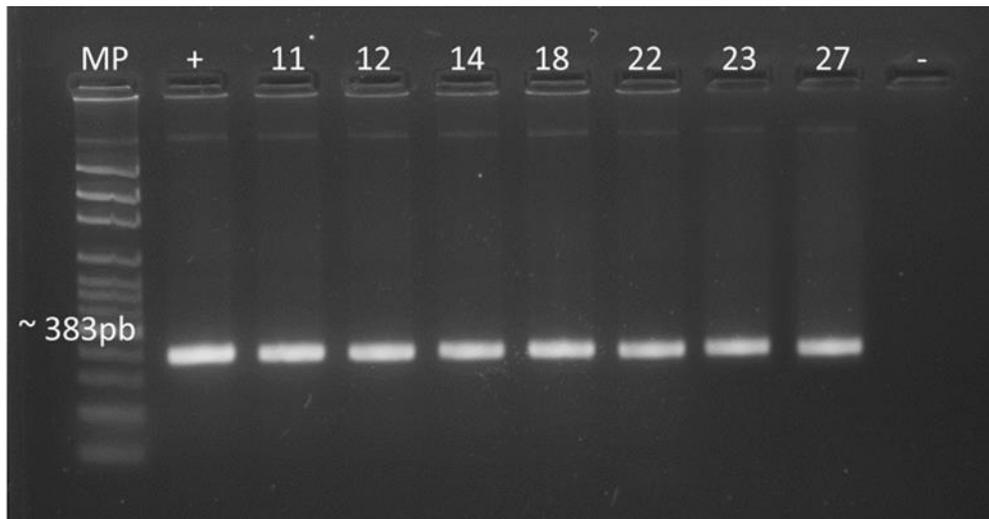


Figura 11. Productos de Amplificación de PCR en Gel de agarosa al 2%, positivos a *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

La prueba de (PCR) confirma la presencia de la bacteria en 26 muestras de las 33 muestras analizada, de los 13 estados de donde se obtuvieron las muestras, a excepción del estado de Tamaulipas con la muestra número 33 que indicó negativo (Cuadro 3).

Cuadro 3 Número de muestra de con resultados negativo y su respectiva temperatura, la cual indica que no hubo presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en poblaciones de *Bactericera cockerelli*.

No. De muestra	Estado	C. Liberibacter solanacearum	Temperatura media anual °C
5	Aguascalientes	-	20
15	Puebla	-	17.5
16	Puebla	-	17.5
28	Durango	-	24.5
29	Durango	-	17
30	Durango	-	17
33	Tamaulipas	-	21.5

La muestra 5, pertenece Aguascalientes, dando resultado negativo con una temperatura de 20°C. De las 3 muestras del estado de Puebla el núm. 15 y 16 fueron negativos, ambos con temperaturas de 17.5 °C, de las cuatro muestras del estado de Durango, la número 28 con temperatura de 24 °C, positiva a *Candidatus Liberibacter solanacearum*, mientras que las muestras 29 y 30 fueron negativas con temperaturas de 17 °C. La muestra 33 perteneciente al estado de Tamaulipas fue negativa, sitio donde la temperatura media anual es de 21.5 °C.

Gutiérrez *et al.* (2013) realizó una investigación de ubicación geográfica para determinar la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*), en cuatro municipios del Valle de Toluca. Dando como resultado la presencia de la bacteria en los municipios de Tenango del Valle, Zinacantepec y San José del Rincón, relacionando la presencia de la bacteria y altitud, latitud y longitud con su presencia en dicho lugar que va de 2857 a 3041 msnm en la superficie abarcando desde 19° 06' 30.63" a 19° 45' 11" latitud (N) y de 99° 39' 08.22" a 100° 09' 36.84" longitud (O).

Rubio *et al.*, (2006) recolectó un total de 71 muestras de plantas con síntomas de punta morada de la papa, de las principales regiones productoras del Valle de Toluca, los lugares fueron: Valle de Toluca, Estado de México; Arteaga, Coahuila; San Rafael, Nuevo León; Tapalpa, Jalisco; León, Guanajuato; Sierra de Emiliano Zapata, Tlaxcala y Navojoa Sonora, estos lugares presentaron temperatura media anual desde los 13.0 °C hasta los 25.1 °C, donde detectaron los fitoplasmas presentes en esta enfermedad. Mientras que Rubio *et al.*, (2011), detectaron la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en plantas de papa con síntomas de punta morada y brotes ahilados en la región papera del valle de Toluca, en sitios cuya temperatura media anual se presentó en un rango desde los 7.78 °C hasta los 13 °C

Por otra parte, Ontiveros (2012) recolectó material vegetal de papa y tomate, de los estados de San Luis Potosí y Nuevo León. En San Luis Potosí se muestrearon áreas sembradas con tomate en los municipios de Matehuala, Villa de

Guadalupe, Cedral y Venegas, durante el ciclo primavera - verano 2011 y en el estado de Nuevo León, se muestreo en el ciclo agrícola otoño- invierno en parcelas cultivadas de papa, en los ejidos el Tokio, Pocitos, San Rafael y San Joaquín. Se recolectaron un total de 20 muestras por lote para la identificación de la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum*. De todos los lugares muestreados solo en Cedral, Venegas de San Luis Potosí y Tokio del municipio de Galeana, Nuevo León, dieron resultados positivos. Mientras que los demás lugares resulto negativo, a la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

Los resultados confirman la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en las zonas estudiadas. La presencia de la bacteria en México es incierta, sin embargo la presencia del insecto vector *Bactericera cockerelli* se asocia con su desimanación y sus principales hospederos (Vega *et al.*, 2008)

Existen estudios donde afirman que las ninfas de *Bactericera cockerelli* pueden sobrevivir a -15°C en periodos cortos de tiempo y a -10°C que son temperaturas muy bajas durante 24 horas, las ninfas sobreviven, y al parecer está adaptado a climas templados no muy caluroso, ya que su ovoposición y supervivencia disminuye a 32 °C y a temperaturas superiores muere. Mientras que *Candidatus Liberibacter solanacearum* no tolera temperaturas altas, a 17 °C o menos se ve afectada, mientras que a 32 °C o más la bacteria se inhibe junto a los síntomas que provoca. Por lo que el desarrollo óptimo de esta bacteria se encuentra entre 27 °C y 32 °C (CIFA 2017). Rubio *et al.*, (2006) detectó la presencia de plantas con punta morada de la papa en un rango de temperaturas de los 13°C hasta 25.1 °C.

En base a los resultados positivos de las muestras, con presencia de la bacteria, están asociados a *Bactericera cockerelli* y la temperatura, ya que las temperaturas obtenidas coinciden con la literatura mencionada, de acuerdo a todas las temperaturas, excepto la muestra 1 y 31 con temperatura bajas de 16.8 °C y 14.4 °C de acuerdo a la literatura mencionada, ha habido presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* hasta en temperaturas de 13°C.

Por otra parte, existe la posibilidad de que el vector sobreviva a -15°C en periodos cortos y hasta -10°C , por lo que el vector porta la bacteria y hay presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, siendo capaz de transmitir la bacteria cuando se alimenta.

Relacionando la presencia y/o ausencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y cultivos característicos de la zona de captura. Se mencionan los principales cultivos de los 13 estados analizados los cuales son: Aguascalientes, Zacatecas, Guanajuato, Jalisco, Hidalgo, Puebla, Durango, Michoacán, San Luis Potosí los principales cultivos que se producen son solanáceas como son: chile, tomate verde, tomate rojo, berenjena; Para los estados de Coahuila y Nuevo León se produce: papa, chile, tomate, jitomate, en Tamaulipas produce tomate rojo y chile verde, y en Nayarit produce tabaco, (SAGARPA, 2016).

De acuerdo a los cultivos antes mencionados, con los lugares de captura de *Bactericera cockerelli* y la literatura mencionada se dice que existe una relación, entre los cultivos de solanáceas que es donde se ha reportado la presencia de dicho vector transmitiendo *Candidatus Liberibacter solanacearum* ya que los cultivos de chile, tomate, berenjena, papa, son principales hospederos de *Bactericera cockerelli* como de la bacteria.

CONCLUSIÓN

Se detectó la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en poblaciones de *Bactericera cockerelli*, en 12 de 13 estados de la república mexicana a través de la reacción de la cadena de polimerasa.

Candidatus Liberibacter solanacearum se detectó en sitios con temperaturas desde los 14.4 °C a 25.9 °C, temperaturas que favorecen el desarrollo y la presencia de dicha bacteria. Las muestras negativas a *Candidatus Liberibacter solanacearum* se encontraron dentro de este mismo rango de temperaturas, lo cual indica que, aunque estén presentes el vector y hospederos en la zona, indican que la ausencia de esta podría estar influenciada por otros factores, lo cual sugiere la necesidad de un estudio más detallado acerca de los factores que favorecen la entrada y establecimiento de la bacteria en territorio nacional.

LITERATURA CITADA

- Almeyda L. I. H., Sánchez, J. A y Garzón T. J. A. Vectores causante de punta morada de la papa en Coahuila y Nuevo León, México. Agric. Tec. Mex. (2008).34: 141-150.
- Becerra A., F. (1989). Biología de *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) y su relación con la enfermedad “Permanente del tomate” en el Bajío. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro, Ciencias Químicas. p.55
- Bujanos M.R., J.A. Garzón T. y A. Marín J. (2007). Manejo Integrado del pulgón saltador *Bactericera (=Paratrioza) cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Psyllidae) en los cultivos de solanáceas en México. En: Maldonado N., L.A., G.A. Fierros, L. y P.F. Ortega M... (Eds.). Conferencias sobre paratrioza, virosis y mercados en hortalizas. Memoria Técnica No. 3. SAGARPA-INIFAP. pp. 5-21.
- CABI (2015) “*Candidatus Liberibacter solanacearum*”. En línea: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/109434>.
- CABI (2016) *Bactericera cockerelli* (tomato/potato psyllid). Consulta 10 Febrero 2017 En línea: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/45643>
- CABI (2017b) “*Candidatus Liberibacter solanacearum* (Chip de cebra)”. Consulta 20 Agosto. En línea : <http://www.cabi.org/isc/datasheet/109434>
- CABI (2017a) *Bactericera cockerelli*. (Psyllid de tomate y patata). Consulta 22 Septiembre 2017. En línea: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/45643>
- Camacho T. M., Rojas M. R. I; Rebollar A. A., Aranda O. S., Suárez E.J (2015) Programa de Fitopatología. Aspectos biológicos, ecológicos, epidemiológicos y manejo de *Candidatus Liberibacter*. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco. Universidad Autónoma Chapingo.

- CIFA. (2017) Centro de Investigación y Formación Agraria. Programa nacional para la aplicación de la normativa fitosanitaria., “Plan de Contingencia *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso)” gobierno del estado de España.
- Cortes M. E. (2011) Capacitación en el Manejo y Control de Zebra Chip (*Candidatus Liberibacter solanacearum*) y su Vector el psílido de la papa (*Bactericera cockerelli*), INIFAP- 1C.E. Valle del Fuerte. Ministerio Agropecuario y Forestal Estelí, Nicaragua del 27 al 29 de julio de 2011. Doyle, j.; Doyle, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, Gaithesburg, v. 12, p. 13-15, 1990.
- EPPO (2013) Hojas de Datos de EPPO sobre plagas se recomiendan para la regulación Fichas Informativas sur les organismes recommandés vierten réglementation., '*Candidatus Liberibacter solanacearum*'. Publicado por primera vez: 16 de julio de 2013 DOI: 10.1111 / epp.12043. Volumen 43, número 2 de agosto de 2013, paginas 197- 201.
- FAO (2017) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Detection of *Bactericera cockerelli* (Tomato-potato psyllid) in Western Australia. Australia.
- Ferguson. G., E. Banks and F. Hannah. (2001). Potato Psyllid A new pest in Green house tomatoes and peppers. OMAFRA. En línea: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops> diciembre 2016.
- Garzón T. J. A. (2002). El “pulgón saltador” o la paratrioza, una amenaza para la horticultura de Sinaloa. Memoria de Taller sobre *Paratrioza cockerelli* Sulc. Como plaga y vector de fitoplasmas en hortalizas. Culiacán, Sinaloa, México. 100 p.
- Garzón T. J. A., Garzón C. J. A., Velarde Félix. S., Marín J A., Cárdenas V. O. G., (2005) “Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al permanente del

tomate por el psílido *Bactericera cockerelli* sulc en México”. Entomología Mexicana, 4:672-674

Garzón T. J. A., Cárdenas V. O. G, Bujanos M. R., Marín. J. A., Becerra F. A., Velarde F. S., Reyes M. C, González C. M y Martínez C. J. L., (2009) “Asociación de Hemiptera: Triozidae con la enfermedad 'permanente del tomate' en México” Valle de Culiacán, INIFAP, carretera Culiacán–El Dorado, km 16.5, Culiacán, Sinaloa, México. Agric. Téc. Méx vol.35 no.1.

Garzón T. J. A. (2011) Daños causados por Paratrioza (*Bactericera*) *cockerelli* Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Sinaloa. México. En línea: <http://www.horticultivos.com/789/danos-causados-por-paratrioza-bactericera-cockerelli/>.

Gutiérrez I. A. T., Sánchez P. J. R., Laguna C. A., Ramírez D. J. F., Balbuena M. A., Alvarado G. O. G. (2013) “Detección de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y fitoplasmas en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) En el Valle de Toluca” Facultad de Ciencias Agrícolas, UAEMex, Campus Universitario Toluca-Ixtlahuaca, Km. 15 entronque al Cerrillo Toluca, Edo. De México CP 50200.

Hansen A.K., J.T. Tremble R. Stouthamer, and T.D. Paine (2008). A new Huanglongbing (HLB) species, *Candidatus Liberibacter psyllauros*, found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (sulc). Appl environ. Microbiol. 74:5862- 5865.

INEGI Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática 2010-2016 “Datos básicos de la Geografía de México”.

INTAGRI (2017 b) Enfermedad del Permanente del Tomate. Consulta 02 Septiembre. En línea: <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/la-enfermedad-del-permanente-del-tomate>.

INTAGRI (2017a) Manejo Integrado de Paratrioza (*Bactericera cockerelli*) Celaya Guanajuato México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales,

Agrícolas y Pecuarias Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina Delegación Coyoacán. Primera edición. Diciembre 2016.

- Leyva Z. R. (2005) Tesis Evaluación de Insecticidas de Origen Orgánico sobre *Bactericera cockerelli* (Sulc) en Tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Liefting L. W., Sutherland, P.W., Ward, L. I., Paice, K. L., Weir, B. S., Clover, G. R. G. (2009) a. A new, "*Candidatus Liberibacter*" species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93 (3): 208-214.
- Marín J. A., Garzón, T. J. A., Becerra, F. A., Mejía, A. C.; Bujanos, M. R., Byerly, M. K. F., 1995. "Ciclo Biológico y Morfología del Salerillo *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) (Homoptera: Psyllidae) vector de la enfermedad permanente del jitomate en el Bajío". *Catie, Manejo Integrado de Plagas, Revista Técnica* No. 38, 25-32p.
- Marín J.A. 2004. Biología, ecología e identificación de insectos vectores en el cultivo de papa. Memoria de la XXI Semana Internacional del Parasitólogo; Simposium Punta Morada de la Papa, Saltillo, Coahuila, México. Pp 84-96
- Melgoza V. C. M., Garzón-T. J. A., Barajas-O. M., Hernández-P. J., Iñiguez-T. K. y León-S. C. del R. 2016. "Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en plantas de tomate, papa y chile en las principales regiones productoras de México" Universidad Autónoma de Sinaloa. Doctorado en Biotecnología Programa Regional del Noroeste de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas.
- Munyaneza J. E., Crosslin, J. M. and Upton, J. E. (2007a). Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "Zebra Chip," a new potato disease in Southwestern United States and México. *J. Econ. Entomol.* 100: 656-63. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17598522>

- Munyaneza J. E., Goolsby, J. A., Crosslin, J. M. and Upton, J. E. 2007b. Evidence that Zebra Chip Potato Disease in the Lower Rio Grande Valley of Texas is Associated with *Bactericera cockerelli*. *Subtropical Plant Science*, 59:30-37.
- Munyaneza J. E. Sengoda VG, Crosslin JM, De la Rosa-Lozano G y Sánchez A (2009 b) Primer informe de 'Candidatus Liberibacter psyllaourous' en tubérculos de patata con enfermedad chip de cebrá en México. *Plant Disease*. 93, 552.
- Nava C. U., J. Matos-Buendía y M. C. Avilés-González. (2006). "Disposición espacial y elaboración de planes de muestreo del psílido del tomate, *Bactericera* (=Paratrioza) *cockerelli* (Sulc.)".
- OIRSA (2016). Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria México, Guatemala, Belice, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, República Dominicana, El psílido de la papa y tomate. *Bactericera* (=Paratrioza) *cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae): Ciclo Biológico; la relación con las enfermedades de las plantas y la estrategia del manejo integrado de plagas en la región del OIRSA.
- Ontiveros G. G. (2012). Detección de 'Candidatus Liberibacter solanacearum' en papa y tomate en los estados de Nuevo León y San Luis Potosí, México, Maestro en Ciencias con Especialidad en Producción Agrícola, Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Agronomía.
- Ravindran A., Levy P. E., and Gross, D.C (2011). Development of primers for improved PCR detection of de potato zebra chip patogen, *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Department of Plant Pathology and Microbiology, Julien Levy and Elizabeth Pierson, Department of Horticultural Sciences, and Dennis C. Gross, Department of Plant Pathology and Microbiology, Texas A&M University, College Station 77843 *Plant Dis*. 95:1542-1546.
- Rojas R. P. (2010) Tesis colegio de posgraduados institución de enseñanza en investigación en ciencias agrícolas campus montecillo postgrado de

Fitosanidad entomología y acarología: “Biología de *Tamarixia triozade* (Burks) (Himenóptera: eulophidae) parasitoide de *Bactericera cockerelli* (Sulk) (Hemiptera: triozidae).

Rubio C. O. A., Almeyda. L. I. H., Ireta. M. J., Sánchez, S. J. A., Fernández S. R., Borbón S. J.T., Díaz H. C., Garzón T. J. A., Rocha R. R., Y Cadena H. M. A. (2006) “Distribución de la Punta Morada Y *Bactericera cockerelli* sulc. En las principales zonas productoras de papa en México” 202 Agric. Tec. Mex. Vol. 32 Núm. 2.

Rubio C. O. A., Almeyda, L. I. H., Cadena, H. M., Lobato, S. R. (2011) Relación entre *Bactericera cockerelli* y presencia de *Candidatus Liberibacter psyllauros* en lotes comerciales de papa. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.2 Núm.1. p. 17-28.

Rubio C. O. A., Cadena H., M. A., Vázquez C., M. G. 2013. Manejo integrado de la punta morada de la papa en el Estado de México. Folleto Técnico Núm. 2. INIFAP-CIRCE. Campo Experimental Valle de México. Sitio Experimental Metepec Manejo integrado de la punta morada de la papa en el Estado de México.

SAGARPA (2014) Secretaria de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Campaña Manejo Fitosanitario del Jitomate “Manejo Integrado de la Paratrioza” (*Bactericera cockerelli Sulc*). En línea: www.cesavem.org

SAGARPA (2017) Secretaria de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Zebra chip (*Candidatus Liberibacter solanacearum*). Programa de vigilancia epidemiológica fitosanitaria. Consulta 23 Septiembre 2017. en línea: www.cesaveg.mx/html/follrtos/folletos_11/trip.zebra_chip.pdet.

SFE. (2010) Servicio Fitosanitario del Estado de Costa Rica “Desarrollo de Plan de Acción ante la Cercanía de la Paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc.)”.

Seminis (2017) innovación y experiencia “¿Qué es paratrioza o pulgón saltador?”.

En línea: <http://www.seminis.mx/blog-que-es-la-paratrioza-pulgon-saltador/>.

Vega G. M.T., Rodríguez M.J.C., Díaz, G.M.O., Bujanos M.R., Mota S.D., Martínez C.J.L., Lagunés, T.A., Garzón T.J.A., (2008).”Susceptibilidad a insecticidas en dos Poblaciones Mexicanas de Salerillo. *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: triozidae). *Agrociencia*, 42::463-471

Velázquez V. R., Reveles T. L. A., Mena C. (2015), “Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en chile para secado en Durango, México” INIFAP.

ANEXO

|

ANEXO 1

Secuencia y resultado de la comparación de secuencias obtenidas con los iniciadores Lso TX F y Lso TX R con las secuencias disponibles en la base de datos del NCBI.

> Isolated secence16S-23S ribosomal RNA. 384pb

AATTTTAGCAAGTTCTAAGGGATCGCCGTCCATGTTTCTCTTTCTTTTTGAAT
AATTTTGCGGTTGATGGGGTCATTTGAGTTTATGTTAAGGGCCCATAGCTC
AGGCGGTTAGAGTGCACCCCTGATAAGGGTGAGGTCGGTAGTTCTGAATCT
ACCTGGGCCCACCATTCAATCAGGCAAGGGGCCGTAGCTCAGCTGGGAGA
GCGCCTGCTTTGCAAGCAGGATGTCAGCGGTTTCGATCCCGCTCGGCTCCA
CCAATTGCGAATTTATAGTTTTTTTTGTTCTAGGGGATTTTTTTTTTAGAGCAAT
AGTTTTTTGAAAATTGAATAGAAGGTAGATTTTTTTGTATTTTTTCATATTGGC
ATTGTATGCGATATGGGAGGTACC.

No. De acceso NCBI	Cobertura	Similaridad
KX431890.1	99%	99%
KX431889.1	99%	99%
EU935004.1	99%	99%
EU812559.1	99%	99%
EU812558.1	99%	99%