

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**



**Evaluación de Tejidos Vasculares de Cortes de Pecíolos de Papa
(*Solanum tuberosum* L.) Afectados por los Agentes Bióticos *F.*
oxysporum, *V. dahliae* y *B. cockerelli* en el complejo punta morada.**

Por:

CLEMENTE ANTONIO TUCUCH CAUICH

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Abril del 2007

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

Evaluación de Tejidos Vasculares de Cortes de Pecíolos de Papa (*Solanum tuberosum* L.) Afectados por los Agentes Bióticos *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *B. cockerelli* en el complejo punta morada.

Presentado por:

CLEMENTE ANTONIO TUCUCH CAUICH

TESIS

**Que Somete a Consideración del H. Jurado Examinador Como Requisito Parcial
Para Obtener el Título de :**

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

Aprobada por:

**Dr. Alberto Flores Olivas
Presidente del Jurado**

Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Sinodal

M.C. Roberto Carlos Moctezuma Gutiérrez

Sinodal

M.C. Francisca Ramírez Godina

Sinodal

M.C. Arnoldo Oyervides García

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Abril del 2007.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente:

A la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” mi “ALMA TERRA MATER” por brindarme la formación profesional en sus aulas del conocimiento.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza, por el apoyo, comprensión, paciencia, amistad y disposición para la realización de este trabajo de investigación.

Al M.C. Roberto Carlos Moctezuma Gutiérrez, que durante gran parte de mi estancia en la universidad me dedicó el tiempo, comprensión además de invitarme a formar parte de este proyecto y por el valioso tiempo concedido durante la revisión de la tesis.

Al Dr. Alberto Flores Olivas por dejarme trabajar bajo su tutela y por los conocimientos que como efecto me ha transmitido.

A la M. C. Francisca Ramírez Godina, por el apoyo, revisión y sugerencias para este trabajo de investigación.

A la laboratorista Leticia Portos por su asesoría y paciencia que me brindó y hacerme menos laborioso el trabajo de laboratorio.

A todos mis compañeros de generación y de casa, a las vecinas de a lado a Oscar Mateos y familia también a Carlos Tucuch y su familia por su apoyo y amistad brindado durante mi estancia en Saltillo y a todas aquellas personas que de una u otra forma participaron en mi formación profesional

DEDICATORIA

A Dios por darme sus bendiciones y fuerzas para lograr una meta más en mi vida y la voluntad de esforzarme más día con día.

A mis padres:

ALICIA MARIA CAUICH OROZCO
EUGENIO CLEMENTE TUCUCH VARGAS

Por apoyarme en cada etapa de mi vida, darme la confianza necesaria de creer en mí y por todos los momentos felices que he pasado a su lado...

Mamá!.. Papá!...

.....este trabajo se los dedico agradeciéndoles todos esos momentos que han pasado esforzándose para que yo pueda concluir mis estudios que dios los bendiga siempre.

A mis abuelos: Eufrasia Vargas y Camilo Tucuch, que siempre estuvieron pendiente de mí

A mis hermanas: Nayeli y Gladis Edith

A mi sobrina: Karen Estefani que me ha dado momentos de alegría cuando estoy con ella.

A mi cuñado, mis tíos (as), primos (as) por su apoyo moral y consejos que en todo momento me brindaron y que han estado presentes cuando los he necesitado y a todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron a mi formaron profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS	III
DEDICATORIA	IV
ÍNDICE DE CUADRO	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
INTRODUCCIÓN	1
Justificación.....	3
Objetivo.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Origen y Distribución del Cultivo de la Papa.....	4
Ubicación Taxonómica.....	5
Importancia del Cultivo.....	5
Importancia Mundial.....	5
Importancia Nacional.....	7
Enfermedades de la Papa.....	7
Punta Morada de la Papa	8
Importancia Económica.....	8
Agente Causal.....	9
Algas Fitopatógenas.....	10
Hongos.....	10
Virus.....	10
Fitoplasmas.....	11
Morfología.....	12
Sintomatología de Punta Morada.....	13
Mecanismos de Transmisión de punta Morada	14
Transmisión por Semilla.....	14

Transmisión por Insectos Vectores.....	15
Transmisión por Injerto.....	19
Control de la Punta Morada de la Papa.....	19
Hospederos.....	20
Control del Vector.....	20
Los hongos <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Verticillium dahliae</i>.....	21
Importancia de <i>F. Oxysporum</i> Schlecht.....	21
Descripción y Características del Patógeno.....	21
Ubicación Taxonómica.....	22
Sintomatología.....	22
Ciclo Biológico de <i>F. oxysporum</i>	23
Distribución y Gama de Hospederos.....	24
Importancia de <i>V. dahliae</i> Kleb.....	25
Descripción y Características Morfológicas del Patógeno.....	26
Sintomatología.....	26
Ciclo Patológico de <i>V. dahliae</i>	27
Distribución y Gama de Hospederos.....	28
Sistema vascular.....	29
Estructura de Pecíolo.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
Material vegetativo.....	31
Establecimiento de camas.....	31
Fecha de Siembra.....	31
Obtención e incremento de patógenos.....	32
Preparación del Inóculo.....	32
Inoculación de los Hongos <i>F. oxysporum</i> y <i>V. dahliae</i>	32
Obtención del insecto <i>bactericera cockerelli</i>	32
Establecimiento del Experimento.....	33
Variables a Evaluar.....	34

Metodología Histológica	34
Fijación de Muestra.....	34
Deshidratación.....	35
Infiltración de Muestras.....	35
Inclusión de Muestras.....	35
Cortes en el Micrótomó.....	35
Fijación de los Cortes en el Portaobjetos.....	36
Coloración de Cortes de Tejido.....	36
Análisis de Muestras para Fotografía.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	48
LITERATURA CITADA	49

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Página
1	Relación de Tratamientos en las que se inoculó a <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Verticillium dahliae</i> e infestadas con el insecto <i>Bactericera cockerelli</i>33
2	Procedimiento de tinción con Safranina-fast green de tejidos de plantas de papa infectadas con <i>F. oxysporum</i> , <i>V. dahliae</i> e infectadas con <i>B. cockerelli</i>37
3	Comparación de tejidos vasculares en tamaño, forma y número, en días después de la inoculación (ddi), A primer corte, B segundo corte, C tercer corte, Fu, A, 36 ddi; B, 48 ddi; C 81 ddi; para el Fi, A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; para Fi + Fu, A, 36ddi; B, 48 ddi; C, 81ddi, y para Fu+ Ve, A 36 ddi, B, 48 ddi, C 81ddi.....47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1	Microfotografías de los cortes de pecíolos de papa a 10x inoculadas con el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> en tres diferentes fechas de muestreo en días después de la inoculación (ddi), las de arriba agrupa a las fotografías inoculadas con el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; los de abajo D, E, F, corresponden a los testigos sin tratar en las mismas fechas corte a las de la inoculación.....40
2	Microfotografías de los cortes de pecíolos de papa a 10x infestadas con el insecto <i>B. cockerelli</i> en tres diferentes fechas de muestreo en días después de la inoculación (ddi), las de arriba agrupa a las fotografías infestadas con el insecto <i>B. cockerelli</i> A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; los de abajo D, E, F, corresponden a los testigos sin tratar en las mismas fechas de corte a las de la inoculación.....42
3	Microfotografías de los cortes de pecíolos de papa a 10x infestadas con el insecto <i>B. cockerelli</i> e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> en tres diferentes fechas de muestreo en días después de la inoculación (ddi), las de arriba agrupa a las fotografías infestadas con el insecto <i>B. cockerelli</i> e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; los de abajo D, E, F, corresponden a los testigos sin tratar en las mismas fechas de corte a las de la inoculación.....44
4	Microfotografías de los cortes de pecíolos de papa a 10x inoculadas con el hongo <i>F. oxysporum</i> y <i>V. dahliae</i> en tres diferentes fechas de muestreo en días después de la inoculación (ddi), las de arriba agrupa a las fotografías inoculadas con el hongo <i>F. oxysporum</i> y <i>V. dahliae</i> A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; los de abajo D, E, F, corresponden a los testigos sin tratar en las mismas fechas de corte a las de la inoculación.....46

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa ocupa el cuarto lugar en producción a nivel mundial, siendo superada únicamente por el trigo, arroz y maíz. La importancia de este no sólo radica en la superficie cultivada, sino también en la producción de carbohidratos que aporta a la alimentación humana. En México dos hechos definen su importancia: el valor alimenticio y los excelentes ingresos derivados de su comercialización, aspectos que se reflejan en una explotación creciente en los últimos años (Rascon, 1999).

En México existen varias regiones agrícolas donde se cultiva este tubérculo. La producción nacional para el año 2002 fue de 1, 221, 983 Ton, siendo las principales estados productores (en porcentaje): Sinaloa 24, Sonora 14, Chihuahua 13, Nuevo León 13, Guanajuato 9, Veracruz 7, México 6, Jalisco 6 y Coahuila 5. Es este ultimo estado se reporta una producción 52, 266 Ton, en el año 2002. (SAGARPA).

En los últimos años el cultivo de la papa ha sido afectado, entre otras, por las enfermedades conocidas como punta morada y brote de hilo; ambas están relacionadas entre sí, pero asociadas a diferentes etapas del cultivo. En México la punta morada ha sido catalogada como la segunda enfermedad de mayor importancia (sólo después del tizón tardío) de la papa (Marínez et al, citado por Salas, 2006).

Durante los años 2003 y 2004, la incidencia de esta enfermedad se incrementó considerablemente, llegando al 100 por ciento en algunas áreas productoras de papa, como ocurrió en la región sur de Coahuila y Nuevo León donde las pérdidas fueron millonarias, ya que el rendimiento se redujo hasta en un 90 por ciento en algunos lotes, con pérdidas hasta del 100 por ciento ya que los tubérculos sufrieron un manchado interno por lo que perdieron su valor comercial. (Flores et al; 2004).

La punta morada se considera que es ocasionado por varios agentes, entre los cuales se encuentran fitoplasmas; este síndrome, disminuye la calidad de los tubérculos al inducir acumulación de metabolitos, ocasionándoles un manchado interno que los

hace inadecuados para la industria. Las fitoplasmas son bacterias pleomórficas sin pared celular transmitidos por insectos del Orden Hemiptera, entre los que se encuentran insectos de la familia Cicadellidae (*Auchenorrhyncha*) y Psyllidae (*Sternorrhyncha*), (Cadena, 1996; Triplehorn y Jonson, 2005).

Richards (1928), determinó que la enfermedad conocida como “amarillamiento de la papa” tiene como vector al psílido *Bactericerca (Paratrioza) cockerelli* (Sulc).

Richards y Blood (1933), señalaron que la enfermedad esta asociada con los procesos de alimentación de las ninfas; por otro lado las chicharritas son vectores importantes que pueden transmitir hasta 40 virus distintos pertenecientes a las familias *Rhabdoviridae* y *Reoviridae*, además de un grupo de geminivirus; también han sido reportados como vectores de fitoplasmas. Los géneros más importantes son *Empoasca*, *Dalbulus* y *Dicrella* (Harris, citado por Ruiz, 1994; Metcalf y Flint, 1984).

Sin embargo se ha demostrado que en los síntomas de la punta morada se encuentran involucrados otros agentes bióticos y abióticos que interactúan con la planta para la expresión de los síntomas; de los principales agentes que intervienen podemos citar, temperaturas, nutrición y hongos fitopatógenos del suelo, dentro de los cuales podemos citar a *Fusarium oxysporum* y *Verticillium dahliae* (Moctezuma 2005).

Debido a que punta morada constituye un problema en las regiones productoras de papa, y no se ha definido claramente lo que ocasiona esta enfermedad se realizó el presente trabajo con la finalidad de contribuir a identificar los cambios anatómicos provocados por la enfermedad en la fisiología vascular de la planta de papa.

JUSTIFICACIÓN

En nuestro país, el cultivo de la papa representa una importante fuente de ingresos económicos y alimentación, en últimos años se esta viendo afectada por la enfermedad de “punta morada” por lo que se realizó el presente trabajo teniendo como base el problema que ha causado la enfermedad de punta morada, para conocer la estructura de los tejidos vasculares que esta siendo dañada.

OBJETIVO

Observación de tejidos de planta de papa y determinar el grado de afectación de los haces vasculares por los diferentes agentes bióticos: *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* y el insecto *Bactericera cockerelli*.

HIPÓTESIS

Los hongos *Fusarium oxysporum* y *Verticillium dahliae* son causantes de la ruptura y desordenamiento de los tejidos vasculares al igual que el insecto *Bactericera cockerelli*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen y Distribución del Cultivo de la Papa

La papa es conocida en América desde hace 10,500 años (Ángel, citado por Montaldo, 1984). Su domesticación y cultivo ocurrió en fecha posterior, lo cierto es que en este continente surgieron dos pueblos cuya alimentación básica fue la papa; los Colla (Acosta, citado por Montaldo, 1984), que habitaban los altiplanos junto al lago Titicaca (Cultura Tiahuanacu), y los Araucanos que vivían al sur del río Bio-Bio, Chile (Medina, citado por Montaldo, 1984).

Cañas, 1984, (citado por Montaldo, 1984), afirma: “Después de constantes investigaciones, en las provincias de Concepción, Arauco, Malleco, Cautín, Llanquihue y Chiloé, que la papa ha nacido en los bosques del sur de Chile, de este lugar era extraída por los aborígenes para su alimentación diaria, fue encontrada por los conquistadores, y actualmente se encuentra de forma silvestre; debido a que en estas regiones no han sido modificadas las condiciones de clima, y suelo, bajo las cuales tuvo su origen”.

Hawkes (citado por Montaldo, 1984), manifiesta que la región del lago Titicaca es el centro de origen de la papa cultivada porque existe en este lugar gran número de especies, lo mismo que variedades cultivadas; ahí nació la agricultura más primitiva basada en el cultivo de la papa; además señala que la papa fue introducida a Europa desde Sudamérica a finales del siglo XVI, mientras que el maíz no se introdujo sino más tarde.

Ubicación Taxonómica de la Papa

Reino.....*Metaphyta*
Phylum.....*Antophyta*
Clase.....*Dicotiledonea*
Familia.....*Solanaceae*
Género.....*Solanum*
Especie.....*tuberosum L.*

Clasificación según Barkeley, citado por Cruz 2001.

Importancia del Cultivo

La papa es, sin duda, un legado al mundo. Originaria de América, significó desde su introducción a Europa una importante fuente de alimento para los países del viejo continente, que se refleja hoy en día en altos niveles de consumo; tal es el caso de Holanda con 85 kilogramos por persona al año. En Estados Unidos el consumo per capita es de 58 kilogramos.

En nuestro país, a pesar de su alto valor alimenticio y de que se produce prácticamente todo el año y en más de 20 estados de la República, el consumo por persona apenas alcanza los 14 kilogramos anuales. (Claridades Agropecuarias, 2007).

Importancia Mundial

La papa es un producto originario de América, sin embargo la principal zona productora no está en el continente americano, pues se encuentra en países asiáticos y europeos. Información de la Organización Mundial para la Alimentación y la Agricultura (FAO) dependiente de la Organización de las Naciones Unidas (ONU).

La tasa de crecimiento de la producción de papa en el ámbito mundial, estimadas por el Centro Internacional de la papa (CIP) para el período 1993 - 2020, es de 2,02% según el escenario de alta demanda / alta producción, fundamentado en tendencias históricas de producción. El escenario mundial se caracteriza por el aumento de la producción de los países en vías de desarrollo, por el incremento de la demanda de papa fresca y procesada, destinadas a comidas rápidas y bocadillos; por la preferencia frente a otros tubérculos en la canasta familiar. (FAO 2005).

Para el año 2005, según información de la FAO, la producción mundial de papa fue de 321.9 millones de toneladas, de una superficie de 18, 652,381 ha; frente al promedio de los años 1991-2001 se observa una tasa de crecimiento del 2.6% y una reducción de la superficie del 5.6%. La participación continental tuvo el siguiente orden Asia y Europa en primer lugar, con 132.8 y 131.7 millones de toneladas, América con 40 millones de toneladas, África y Oceanía con 15.3 y 1.8 millones de toneladas, respectivamente. La papa en la alimentación mundial es el cuarto cultivo alimenticio, después del trigo, del arroz y del maíz; el cultivo de la papa en América, es superado ampliamente por Asia y Europa, sin embargo de ser originario de los Andes. Los cinco primeros países productores, que representan el 54%, de la producción mundial son China con 73.7 millones de t, seguido de la Federación Rusa con 36.4 millones de toneladas., India con 25.millones de de toneladas., Ucrania y EE.UU. con 19.3 y 19.1 millones de toneladas., respectivamente; en superficie de cultivo, respecto al total tienen el 58.4%. Los mayores rendimientos, por países corresponden a las economías desarrolladas que aplican adecuada tecnología tanto en el uso de insumos como en el manejo postcosecha y un alto grado de mecanización. Oceanía tiene el mayor rendimiento promedio con 37.9 t/ha. China, Rusia e India, mayores productores por extensión, alcanzan un rendimiento, de 16.7, 11.6 y 17.8 t/h., en su orden. (FAO, 2005).

Importancia Nacional

De acuerdo con la SAGARPA (2006), en nuestro país, la importancia del cultivo de la papa es superado únicamente por los básicos (maíz, frijol, arroz y trigo), entre las hortalizas sólo los cultivos de jitomate y chile verde ocupan una superficie mayor, en cuanto a producción sólo es superado por el jitomate.

La misma fuente de información reporta que de la producción nacional para el ciclo primavera verano 2006, el total de la superficie cosechada fue de 32, 533. 3 hectáreas, por lo que cerca del 73 % se destina al consumo fresco. El consumo – per cápita en México se ha incrementado a través del tiempo, así como por ejemplo, durante la década de los 70's promedió 10 Kg. Ahora en nuestro país, a pesar de su alto valor alimenticio y de que se produce prácticamente todo el año y en más de 20 estados de la República, el consumo por persona apenas alcanza los 14 kilogramos anuales.

Actualmente en nuestro país, ocupa el cuarto lugar en importancia, en México la superficie dedicada a este cultivo se estima en 68, 810 hectáreas de la que se obtiene una producción anual 1, 734, 810 toneladas, con un rendimiento de 25.21 toneladas por hectárea, mismas que se destinan a satisfacer las demandas de consumo interno (según datos la FAO, 2006).

Enfermedades de la Papa

La papa es atacada por enfermedades originadas por hongos, virus y viroides, bacterias y fitoplasmas. Estos patógenos, al infectar el follaje, las raíces y/o los tubérculos, provocan debilitamiento de las plantas, muerte prematura y/o mala calidad de los tubérculos (Rousselle, *et al*, 1999).

Con la papa nace el interés por el estudio de las enfermedades de las plantas como consecuencia de la epidemia de tizón debida a *Phytophthora infestans* que azotó Europa desde 1842; tuvo su clímax en 1845-1846 en Irlanda, e hizo perder la totalidad de las cosechas, provocando la muerte por hambre de miles de campesinos del norte de Europa (Montaldo, 1984).

Enfermedades de gran importancia económica para el cultivo de la papa son: El tizón tardío causada por *Phytophthora infestans* (Mont. De Bary); tizón temprano ocasionado por *Alternaria solani* (Ell. Sor); rhizoctonosis provocada por el agente causal *Rhizoctonia solani* (Kühn); Fusariosis ocasionada por varias especies del género *Fusarium* como *F. oxysporum* y *F. sambucinum*; Verticiliosis ocasionada por *Verticillium albo-atrum* ; además de virus como el virus del enrollamiento de la papa (PLRV) por sus siglas en inglés; el virus “Y” (PVY) y el virus “X” de la papa (PVX) por sus siglas en inglés; en los últimos años la enfermedad punta morada de la papa causada por un fitoplasma se ha convertido en una de las más importantes enfermedades en la producción de papa en el país, la cual se describe a continuación. (Ruosselle, *et al* 1999, Flores-Olivas, 2004).

Punta Morada de la Papa

Importancia Económica. La punta morada de la papa se ha asociado con fitoplasmas relacionados con diferentes enfermedades causadas a cientos de especies de plantas incluyendo vegetales, cultivos primarios, frutales, ornamentales y árboles maderables. Las enfermedades causadas por fitoplasmas continúan incrementándose, son los factores principales que limitan la producción de muchos cultivos alrededor del mundo (Lee et al, 2000).

Al igual que en México, los reportes en Guatemala, ubican a la punta morada de la papa como el segundo problema en importancia del cultivo de la papa después del tizón tardío. Actualmente se estima que un 50% de la superficie sembrada con papa en México es afectada por la enfermedad. Las pérdidas pueden llegar a ser hasta un 80% del rendimiento. Además de las pérdidas en rendimiento, los tubérculos infectados

pierden valor en el mercado por la necrosis interna y baja calidad industrial (Salazar 1997).

Una disminución directa de la producción o la afección de la viabilidad de los tubérculos que se usarán como semilla en el siguiente ciclo; es muy importante, pues de la inversión total para el cultivo se destinan aproximadamente 40% para la compra de semilla por tal motivo, los daños o pérdidas que incidan sobre las semillas son realmente desastrosos (Martínez, 1999).

Durante los años 2003 y 2004, la incidencia de esta enfermedad se incrementó considerablemente, llegando al 100% en algunas áreas productoras de papa, como ocurrió en la región sur de Coahuila y Nuevo León. Las pérdidas fueron millonarias, ya que el rendimiento se redujo hasta en un 90% en algunos lotes, y cuando se logró obtener rendimientos razonables, la producción careció de valor comercial, pues su calidad fue afectada por el manchado interno de los tubérculos por lo que las pérdidas fueron del 100%. (Flores-Olivas, 2004).

En 1991 la incidencia de la brotación anormal (BA) de los tubérculos (“machos”) asociada con la punta morada de la papa fue alta en León Guanajuato (33% al 49%), en los estados de Nuevo León y Coahuila (36% al 95%). En este mismo en algunas partes del estado de México (Valle de Toluca), Michoacán, Tlaxcala y Veracruz se detectaron porcentajes relativamente bajos de la enfermedad (0% al 2%) (Cadena-Hinojosa, 1993).

Agente Causal

El agente causal de la punta morada y del brote de hilo de la papa (Martínez et al; 1999), pertenecen al grupo de microorganismos conocidos como fitoplasmas. Estos patógenos fueron descubiertos hace poco más de tres décadas por un grupo de científicos japoneses: en 1967, estos microorganismos fueron observados con el microscopio electrónico en el floema de plantas infectadas, pero hasta ese momento se pensaba que era virus (Doi *et al*; 1967).

Los estudios sobre punta morada, en un inicio lo definen como de origen viral, debido a que era posible transmitirla por medio de injertos y en algunas ocasiones a través del insecto *Macrostelus divisus*. La transmisión por medio de tubérculos aparentemente era rara y de distribución errática, sin embargo, una gran similitud en los periodos de incubación y síntomas inducidos por el entonces conocidos como Virus del Amarillamiento del aster. La primera referencia académica sobre fitoplasmas en los Estados Unidos de Norteamérica, data de 1915. En 1926 Kunkel describió perfectamente la primera enfermedad de este tipo aunque inicialmente lo asocio con patógenos virales (Martínez, 1999).

Algunos agentes bióticos que se han observado asociados al síndrome de la punta morada de la papa son:

Algas fitopatógenas. *P. infestans* que causa el tizón tardío de la papa, puede ocasionar la manifestación de síntomas de punta morada. Cuando la planta es atacada a la base del tallo y ésta se recupera debido a el uso de control químico, éste acusará los síntomas típicos de punta morada, sobre todo en variedades muy susceptibles los tallos de la planta, aún y que no todas hayan sido atacados por tizón tardío, manifestarán la enfermedad (Flores-Olivas, 2004).

Hongos. De acuerdo con el último autor existen hongos que atacan a la papa y que por su desarrollo afectan el sistema vascular de la planta, como consecuencia ésta produce síntomas similares a aquellos producidos por fitoplasmas, como son coloración morada en los bordes de las hojas, producción de tubérculos aéreos, cambios en la coloración del sistema vascular, entre otros.

No obstante es necesario realizar estudios de campo, para reconocer en que porcentaje participan en el complejo y si son la causa de que la planta se debilite o bien ingresen como patógenos secundarios una vez que las plantas de papa son atacadas por fitoplasmas (Flores-Olivas, 2004).

Virus. En Bolivia se describen los síntomas de planta morada, tales como coloración púrpura en el borde superior y punta de los foliolos superiores de la planta, enrollamiento en algunos foliolos, brotes delgados y débiles provenientes de tubérculos infectados, entre otros.

Síntomas que son atribuidos al virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) y al virus Y de la papa (PVY), siendo este último sólo un agente que acentúa la sintomatología ocasionada por el PLRV. Además de no haber reportes de fitoplasmas en ese país (Iporra, 1998).

Durante los años 2002 y 2003 se realizaron investigaciones correspondientes a la detección de fitoplasmas y PLRV en plantas con síntomas severos y leves de punta morada de la papa en Washington, apoyándose en ampliaciones generadas por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y análisis de Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP) de las secuencias amplificadas. Obteniendo, aproximadamente un 50 por ciento de las plantas con síntomas severos resultaron positivas para fitoplasmas similares a los reportados en Canadá y México. Un 30 por ciento de las muestras fueron positivas para PLRV sobre todo en muestras con síntomas ligeros, donde raramente se detectaron fitoplasmas (Flores-Olivas, 2004).

Fitoplasmas. En 1967 científicos japoneses descubrieron el fitoplasma que causaba amarillamiento en plantas. Antes de este descubrimiento estas enfermedades eran causadas por virus, aunque los virus no pueden ser visualizados en tejidos finos enfermos o aislados del tejido de plantas enfermas. En la naturaleza, el fitoplasma es transmitido a las plantas enfermas por insectos chupadores. Semejante a la mayoría de micoplasmas que atacan animales y humanos, los fitoplasmas no pueden ser cultivados in Vitro. Ese mismo año se observaron microorganismos similares en los insectos vectores de esas enfermedades. Además, se demostró que estos microorganismos eran susceptibles a la tetraciclina pero no a la penicilina y que los síntomas de las plantas infectadas podían suprimirse, al menos temporalmente, mediante tratamientos con antibióticos (Agrios, 1996).

El agente causal asociado con las enfermedades que causan amarillamiento en plantas son de forma pleomorfica y con un tamaño similar a los micoplasmas (Lee *et al*, 2000).

Morfología. La morfología de los fitoplasmas observados en plantas se asemeja a los micoplasmas típicos hallados en animales , humanos y a los que viven saprofiticamente, lo cual se ha establecido por estudios de microscopia electrónica de secciones delgadas de plantas o vectores naturales, experimentalmente infectados por patógenos del tipo del amarillamiento del aster. Estos organismos ocurren en las células cribosas del floema y ocasionalmente en las células parenquimáticas del floema de plantas infectadas (Lee *et al*, 2000). Son pleomórficos, carecen de pared celular y están rodeados de una unidad de membrana de 95 a 100 Å de espesor, su diámetro varía de 50 a 1000 nm. Los cuerpos de los fitoplasmas contienen un enrejado fibrilar de hebras, que se supone son ADN, y áreas con gránulos semejantes a ribosomas. Estos organismos aparentemente se propagan por fisión binaria, gemación o fragmentación. Los fitoplasmas son los procariotes más pequeños capaces de replicación autónoma (Salazar citado por Alemán, 2005).

La presencia simultánea de individuos pequeños y grandes en la misma célula del floema, parece sugerir diferentes estados de desarrollo, y una propagación por fisión binaria, germinación o fragmentación. Sobre la base de su morfología se han agrupado en varias categorías: 1) Partículas muy pequeñas que miden de 50 a 100 nm que se tiñen fuertemente opacas. 2) Cuerpos esféricos u ovoides de 100 a 300 nm con una unidad de membrana visible. 3) Cuerpos ovoides grandes de 400 nm a 1micra de largo y 0.08 a 0.03 micras de ancho. 4) Cuerpos irregulares que comprenden 2 a 3 células con un soporte común y 5) Células grandes que poseen inclusiones densas y numerosas yemas sobre la superficie (Martínez, 1999).

El mismo autor cita que es necesario remarcar a pesar de la susceptibilidad mostrada a ciertos antibióticos, el control químico (con antibióticos) no garantiza ni siquiera un éxito moderado. Esto es debido a que el patógeno no es erradicado de la planta solo inhibido temporalmente, por lo que las planta aparentemente “curadas”

siguen en realidad infectadas. Esto hace que se conciertan en reservorios naturales aun más peligrosos.

Sintomatología de punta morada. Los síntomas de la punta morada de la papa puede variar dependiendo de la altitud en la que se tenga el cultivo (msnm), variaciones de temperaturas y variedad cultivada y pueden ser enrollamiento y rizado de algunas partes, pero no en todos los cultivares, la coloración morada en los folíolos puede ser más pronunciada en uno de ellos, en diferentes alturas de la planta. En las partes axilares se presentan tubérculos aéreos apenas desarrollados. Estos tubérculos apenas llegan a los siete centímetros de longitud (Maramorosch, 1998). Las plantas provenientes de tubérculos enfermos, se tornan rígidas y enfermas con folíolos de ápice agudo y clorótico. Poseen entrenudos cortos y pueden desarrollar brotes axilares. Algunas veces producen tubérculos pequeños agregados alrededor del tallo principal, sobre estolones muy cortos. También es posible observar la proliferación de las yemas axilares o producción de tubérculos aéreos y abultamiento o nudosidad de los tallos (Martínez, 1999).

Las plantas afectadas al final de la estación de crecimiento, sufren un enrollamiento en la parte basal de los folíolos de la punta de las hojas jóvenes, por lo regular con una coloración púrpura o amarilla, lo cual da su nombre a la enfermedad. Estas plantas también pueden desarrollar tubérculos aéreos, proliferación de yemas axilares y nudosidad en los tallos. En condiciones de campo, los tallos inferiores desarrollan necrosis cortical, desdoblamiento del tejido y decoloración vascular (Martínez, 1999).

Los síntomas incluyen el desarrollo de flores verdes y la pérdida de pigmentos normales de las flores, el desarrollo de partes florales dentro de estructuras no aptas, la esterilidad de flores, proliferación de crecimientos, los síntomas ocasionados por fitoplasmas varían de acuerdo a la etapa de infección (Lee *et al*, 2000).

En síntomas muy avanzados, los tallos subterráneos, estolones y raíces, manifiestan una coloración café oscuro del sistema vascular, producen tubérculos

pequeños (tercera o cuarta categoría), y si se llegaran a observar tubérculos de primera o segunda categoría, al realizarse un corte transversal se observara manchado. Existen variedades que toleran un poco más el más el manchado como es el caso Gigant (Flores-Olivas, 2004).

Hernández, Sánchez y Cepeda, citados por Moreno (2004), que consistió en el aislamiento de patógenos de plantas que presentaban síntomas de la enfermedad, dio como resultado la obtención de dos hongos de los géneros *F. oxysporum* y *Verticillium dahliae*, por lo que aseguran que estos hongos son patógenos relacionados con la enfermedad “punta morada de la papa”.

Cuando los tubérculos están infectados pueden mostrar o no síntomas. Al realizar un corte transversal de tubérculos infectados, se observa un rayado generalizado conocido como “papa rayada o papa manchada”. Estas manchas o rayas pueden ser leves o cubrir totalmente el interior del tubérculo. Los tubérculos infectados con síntomas o asintomáticos, cuando se usan como semilla, manifiestan tres características: a) producen un brote normal, b) no brotan, c) brotan con “brote de hilo”. (Flores-Olivas, 2004).

Mecanismos de Transmisión de Punta Morada

Transmisión por Semilla

A pesar de que la principal forma de transmisión de la enfermedad es mediante insectos vectores, Martínez-soriano (1999a) ha calculado un alto porcentaje de transmisión por semilla-tubérculo.

En otra publicación (1999b) menciona que las plantas severamente afectadas por “punta morada” no producen o producen muy pocos tubérculos que puedan ser usados como semilla. Por otro lado, los tubérculos infectados no brotan o lo hacen muy débilmente (brote de hilo) no prosperando para formar una planta adulta. En campo se ha observado que plantas recién emergidas poseen síntomas típicos de “punta morada” que sin duda provienen de tubérculos infectados.

Utilizando tecnologías de biología molecular se ha demostrado que plantas y “semillas” asintomáticas pueden estar infectadas por fitoplasmas. Lo cual indica claramente en campo, la infección es más alta en forma real que la que puede ser detectada con base en síntomas.

De esta forma la enfermedad aparecerá irremediablemente en plántulas recién emergidas de “semilla” multiplicada sin control de calidad. Martínez-Soriano (1999b).

Transmisión por Insectos Vectores.

Una pieza crucial en la epidemiología de la enfermedad son los vectores hasta ahora identificados como pertenecientes a la familia taxonómicas Cicadellidae y Fulgoridae (Lee 1998a) siendo las especies *Macrosteles fascifrons*, *M. divisus*, *Alebroides sp.* y *Orosius albicinctus* reportada como transmisores de la punta morada.

Las chicharritas, son voladores activos y fuertes, mucho más móviles que los áfidos. A diferencia de estos últimos, son importantes en el cultivo de la papa debido a que causan un daño directo al alimentarse de la planta (Martínez-Soriano, 1999b).

El último autor, menciona que entre dichas chicharritas sobresale el género *Macrosteles* spp que tiene el mayor número de reportes y descripciones. Asimismo hace referencia a Swenson quien observó que las ninfas correspondientes a este género, al igual que los adultos, son capaces de transmitir la enfermedad aunque en menor proporción que los últimos y, por su parte los machos la transmiten menos frecuentemente en comparación con las hembras.

Igualmente señala que *Macrosteles fascifrons* esta presente en la mayor parte de Norteamérica, se alimenta de más de 100 especies de plantas y es más frecuentemente hallarla sobre cereales de grano pequeño, en el mismo reporte cita a Radcliffe quien asegura que la chicharrita adquiere el patógeno al alimentarse de un hospedante (maleza) infectado y de ahí lo transmite a la papa. Además menciona Bantteri, quien asegura que dicho cultivo no es el hospedante preferido de la chicharrita, y solo lo afecta cuando los hospedantes alternos maduran o comienzan a ser menos palatables.

También señala que a diferencia de otras chicharritas que sí colonizan papa, esta especie no se reproduce en el cultivo y sobreviven como adultos y huevecillos alejados, por lo regular, a grandes distancias de las áreas de producción de papa.

Martínez-Soriano (1999b), menciona que Ramírez y Ramos, en el estudio de comportamiento de poblaciones de chicharritas asociadas a la papa en Texcoco, México; encontraron como probables vectores de la punta morada a las especies: *Agallia barreti*, *Aceratagallia fuscscripta*, *Idiocerus sp*; *Draeculachephala crassicornis*, *Carneochepala sagittifera*, *Keonella confluens var Pacífico* y *Empoasca fabae*. La distribución y abundancia que representaron las poblaciones de chicharritas en las diferentes variedades de papa, no siguió un patrón uniforme, ni se observó una determinada preferencia de estas.

Garzón-Tiznado (2002) considera muy importante a *Bactericera cockerelli* Sulc en la transmisión de síntomas de punta morada, el cual pertenece a la familia Psillidae (Homóptera), por ello se le conoce también con el nombre de psílido, este insecto se caracteriza por producir una toxina que daña a células que producen clorofila en las hojas de las plantas, originando cultivos amarillentos y raquíticos tanto en papa como en tomate. El daño que causa *Bactericera* en estos cultivos con la toxina que inócula no es considerado trascendental para la agricultura nacional, no siendo así con la importancia que tiene el fitoplasma que el mismo insecto transmite. Es necesario aclarar que, México es el único país donde se ha reportado el pulgón saltador como vector de un fitoplasma: en el resto del mundo únicamente se le conoce por su efecto toxinífero en papa y tomate.

Los psílicos adultos superficialmente se parecen a pequeñas cigarras y miden de 2 a 5 mm de longitud. Tienen muy poca capacidad de vuelo, sin embargo poseen patas fuertes que los capacita para saltar, por tal razón se les conoce piojos saltadores (Marín, 2003). Tienen un aparato tipo picador-chupador, el cual está armado con un estilete, formado por dos conductos; mismos que las ninfas o los adultos introducen hasta el floema, por un conducto el insecto come y por el otro inyecta su saliva a la planta (Garzón-Tiznado, 2002).

Por otro lado, este último autor menciona que *Bactericera cockerelli* Sulc tiene antecedentes en México desde 1947, cuando un investigador norteamericano dijo haberlo encontrado en los estados de Durango, Tamaulipas y Michoacán; posteriormente se le localizó en el estado de México, en Guanajuato y en 12 estados más, siendo conocido como “pulgón saltador” por la similitud que tiene con los áfidos.

La hembra oviposita más de 500 huevecillos en el envés y bordes de las hojas, adheridos por un pequeño pedicelo; requieren de tres a 15 días para incubar; la ninfa pasa por 4 instares en 14 a 17 días, requiriéndose alrededor de 30 días desde la cópula hasta la formación del nuevo adulto (Garza y Rivas, citado por Salas 2006).

Los estadios de este insecto como vector del fitoplasma en tomate, indican que puede adquirir el patógeno a partir de 15 minutos de permanecer alimentándose de la planta infectada y que la mayor eficiencia se tiene a partir de las dos horas. Se desconoce el tiempo que requiere el insecto para transmitir el patógeno una vez que lo ha adquirido (Garzón *et al*, 2005).

Hospederos de *B. cockerelli*, el psílido tiene un amplio rango de hospedantes cultivados y silvestres. Ataca a las solanáceas, aunque el cultivo de la papa es de los más preferidos por las hembras para ovipositar sus huevecillos. Se considera que el ciclo biológico del insecto no varía en los cultivos de papa y tomate, sin embargo, el estado ninfal es más prolongado en especies de plantas que no pertenecen a la familia antes señalada, como es el caso de maleza (Avilés *et al*, citado por Salas 2006).

El mismo autor señala aunque el psílido se encuentra principalmente en la familia Solanaceae, también ataca algunas especies de las siguientes familias: Amaranthaceae, Asclepiadaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Violaceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Lycophyllaceae, Malvaceae, Menthaceae, Pinaceae, Poaceae, Polygonaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Salicaceae, Scrophulariaceae y Zygophyllaceae.

Daños. Este insecto ocasiona dos tipos de daños: el toxinífero o directo y el indirecto, como transmisor de fitoplasmas. El primero se manifiesta cuando el insecto se

alimenta de la planta y succiona sus jugos ocasionando que esta no se desarrolle y se torne de color amarillo (Avilés et al., 2003). La toxina del psílido daña a células que producen clorofila en las hojas por lo que las plantas se tornan amarillentas y raquíticas. Por otro lado, el fitoplasma es un organismo infeccioso, microscópico, más grande que un virus. México es el único país donde se ha reportado al pulgón saltador como vector de fitoplasmas ya que en el resto del mundo se le conoce únicamente por su efecto toxinífero en papa y tomate (Garzón, 2003a).

Daños originados por la toxina. Richards (1928), mencionó que el "amarillamiento de la papa" se debía a los procesos de alimentación de las ninfas en la planta, que inyectan toxinas por el estilete, lo que se confirma al retirar las ninfas de las hojas, pues los síntomas desaparecen lentamente y la planta tiende a recuperar su color verde normal. Entre los años 30 y hasta los 90 del siglo pasado, diversos investigadores han venido aportando mayores elementos sobre el efecto de las toxinas de *B. cockerelli* en las plantas de papa y tomate (Garzón, 2003).

Daños originados por el fitoplasma. En las plantas que fueron infestadas con *B. cockerelli* y *C. tenellus*, se detectó fitoplasma a los ocho días después de que se realizó la infestación, y se siguió detectando durante todo el ciclo de vida de la planta, mientras que para *Carsidara sp.* solo se detectó en el último muestreo de las dos primeras infestaciones. Los síntomas de punta morada se manifestaron únicamente en plantas de papa infestada con *B. cockerelli* y *C. tenellus*. El manchado de tubérculos se presentó, únicamente en plantas de papa infestadas con *B. cockerelli* y *Carsidara sp.* (Salas, 2006).

En las pruebas de transmisión evaluada por síntomas y PCR se encontró que *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron muy eficientes en la transmisión, infectando el 75 y 100 % de las plantas de papa respectivamente, lo cual posiblemente se debió a la actividad fisiológica de los insecto y a la especificidad de cada uno de ellos.

Para el período de incubación del fitoplasma. Se aprecia que para la primera infestación, el período de incubación fue de 39 días; para la segunda y tercera fecha de infestación, se tuvo una incubación de 27 y 26 días respectivamente; para la última

infestación se tuvo una incubación de 12 días, en esta última infestación la planta tenía 71 días después de plantación (ddp) y se encontraba en la etapa de crecimiento de tubérculos. Esto indica que el periodo de incubación desde que el insecto transmite el fitoplasma, hasta que se observan los síntomas claros, depende del estado fisiológico en que se encuentra la planta al momento de ser infestadas (Salas 2006).

Transmisión por Injerto

Este se logra rápidamente entre plantas compatibles; el injerto permite una gran cantidad de inóculo y se ha utilizado como uno de los medios más rápidos de plantas filtrantes por la presencia de fitoplasmas. Las técnicas de injerto que son utilizadas incluyen implantación de tejidos (Dimock *et al*; 1971), brotes, partes de corteza, diversas técnicas de asociación, adhesión y construcción de puentes; las plantas dicotiledóneas, herbáceas y maderables pueden ser injertadas. Sin embargo, el injerto no es practicable en monocotiledóneas. Se asume que todas las enfermedades causadas por fitoplasmas se transmiten por injerto planta a planta dentro de los límites de la compatibilidad de tejidos ya que se encuentran y multiplican en el floema de sus hospederos (Ploaie, 1981). Este mismo autor logró transmitir 15 cepas de fitoplasmas de *Catharanthus roseus* L. a *Catharanthus roseus*, tomate a tomate y de tabaco a tabaco con un cien por ciento de eficiencia.

Control de la Punta Morada de la Papa

En el control de enfermedades causadas por fitoplasmas, la preocupación primaria a menudo es la prevención en vez del tratamiento. Las enfermedades asociadas con fitoplasmas han sido manejadas por acciones de plantaciones libres de enfermedades o variedades resistentes a enfermedades a través del control de insectos vectores y, por la aplicación de prácticas culturales certeras para eliminar las fuentes de fitoplasmas. Entre estas estrategias de control de la enfermedad, la reproducción de cultivares resistentes a enfermedades pueden otorgar una forma más directa y eficiente para combatir muchas de estas enfermedades devastadoras (Lee, 2000).

Sin embargo, la introducción de genes de resistencia a enfermedades para producir cultivos a través de propagaciones tradicionales es muy tardada, y ha sido difícil identificar genes de resistencia en plantas cultivables o en sus parientes cercanos.

Avances recientes en la producción de plantas por ingeniería genética a través de vectores que transfieren genes, permiten la aceleración de estos procesos de producción. La introducción de genes foráneos o regulación de los genes domésticos en estas plantas transgénicas pueden resultar en la alteración de la expresión genética que a la vez puede interferir con el crecimiento del fitoplasma y/o modificar la respuesta del hospedero con respecto a las infecciones provocadas por fitoplasmas. Como resultado, los síntomas de la enfermedad pueden ser atenuados (Lee, 2000).

Hospederos.- Prácticamente nada se ha descrito en el mundo sobre otras especies de plantas que sean hospedantes naturales del agente causal de la punta morada; existen reportes sobre plantas que han sido usadas en forma experimental como la teresita, *Cataranthus spp* más sin embargo, estas no son reservorios naturales del patógeno en el campo.

Existen malezas que han sido encontradas en el campo como posibles hospederas de fitoplasmas como la cicutilla, *Parthenium argentatum*; esta maleza es común en los campos agrícolas del Centro y Norte de la República Mexicana. (Martínez, 1999).

Control del vector.- La aplicación de insecticidas granulados al suelo ha demostrado ser efectiva para disminuir la incidencia de la enfermedad, tal como lo es el caso de Thimet que resultó en una reducción de hasta 32 por ciento de la incidencia de la enfermedad en campo (Hoymann, 1963). También Aldicarb aplicado al suelo demostró reducir la incidencia en un 40% y más recientemente Imadacropid, las aspersiones foliares en la estación de productos como Metasystox, Ometoato y Metamidofos con frecuencia semanal han logrado reducir la incidencia de la enfermedad en porcentajes variables (Cadena-Hinojosa, 1974).

Los hongos *Fusarium oxysporum* y *Verticillium dahliae* como agentes de Punta Morada

Importancia de *Fusarium oxysporum* Schlecht

Sin duda alguna el hongo *F. oxysporum* es la especie del género *Fusarium* más perjudicial ocasionando pérdidas considerables a las plantas cultivadas, que sirven como hospederos del patógeno; el hongo se encuentra distribuido en todo el mundo (Agrios, 1998; Romero, 1993).

En el caso del cultivo de la papa Guigòn (1994), señala que algunas especies de *Fusarium* son de importancia como patógenos en el cultivo. Su ataque es más severo en lugares donde se cultiva la papa a temperaturas relativamente altas o durante la estación seca y calurosa, causan una variedad de problemas al cultivo tales como marchitamiento vasculares, pudriciones de tubérculos raíz y tallos. Para el caso de *F. oxysporum* causa marchitamientos vasculares a la papa.

Descripción y Características del Patógeno

En medios de cultivo como papa dextrosa agar (PDA), el crecimiento miceliano presenta un aspecto variable; siendo este de color blanco al inicio de su desarrollo, posteriormente adquiere una coloración violeta púrpura a morado (Smith, 1992). Si hay abundancia de esporodoquios la coloración del medio puede ser crema o naranja (Tousson y Nelson, 1968) forma dos tipos de conidias: microconidias y macroconidias; las microconidias son abundantes y producidas en fialides simples y cortas, presentan forma oval a elipsoidales cilíndricas; mono o bicelulares, de recta a curvadas, el tamaño de estas esporas en promedio es de 6.8*2.2 micras (Guigòn, 1994)). Las macroconidias son relativamente escasas (Walker, 1973; Anaya et al; 1999), con 3 a 5 septos, fusiformes de pared delgada terminando en puntas ambos lados, con medidas de 16.2*3 micras en promedio (Guigòn, 1994).

El patógeno forma estructuras de resistencia llamadas clamidosporas normalmente abundantes, pueden ser globosas, circulares, lisas o arrugadas, unicelulares; se pueden encontrar en la parte Terminal o media del micelio o hifa; formadas en pares o solitarias, (Gilman, 1963; Mendoza, 1996).

Ubicación Taxonómica

De acuerdo a Alexopoulos y Mims (1979), clasifican taxónicamente al hongo de la siguiente manera:

Super- reino.....Eucariota
Reino.....Micetae
División.....Amastygomicota
Subdivisión.....Deuteromycotina
Clase.....Deuteromycetes
Subclase.....Hyphomycetidae
Orden.....Moniliales
Familia.....Tuberculariaceae
Género.....*Fusarium*
Especie.....*oxysporum*

Sintomatología

Calderoni (1978), mencionó que el hongo *F. oxysporum* se encuentra en casi todos los suelos, especialmente en aquellos con alto contenido de materia orgánica. El ataque que con frecuencia se inicia en el sistema radicular, especialmente en aquellas raíces más finas, de ahí el daño avanza hacia el tallo. Los síntomas de la marchitez fusàrica, se observan principalmente en las hojas más viejas, muestran estas una clorosis, seguida de una marchitez; dichos síntomas progresan posteriormente a las hojas jóvenes iniciándose al mismo tiempo una invasión del sistema vascular por el hongo. (Smith *et al*; 1992).

El mismo autor señala que las partes afectadas o dañadas por el patógeno adquieren una coloración parda, en la raíz y parte del tallo; la necrosis o empadecimiento pueden observarse con facilidad al realizar cortes tanto transversales como longitudinales en la parte dañada.

Roberts y Boothroyd (1978), indicaron que los síntomas de la marchitez causada por el hongo pueden desarrollarse con mayor rapidez durante la floración o fructificación. En los cultivos generalmente dichos marchitamientos van a observarse en forma de manchones que se extienden en forma gradual y en ocasiones hasta cubrir todo el cultivo causando la muerte prematura de las plantas. Los síntomas de la marchitez se ven más acentuados en el día o durante las horas más intensas de calor y durante las noches hay una aparente recuperación de la planta.

Para el caso de el hongo *Fusarium oxysporum* los síntomas de punta morada se aprecian a los 35 días después de la inoculación ,estos síntomas expresados por la planta son menos expresivos que la presentada por la inoculación de los dos hongos ya que solo presentó una coloración púrpura las plantas y no brotes axilares anormales. (Moctezuma, 2005)

Ciclo Biológico de *F. oxysporum*

Este hongo es un habitante muy común del suelo siendo este la principal fuente de inóculo, además sobrevive en los restos de las plantas infectadas que quedan en el campo en forma de micelio, en cualquiera de sus formas de conidias o clamidosporas, dichas clamidosporas pueden persistir en forma inactiva o latente durante 5-10 años (Roberts y Boothroyd, 1978) y germinar al disponer de nutrientes, principalmente cuando hay contacto o proximidad de raíces jóvenes de sus hospederos.

El inóculo se propaga principalmente a través del agua, equipo agrícola contaminado, por semilla, etc. Cuando las plantas sanas se desarrollan en el suelo contamina las esporas germinan y el micelio penetra directamente los tejidos de las puntas de las raíces a la altura de la zona de elongación; la penetración también la

pueden realizar mediante heridas causadas por nematodos de los géneros *Pratylenchus spp* y *Meloidogyne spp* a través de las heridas hechas por las labores culturales (Agrios, 1988; Smith, 1992).

El micelio una vez que ha penetrado el tejido se propaga intercelularmente y llega a los vasos xilemáticos e invade el sistema vascular, el micelio avanza en forma ascendente unos 15-20 cm. por arriba de la zona de transición entre el tallo y el sistema radicular, el micelio se ramifica y empieza a producir esporas principalmente microconidios que son desprendidas y llevadas en la savia hacia la parte superior de la planta, las microconidias germinan y el micelio invade nuevamente los haces vasculares. La patogénesis está relacionada con el bloqueo de los vasos impidiendo el paso del agua y nutrientes y con la formación de toxinas que pueden afectar la síntesis de clorofila, hay pérdida de turgencia, marchitamiento y posteriormente la muerte; también hay formación de enzimas que catalizan reacciones hidrofílicas destruyendo la lámina media del parénquima del xilema, tomando una coloración pardo-oscuro y que estas coloraciones pueden ser utilizados como síntomas para el diagnóstico de la enfermedad. Posteriormente el hongo invade en gran escala los tejidos parenquimáticos de la planta, llega a la superficie de los tejidos muertos y esporula abundantemente, las conidias son diseminadas por los agentes ya mencionados hacia otras plantas o quedan en el suelo e inician nuevamente su ciclo cuando llega su hospedero (Walker, 1968; Roberts y Bootroyd, 1978; Agrios, 1988; Smith, 1992; De la Garza, 1996).

En cuanto a los requerimientos de temperaturas De la Garza (1996), señala que el hongo *F. oxysporum* tiene un crecimiento y reproducción adecuada cuando la temperatura del suelo fluctúa de 27 a 29°C; por su parte Walker (1968), indica que temperaturas por debajo de los 17°C la enfermedad no aparece aún encontrándose plantas susceptibles enfermas infestadas con el patógeno.

Distribución y Gama de Hospederos

F. oxysporum es la especie económicamente más importante dentro del género *Fusarium*; dicho patógeno se encuentra mundialmente distribuido, causa daños a una

variedad amplia de plantas. Smith (1992), menciona que esta especie no afecta al cultivo perteneciente a la familia Poaceae.

Importancia de *Verticillium dahliae* Kleb

Xiao y Subbarao (1998), reportaron que el patógeno es el agente causal de los marchitamientos de muchos cultivos de importancia económica, es un hongo habitante muy común de los suelos. El hongo sobrevive en forma de microesclerocios en el suelo por más de 13 años, dicha estructura es considerada la principal fuente de inóculo.

El hongo es muy común en regiones productoras de papa, atacan al cultivo a través del sistema radicular e invadiendo al sistema vascular provocando los comunes marchitamientos; por ser parásitos vasculares interfieren en el movimiento de agua y nutrientes, los cuales son más severos en suelos de textura gruesa y períodos de mucho calor. El daño vascular puede extenderse por toda la longitud de los tallos y/o los tubérculos, mientras que los marchitamientos causan la muerte prematura de las plantas; las enfermedades causadas por *V. dahliae* son de tipo monocíclicas (Ayers, 1952; Hooker, 1980; Xiao y Subbarao, 1998).

Platt y Sanderson (1987), mencionaron que las especies de *Verticillium* que causan enfermedades al cultivo de la papa son *V. dahliae* y *V. albo-atrum*, encontrándose en muchas áreas del mundo donde se siembra dicho cultivo. Los síntomas que causan dichas especies en el campo son muy similares, hay investigadores que afirman se trata del mismo patógeno, aunque morfológicamente presentan diferencias. *V. albo-atrum* en medio de cultivo forma de micelio negro y hay formación de clamidosporas; *V. dahliae* presenta micelio blanco-grisáceo a cremoso y hay formación de microesclerocios (Castrejón, 1978; Sanderson y Platt, 1987; Romero, 1993).

Descripción y Características Morfológicas del Patógeno

V. dahliae se caracteriza por la presencia de conidióforos alargados, hialinos, ramificados verticiladamente, conidios ovales a elipsoidales hialinos unicelulares, producidos apicalmente, solitarios o en pequeñas cabezuelas (Mendoza y Pinto, 1983; Romero, 1993).

El hongo en medio de cultivo PDA tiene un crecimiento abundante, en un principio el micelio es blanco con hifas hialinas septadas, posteriormente el micelio adquiere una tonalidad crema-grisácea, forma estructuras de resistencia conocidas como microesclerios generalmente de color negro; aunque en algunas veces adquieren un tono hialino o pardo-oscuro (Castrejón, 1978; Smith, 1992).

Sintomatología

Los síntomas de marchitez por el hongo *Verticillium dahliae* son casi idénticos a los que produce *F. oxysporum* y en los hospederos afectados por ambos hongos es imposible diferenciarlos en campo, excepto mediante pruebas de laboratorio (Presley, 1950; Agrios, 1988).

De acuerdo con Alonso (1996), él menciona que las hojas de las plantas afectadas por el patógeno empieza a marchitarse de abajo hacia arriba, al principio las hojas adquieren una clorosis y luego se van oscureciendo hasta adquirir una coloración marrón. En ocasiones la enfermedad se presenta en un solo o varios tallos en la planta, en la parte interna del tallo o tejido dañado se observan decoloraciones necrosadas en el área del xilema.

Generalmente los síntomas de la enfermedad aparecen antes o al momento de la floración, también puede observarse que la enfermedad se inicia en forma de manchones dentro del cultivo e ir avanzando gradualmente hasta cubrir todo el plantío, ocasionando que las plantas mueran antes de la maduración.

En el caso de tubérculos de papa afectados por el patógeno se pueden apreciar coloraciones castaño-necrotica en el anillo vascular; en los tallos al realizar los cortes tanto transversales como longitudinales se podrá observar al tejido vascular necrosado (Presley, 1950; Platt y Sanderson, 1987).

Las plantas empezaron a manifestar los síntomas del hongo *Verticillium dahliae*, después de la inoculación, empezando con brotes axilares anormales y un detenimiento del crecimiento de las plantas para posteriormente expresarse un color púrpura-morado en las hojas terminales. Se empezaron a manifestar a 35 días después de la inoculación mencionado por (Moctezuma 2005).

Ciclo de *V. dahliae*

Mendoza y Pinto (1983), mencionaron que el hongo inverna en forma de microesclerosios ya sea en el suelo, en residuos de cosecha o sobre hospederos perennes. El micelio o microesclerosios germinan cuando las condiciones le son favorables.

Los microesclerosios pueden germinar cuando son estimulados por exudados de las raíces de los hospederos (Xiao y Subarrao, 1998) y penetran el tejido de la raíz ya sea por aberturas naturales, de forma mecánica o por heridas causadas por algunos nematodos, maquinaria agrícola u otras labores realizadas al cultivo. El micelio llega la xilema en poco tiempo e invade los tejidos conductores y avanza hacia arriba a través de estos, provocando el taponamiento e impidiendo el paso del agua y nutrientes reflejándose en la planta una marchites. Los conidios se producen dentro del tejido y si las condiciones son adversas hay formación de microesclerosios para invernar (Ayers, 1952; Mendoza y Pinto, 1983).

Los microesclerosios pueden permanecer latentes en el suelo por períodos largos que pueden ser de 12-14 años (Smith et al. 1992; De la garza, 1996; Xilao y Subarrao, 1998), aunque Agrios (1988), señala que dichas estructuras de resistencia pueden sobrevivir hasta 50 años.

El hongo puede diseminarse por el agua de riego, por el viento, suelo, maquinaria agrícola contaminada, por semilla u otras partes vegetativas utilizadas para la propagación. En cuanto a las condiciones de temperatura que el hongo requiere, éste prospera óptimamente a temperaturas de 25-28°C, puede crecer en un rango de temperatura que va desde 5-32°C fuera de ese rango el hongo inhibe su crecimiento (Agrios, 1988; De la garza, 1996).

Distribución y Gama de Hospederos

El hongo *V. dahliae* se encuentra distribuido en todo el mundo encontrándose principalmente en zonas templadas y subtropicales (Romero, 1993). La gama de hospederos de dicho patógenos es muy amplia, se menciona que puede tener más de 200 spp de plantas hospederas entre las que se encuentran hortalizas, frutales, ornamentales, forestales, industriales y malezas (Devaux y Sackston, 1966; Latorre, 1999).

Smith et al. (1992), reportaron que se han encontrado plantas como trigo y cebada portadoras del hongo sin que estas presenten síntomas de la enfermedad.

Sistema Vascular

La disposición de los haces vasculares, esto es, la venación, imprime una apariencia característica de la hoja. Los haces vasculares en las monocotiledóneas, pueden ser del mismo grosor o presentar tamaños distintos, alternando las venas grandes con las pequeñas. Los haces más grandes contienen xilema y floema en cantidad comparable a los haces del pecíolo o de traza foliar (Esau, 1972).

Cuando la transpiración aumenta, la demanda de un suministro mayor de agua hacia las hojas se transmite a las raíces mediante un descenso en el potencial hídrico de la savia del xilema, lo cual causa un aumento en la absorción. Cuando la absorción se reduce, la información llega a las hojas en forma de un descenso potencial del potencial hídrico de la savia del xilema, que causa una pérdida de turgencia y posteriormente los estomas se cierran. Esto tiene por resultado la pérdida de agua por transpiración. En conjunto, el sistema o tejido conductor continuo de las plantas funcionan con bastante eficacia para transportar agua, nutrientes y los fotosintatos elaborados en las plantas (Lira, 1994).

Xilema. Es el principal tejido conductor de agua y sirve también como tejido de sostén. La conducción de agua es en dirección acropeta. El xilema es un tejido complejo constituido por varios tipos de células: Elementos traqueales, fibras y parénquima (Esau, 1972).

Floema. Es el principal tejido conductor del material alimenticio, efectuándose la conducción en direcciones basipeta o acropeta. A igual que es el xilema, el floema es un tejido complejo constituido por diferentes elementos, son menos detallados los estudios hechos sobre los elementos del floema. El floema consta de elementos cribosos, células acompañantes, fibras esclereidas y células parenquimatosas (Esau, 1972).

Estructura del Pecíolo

Existen semejanzas entre los tejidos del pecíolo y los del tallo. La epidermis del pecíolo es continúa con la del tallo. Las células parenquimáticas del pecíolo, como las del cortex contienen pocos cloroplastos, sobre todo comparados con las de la lámina foliar. Los tejidos de sostén del pecíolo pueden ser colaterales, bilaterales o concéntricos. El floema esta acompañado, en muchas especies, por grupos de fibras. La disposición de los tejidos vasculares en el pecíolo difiere en las distintas plantas. Pueden aparecer en sección transversal, en forma de media luna interrumpida, continua o como un anillo completo o interrumpido o como un anillo con los haces adicionales, externos e internos. Una disposición de los haces dispersos se ve en muchas monocotiledóneas (Esau, 1972).

Debido a que no se encontró bibliografía relacionada y que consideramos que estos son los primeros trabajos con relación a la enfermedad de punta morada afectando sistema vascular resulto difícil aportar mas información con relación a la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los meses de Junio a Diciembre del 2006, en el invernadero del Departamento de Parasitología y laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento, instalaciones que se encuentran ubicadas en la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN), situada en los paralelos 25° 22' Latitud Norte y 101° 00' Longitud Oeste respecto al meridiano de Greenwich y una latitud de 1742 msnm.

Material Vegetativo

Se utilizaron tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad Caesar obtenidas de invernadero, donadas por el Dr. Alberto Flores. Estos tubérculos provenían de plantas protegidas con tela de organza.

Los tubérculos de papa se colocaron en macetas de plástico de 5 kilogramos de capacidad conteniendo el sustrato promix.

Establecimiento de Camas

Estas se establecieron en el interior del invernadero y se prepararon en un micro túnel con 5 divisiones en forma de arco con tela de organza, esto para proteger a las plantas de papa (*Solanum tuberosum*), y reducir al mínimo las posibilidades de contaminación por algún otro organismo que pudiera causar una infección o el paso de insectos vectores a los tratamientos.

Fecha de Siembra

La siembra de tubérculos se efectuó el 30 de junio, previamente los tubérculos se habían acondicionado a la cámara bioclimática para acelerar su brotación. La siembra se

realizó en bolsas de polietileno con sustrato estéril con un total de 50 macetas en la cual se depositó un tubérculo a cada una, y se colocaron 10 macetas por tratamiento.

Obtención e Incremento de Patógenos

Una vez obtenido los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae*, se realizaron resiembras en medio de cultivo utilizando Papa Dextrosa Agar (PDA), en una cámara de flujo laminar usando para ello un sacabocados estéril de 1cm² de diámetro, de donde se extrajeron ex-plantas de crecimiento vigoroso de micelio con una aguja de disección y se transfirieron al centro de las cajas Petri con aproximadamente 20 ml de medio (PDA) por caja previamente esterilizados en autoclave a 120 °C durante 20 minutos, todo esto se fue realizado en la cámara de flujo laminar con todas las condiciones de asepsia para evitar contaminación en los medios y posteriormente se incubaron.

Preparación del Inoculo

Una vez incrementado los hongos se tomaron las cajas petri con el hongo desarrollado y se extrajeron explantes con un sacabocado y se introdujeron a un tubo de ensayo con 10 ml de agua destilada, se colocaron en un agitador para disolverla totalmente quedando con una concentración de 5×10^6 conidias/ml, para posteriormente realizar la inoculación. Este conteo fue realizado en la cámara de flujo laminar.

Inoculación de los Hongos *Fusarium oxysporum* y *Verticillium dahliae*

Esta técnica de inoculación de los patógenos es en base a Koike *et al.* (1994), este se realizó en los tallos de las plantas aproximadamente a 1cm por arriba del suelo, con una jeringa hipodérmica se extrajo el líquido del tubo con 10 ml de solución y se inyectó, se procuró no romper el tallo y que todo el líquido sea absorbido por el mismo. Este se realizó el 26 de Julio a los 26 días después de la siembra, la concentración de conidias utilizadas fue de 5×10^6 conidias/ml y 2.5×10^6 en la combinación.

Obtención del insecto *Bactericera Cockerelli*

Los insectos *Bactericera cockerelli* fueron colectados realizando muestreos con redes entomológicas en diferentes lotes de papa en campo en Coahuila y Nuevo León

con alto grado de incidencia de la enfermedad de punta morada. Posteriormente fueron colocados en jaulas cerradas con malla de organza que contenían plantas de papa para su reproducción y alimentación, para ser liberados el 26 de julio, colocando 10 insectos por planta de acuerdo al tratamiento.

Establecimiento del Experimento

Se establecieron cinco tratamientos incluyendo al testigo, cada tratamiento esta constituido por diez plantas, estos quedaron establecidos de la siguiente manera.

Cuadro 1. Relación de Tratamientos en los que se inoculó a *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* e infestados con el insecto *Bactericera cockerelli* UAAAN. 2007.

Tratamiento	Descripción de Tratamiento
T 1	Plantas inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> a una concentración de 5×10^6 conidias/ml.
T 2	Plantas infestadas con 10 insectos de <i>Bactericera cockerelli</i> . por planta.
T 3	Plantas inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> a una concentración de 5×10^6 conidias/ml y la liberación de 10 insectos <i>Bactericera cockerelli</i> . por planta.
T 4	Plantas inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Verticillium dahliae</i> a una concentración de 2.5×10^6 conidias/ml combinando los dos patógenos.
T 5	Testigo (sin tratar).

Variables a Evaluar

Para las evaluaciones, se realizaron tres cortes de pecíolos para cada tratamiento de aproximadamente 3 cm, en tres diferentes fechas de muestreo, estos cortes fueron seleccionados de plantas que tenían un mayor grado de manifestación de la enfermedad, esto fue después de haberse realizado las inoculaciones el 26 de Julio de 2006 de los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae* al mismo tiempo que se hizo la liberación del insecto *B. cockerelli* a las plantas de papa. Las siguientes fechas de corte se seleccionaron por que se consideró que el desarrollo de la enfermedad era en mayor grado.

El primer corte de pecíolo fue el 31 de agosto de 2006, cuando la planta ya tenía 36 días de estar inoculada.

El segundo corte de pecíolo fue el 12 de septiembre de 2006, la planta tenía 48 días de inoculada.

El tercero y último corte de pecíolo de la planta de papa se realizó el 19 de octubre de 2006, la planta tenía 81 días de inoculada.

Para el insecto *B. cockerelli* una vez incrementada la población se realizó la infestación al tratamiento 2, colocando 10 insectos por planta.

Metodología Histológica

Fijación de Muestra

Los cortes de pecíolos de papa, de aproximadamente 3 cm., que se realizaron a la planta seleccionada se colocaron en frascos con fijador FAA (formaldehído, alcohol

al 70% y ac. Acético). Esto con el objetivo de matar al tejido sin distorsionarlo, además de hacerlos firmes para su manejo.

Deshidratación

Este consiste en quitar el agua de los tejidos fijados y endurecidos. Se pasaron los pecíolos por diferentes soluciones deshidratadas de menor a mayor concentración, las soluciones fueron: alcohol etílico al 70%, 85% y 96% por espacio de dos horas cada uno, siguiendo con alcohol de 96^a + eosina, alcohol absoluto, alcohol absoluto + xilol a diferentes concentraciones (3:1, 1:1, 1:3); esto se realizó con intervalos de dos horas, por último los pecíolos pasaron a xilol puro por espacio de 2 horas.

Infiltración de Muestras

Los cortes se colocaron en frascos con xilol puro, se agregó parafina y se metieron en la estufa a 35°C por 24 horas, después de este tiempo se les agregó más parafina y se elevó la temperatura de la estufa a 45°C por 24 horas, enseguida se hizo el cambio a parafina pura, luego la temperatura se elevó a 55°C por 24 horas; por último se elevó la temperatura a 60 °C por 24 horas (Zamora 2004).

Inclusión de Muestras

Se utilizaron moldes de aluminio de 11 x 9 cm, se agregó una capa de parafina líquida a los moldes y con la ayuda de una aguja de disección se extrajeron los cortes de los frascos y se colocaron en los moldes, se fueron moviendo los tejidos con la aguja para quedar en forma transversal en los moldes para posteriormente realizar los cortes, y con el mechero se fue soplando poco a poco sobre la superficie de la capa de parafina para evitar que solidifique rápidamente, por último se le colocó una etiqueta con los datos del tratamiento correspondiente y se dejó el molde a temperatura ambiente para solidificar.

Cortes en el Micrótopo

Se realizaron cortes longitudinales y transversales con un grosor de 15 micras

Fijación de los Cortes en el Portaobjetos

En una caja coplin con alcohol al 96% se colocaron los portaobjetos limpios para quitar la grasa.

Sobre un portaobjeto limpio se unto el pegamento de Haupt (1g de gelatina, 15 cm³ de glicerina, 2g de metabisulfito de sodio por cada 100 cm de agua destilada) y unas gotas de formaldehído al 4% y se colocó el tejido en baño maría 35 °C hasta que el tejido se extendió completamente, posteriormente se montó en el portaobjetos cuidadosamente dejando totalmente extendido el tejido para evitar que la parafina se distorsionara y el tejido se deshaga. Se dejó secar la muestra durante una semana de manera que estas queden fijas sobre el portaobjetos.

Coloración de Cortes de Tejido.

Se prepararon una serie de reactivos en frascos coplin con capacidad para ocho portaobjetos cada uno. Estas preparaciones se colocaron de manera que el tejido quede hacia la derecha, esto para identificar la muestra y poderla manejar, el procedimiento de coloración es como se indica en el cuadro 2:

Cuadro 2. Procedimiento de tinción con Safranina-fast green de tejidos de planta de papa infectadas con *F. oxysporum*, *V. dahliae* e infectadas con *B. cockerelli*. UAAAN 2007.

Análisis de Muestras para Fotografía

Las preparaciones montadas y secas, se observaron al microscopio para

1 Xilol I, II, III (desparafinar)	2-5 minutos c/u
2 Alcohol Etílico Absoluto	2-5 minutos
3 Alcohol Etílico de 96%	2-5 minutos
4 Alcohol etílico de 85%	2-5 minutos
5 Alcohol Etílico de 70%	2-5 minutos
6 Alcohol Etílico de 50%	2-5 minutos
7 Agua Destilada	1-2 minutos
8 Safranina Acuosa al 1.0%	1-12 minutos
9 Agua Destilada	Enjuague
10 Alcohol Etílico de 30%	Enjuague
11 Alcohol Etílico de 50%	Enjuague
12 Alcohol Etílico de 70%	Enjuague
13 Alcohol Etílico de 85%	Enjuague
14 Alcohol Etílico de 96%	Enjuague
15 Verde Rápido en Alcohol Etílico 96%	5-30 segundos
16 Alcohol Etílico Absoluto I	Enjuague
17 Alcohol Etílico Absoluto II	Enjuague
18 Alcohol Etílico Absoluto III	Enjuague
19 Carbol – Xilol	Mínimo 10 segundos (Diferenciador)
20 Xilol I, II, III	10 Minutos Mínimo

seleccionar las mejores preparaciones que se deseaba fotografiar. Para esto se escogieron tejidos completos, que no fueran doblados, que no presentaran muchos daños de manejo y donde se pudiera observar el daño causado por el hongo y el insecto.

A los tejidos seleccionados se les tomó microfotografías con el objetivo de **10x**, por último se hizo un análisis comparativo de tejido de los pecíolos de los diferentes tratamientos, diferentes fechas de inoculación y el testigo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como podemos observar en la fotografía 1, se aprecia que en las plantas inoculadas *Fusarium oxysporum* los dos últimos cortes B) y C) manifestaron deformación de los tejidos al preparar la muestra. En el testigo este mismo problema se presentó en la muestra intermedia E) a pesar de ello las células del xilema, seguramente por su mayor resistencia, se presentaron adecuadas para la comparación cualitativa de número y tamaño, no así para el comparativo de distribución.

En las muestras testigo D) E) y F) es posible observar que conforme pasa el tiempo las muestras mostraron una mayor cantidad de células por unidad de área en el corte transversal, es decir, el tamaño celular fue menor en el parénquima, sobre todo en

el cortex. En el caso del parénquima de la medula esta diferencia se mantiene pero es de menor magnitud. En cuanto a los haces vasculares es posible apreciar un aumento en la cantidad de los mismos al pasar de la muestra D) a la F) en el testigo, lo cual pudiera indicar que conforme transcurre el tiempo aumenta la densidad de haces vasculares por pecíolo. En cuanto al efecto de la inoculación con *F. oxysporum* los cortes de tejidos indican que el tamaño celular del parénquima disminuye, tal como puede apreciarse en la Figura 4.1 lado C) en donde se compara el testigo F), inoculado con el hongo. Por otra parte, la misma comparación pero refiriéndose a los haces vasculares se encontró que en los pecíolos de plantas infectadas parece haber más células de traqueidas del xilema pero formando grupos más pequeños y dispersos, resultando en general que el tamaño del agrupamiento vascular fue menor. Es difícil afirmar la razón del cambio en el número y agrupamiento de los sistemas vasculares que parecen asociarse a la presencia de *F. oxysporum*. Sin embargo, entre los síntomas causados por este patógeno se encuentran brotes axilares y entrenudos cortos (Flores-Olivas 2004), los cuales son claramente dependientes de cambios en los niveles de hormonas vegetales. Es posible entonces que estos mismos cambios en los niveles de hormonas se correlacionen con la estructura y distribución de los haces vasculares, tal como lo menciona Nieminen *et al.* (2004).

Primer corte

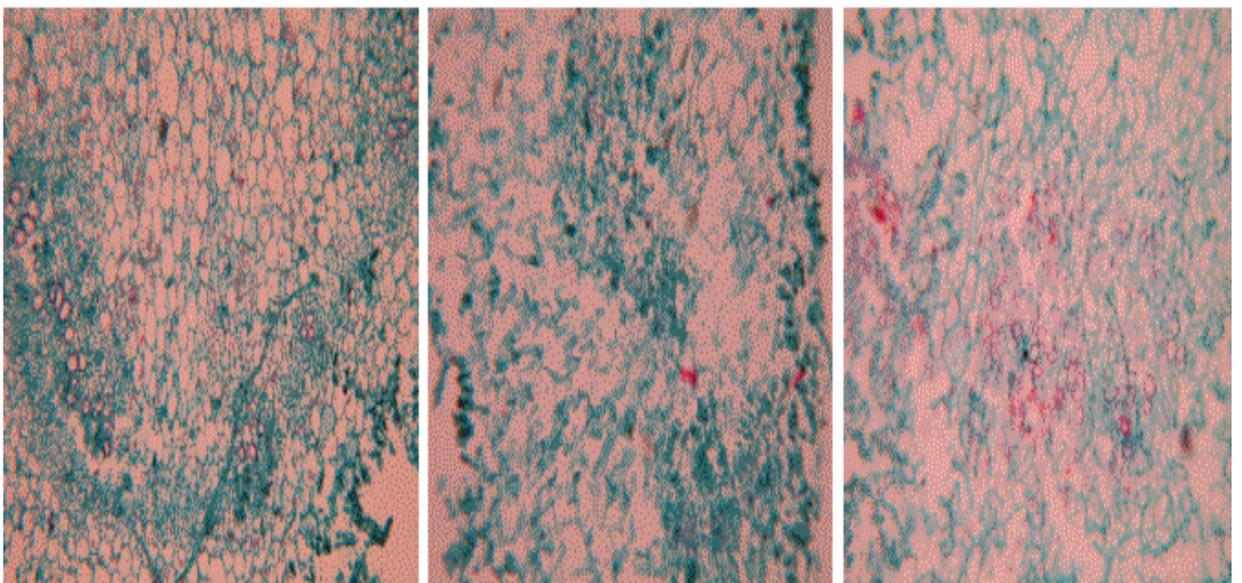
A

Segundo corte

B

Tercer corte

C



D

E

F

Figura 1. Microfotografías de los cortes de pecíolos de papa a 10x inoculadas con el hongo *Fusarium oxysporum* en tres diferentes fechas de muestreo en días después de la inoculación (ddi), las de arriba agrupa a las fotografías inoculadas con el hongo *Fusarium oxysporum* A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; los de abajo D, E, F, corresponden a los testigos sin tratar en las mismas fechas corte a las de la inoculación.

De acuerdo al análisis tenemos que en la figura 2, se observa que el testigo en la segunda muestra E) hay deformación del tejido montado por lo que no es posible apreciar claramente los tejidos conductores. Sin embargo, en el testigo corte F) si se puede realizar el estudio comparativo ya que se observa claramente la estructura de los tejidos.

Desde el primer corte A) a la C) se observa un daño en el tejido de la epidermis, ya que las células se encuentran deformadas en comparación con el testigo. En la primera fecha de corte de la A) hasta la C) se observa que en este tenemos una gran cantidad de haces vasculares de mayor tamaño lo que no ocurre en el segundo corte B) y en el ultimo corte C) en el que observamos una reducción casi total de los haces vasculares,

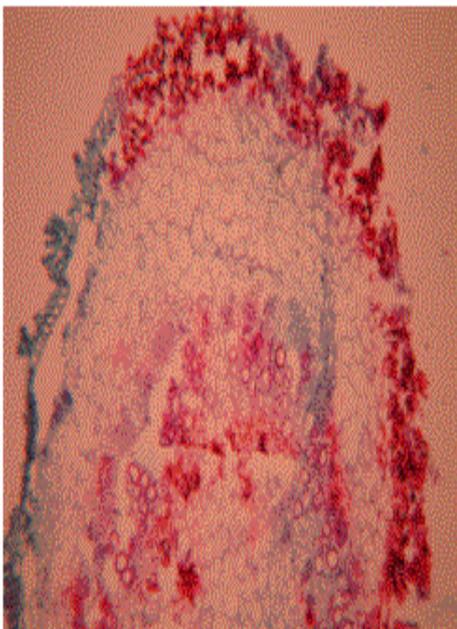
además de que no se tiene la forma estructural que se aprecia en comparación al testigo, esto podría estar relacionado con el tipo de daño indirecto, el cual se manifiesta cuando el insecto se alimenta de la planta y succiona sus jugos ocasionando que estos no se desarrolló tornándose de un color amarillo (Avilés, *et al*, 2003).

Tenemos que al comparar el tamaño de las células parenquimáticas de la médula y el cortex se aprecia que en la última muestran C) las células son de mayor tamaño en comparación con el testigo F).

Sabemos que el insecto *Bactericera cockerelli* es un transmisor del fitoplasma, por lo que pudiera estar ocasionando estas alteraciones fisiológicas y los síntomas producidos por la enfermedad ya que esto coincide por lo mencionado por Salas (2006), en la que se ratificó que *B. cockerelli* es portador del fitoplasma en papa además que transmiten el fitoplasma a la planta en cualquiera de sus etapas fenológicas, y esto podría causar cambios en la estructura de los haces vasculares ya que en nuestros tratamientos tenemos, que de acuerdo a las diferentes fechas de corte de los pecíolos de papa, se observan claramente que el tejido hay una disminución drástica de haces vasculares y un aumento en el tamaño de las células de parénquima en comparación con los del testigo.

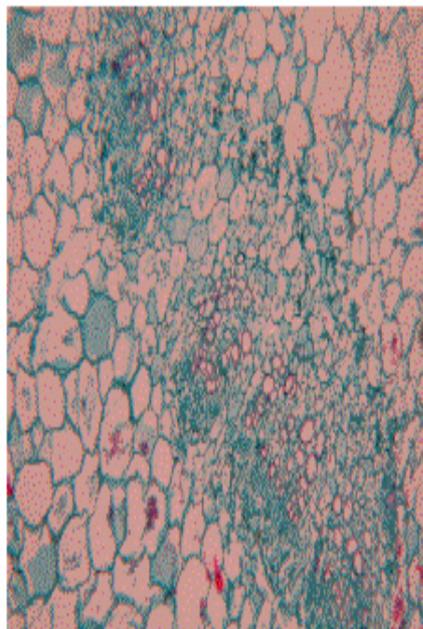
Primer corte

A



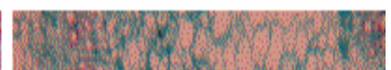
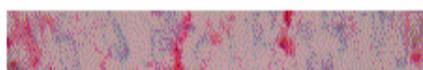
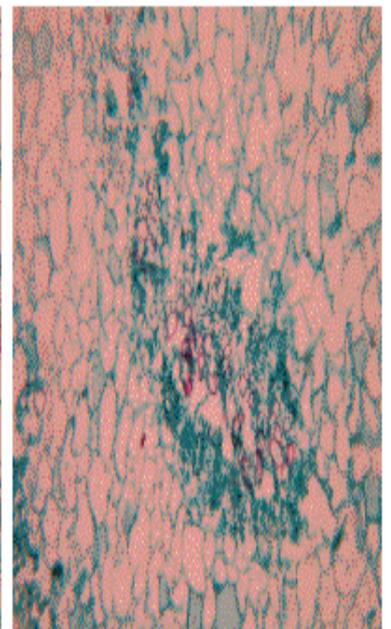
Segundo corte

B



Tercer corte

C



D

E

F

Figura 2. Microfotografías de los cortes de pecíolos de papa a 10x infestadas con el insecto *B. cockerelli* en tres diferentes fechas de muestreo en días después de la inoculación (ddi), las de arriba agrupa a las fotografías infestadas con el insecto *B. cockerelli* A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; los de abajo D, E, F, corresponden a los testigos sin tratar en las mismas fechas de corte a las de la inoculación.

De acuerdo a las fotografías de la figura 3, podemos observar que hay un aparente desprendimiento de los haces vasculares tanto en el xilema como en el floema desde el primer corte A) a la C) y conforme pasa el tiempo ya no es posible apreciar claramente su presencia en comparación al testigo F). Del mismo modo se observa la tendencia aparente descrita en la figura anterior, es decir, las células de parénquima modifican su tamaño aumentando conforme se hace menos visible la presencia de haces vasculares. Esto podría ser causado por el efecto de inoculación del hongo *Fusarium oxysporum* ya que este causa daño al sistema vascular, marchitamiento y coloración amarilla (Agrios 1988). Este también pudiera estar asociado con los síntomas relacionados con el insecto *Bactericera cockerelli* el cual se encuentra afectando tallos e impide el paso de nutrientes lo que provoca; tubérculos aéreos, acortamiento de entrenudos, engrosamiento de nudos, tallos leñosos y erectos, brotes anormales con la

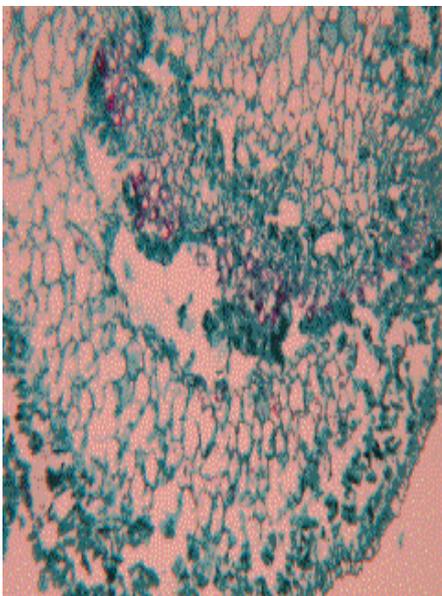
base oblonga de color púrpura y un vástago erecto clorótico y leñoso, en algunas plantas los tubérculos aéreos de color morado con pequeñas hojas, conductos vasculares necróticos café, hasta prolongarse a toda la planta, Salas (2006). Ya que en comparación con el testigo F) se observa claramente que los haces vasculares están agrupados y pequeños lo que no ocurre con los de la inoculación en el tercer corte C) en las que los haces vasculares son pocos y totalmente desagrupados.

Incluso podemos observar que el tamaño de la médula se encuentra ensanchada y deforme desde el primer corte A) hasta el último C) a partir de la inoculación de los hongos la liberación de los insectos y no así en el testigo comparándolo con el último corte de este F).

Estos formas de daño que podría estar ocasionando el hongo podría estar relacionado con la forma de penetración en la que una vez penetrado el micelio se propaga intercelularmente y llega a los vasos xilemáticos e invade el sistema vascular, el micelio avanza y empieza a producir esporas y los lleva al interior de la planta, la microconidia germina y el micelio invade nuevamente los haces vasculares. (Citado por Moctezuma 2005).

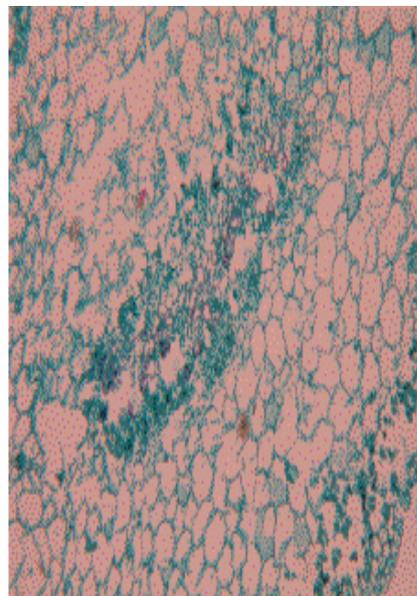
Primer corte

A



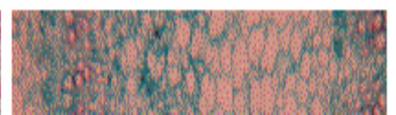
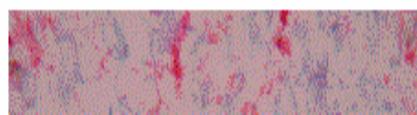
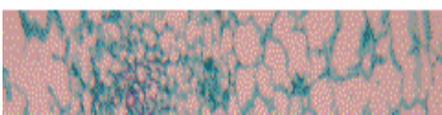
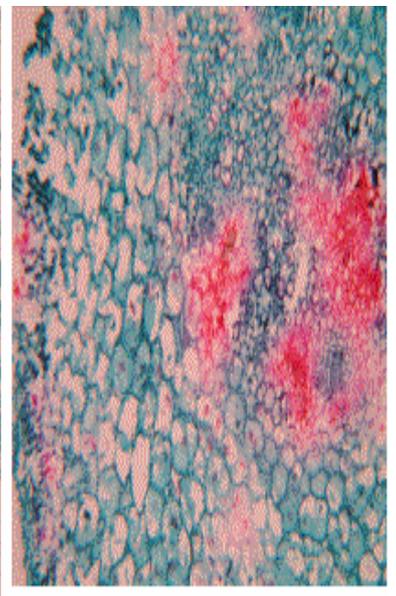
Segundo corte

B



Tercer corte

C



D

E

F

Figura 3. Microfotografías de los cortes de pecíolos de papa a 10x infestadas con el insecto *B. cockerelli* e inoculadas con *F. oxysporum* en tres diferentes fechas de muestreo en días después de la inoculación (ddi), las de arriba agrupa a las fotografías infestadas con el insecto *B. cockerelli* e inoculadas con *F. oxysporum* A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; los de abajo D, E, F, corresponden a los testigos sin tratar en las mismas fechas de corte a las de la inoculación.

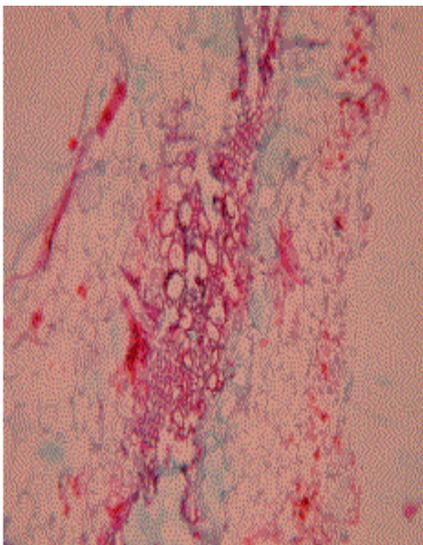
Con relación a las fotografías tomadas podemos mencionar que en la figura 4, podemos observar que desde el primer A) corte hasta el último C) se observa alguna modificación negativa en la resistencia mecánica de las células de parénquima frente al corte con el micrótopo. En ese sentido no es posible comparar el tejido parenquimático del testigo contra el tratamiento doblemente inoculado. En relación a los haces vasculares, se aprecia de nuevo una disminución muy significativa en el tamaño y número de los mismos, sin que esto se asocie con una disminución aparente en el tamaño de las traqueadas A), B) y C) todo esto podría coincidir con (Moctezuma, 2005), en el cual los hongos *F. oxysporum* y *V. dahliae* se encuentran distribuidos y asociados al síndrome de la punta morada y además que alcanzan en muchos de los casos altos niveles de incidencia y severidad, siendo el primero de estos el que presenta mayores efectos en los síntomas de la enfermedad en condiciones de invernadero.

Refiriéndonos a los cortes de los testigos, tenemos que en el F) se aprecia claramente los haces vasculares y no así con los cortes de arriba A) B) y C) lo que provoco que no se puedan comparar ya que en el proceso de montaje en portaobjetos no resistieron los tejidos la consistencia necesaria y se fueron distorsionando lo que provoco que no se visualizaran mejor los tejidos de las inoculaciones y no así los del testigo, esto nos llevó a comparar sólo lo poco que se logró observar en la fotografía.

Debido a que resulto muy difícil realizar la comparación de los tratamientos inoculados con los hongos, con los del testigo se le atribuyó a que los planta se encontraban muy enfermas de punta morada, observándose síntomas de achaparramiento, entrenudos cortos, decoloración vascular, tubérculos aéreos, todo eso pudo haber provocado que los pecíolos no desarrollaron la consistencia necesaria para soportar los procesos para evaluación de laboratorio a los que fueron sometidos (Flores-Olivas, 2004).

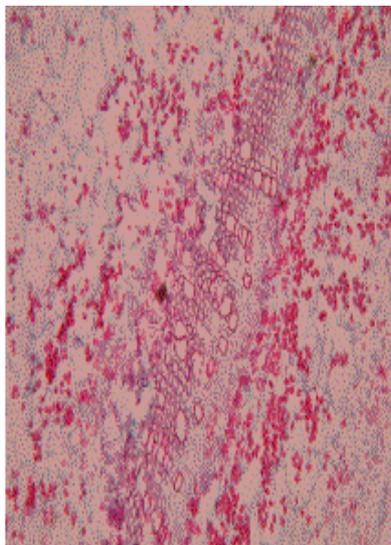
Primer corte

A



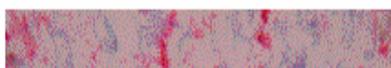
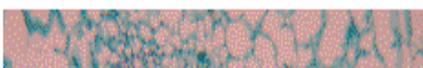
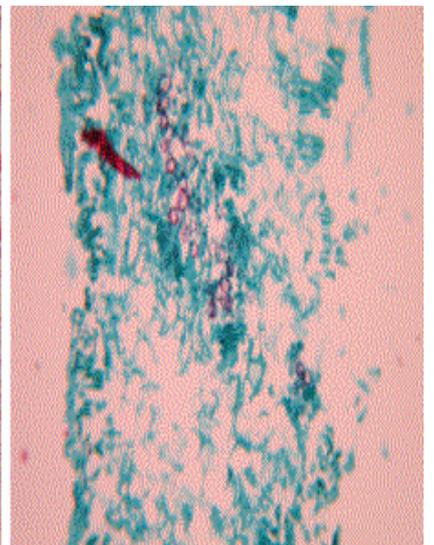
Segundo corte

B



Tercer corte

C



D**E****F**

Figura 4. Microfotografías de los cortes de pecíolos de papa a 10x inoculadas con el hongo *F. oxysporum* y *V. dahliae* en tres diferentes fechas de muestreo en días después de la inoculación (ddi), las de arriba agrupa a las fotografías inoculadas con el hongo *F. oxysporum* y *V. dahliae* A, 36 ddi; B, 48 ddi; C, 81 ddi; los de abajo D, E, F, corresponden a los testigos sin tratar en las mismas fechas de corte a las de la inoculación.

El siguiente cuadro se realizó comparaciones para determinar el tamaño de tejidos.

Cuadro 3. Comparación de tejidos vasculares en tamaño, forma y número, en días después de la inoculación (ddi), A) primer corte, B) segundo corte, C) tercer corte, Fu, A) 36 ddi; B) 48 ddi; C) 81 ddi; para el Fi, A) 36 ddi; B) 48 ddi; C) 81 ddi; para Fi + Fu, A) 36 ddi; B) 48 ddi; C) 81 ddi, y para Fu+ Ve, A) 36 ddi, B) 48 ddi, C) 81 ddi. UAAAN 2007.

	Médula Tamaño Celular	Haces Tamaño	Vasculares Número	Floema Número	Xilema Traqueidas
Testigo	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
<i>Fusarium Oxysporum</i> (Fu) A	Es más pequeño	+	+	+	Muy separado y en mayor cantidad
B	Se encuentran más anchos	-	-	-	No se aprecian muy bien
	Están más	+	-	No se	Pocos y muy

C	distorsionados y más largos			distinguen	grandes
<i>Bactericera cockerelli</i> (Fi) A	Se encuentran muy serrados	+	-	+	Mismo tamaño que el testigo
B	Son de mayor tamaño	+	+	+	Son más grandes, pero sin uniformidad
C	Son mas alargados y grandes	+	-	-	Son demasiado grandes.
<i>Bactericera cockerelli</i> (Fi) + <i>Fusarium oxysporum</i> (Fu) A	Están distorsionados	+	+	+	Muy pequeños
B	Se encuentran alargados	-	-	-	Demasiado pequeños
C	Son mayores y alargados	+	+	+	Demasiado pequeños y deformes
<i>Fusarium oxysporum</i> (Fu) + <i>Verticillium dahliae</i> (Ve) A	Son menores y pequeños	+	-	+	Quedan muy pocos y son muy grandes
B	Es muy poca y ensanchada	+	+	+	Muy desagrupados
C	Queda muy poca	-	-	-	Queda muy poca y mal distribuida

CONCLUSIONES

En las inoculaciones con el hongo *Fusarium oxysporum*, hubo un aumento de tamaño de los haces vasculares, además también se incremento el tamaño y número de células, y por lo mismo un aumento en el tamaño de las células de traqueida pero formaron grupos muy pequeños en comparación con el testigo.

Para los datos obtenidos del insecto *Bactericera cockerelli* también se mostraron cambios drásticos en lo tres diferentes cortes que se realizaron al compararlos con los cortes del testigo, hubo daño en el tejido de la epidermis al observar que sus células se

encontraron deformes, el número de haces vasculares disminuyó considerablemente lo que no ocurrió con el testigo, también el tamaño de la médula mostraron mayor tamaño.

Para el hongo *Fusarium oxysporum* en combinación con el insecto *Bactericera cockerelli* y con el hongo *Verticillium dahliae* en los tratamientos evaluados hubo grandes cambios en comparación del testigo, lo que se observó claramente que en cuanto al tamaño de la médula hubo desprendimientos y también en el número de haces vasculares disminuyó mucho y además la estructura de la epidermis se encontraba totalmente rota. Esto nos indica que los haces vasculares en cuanto al número disminuyeron en todos los tratamientos establecidos al compararlos con el testigo, al igual que el tamaño celular por lo que hubo una deformidad de tamaño, lo que provocó un aumento en traqueidas, daño al tejido epidérmico y tamaño de médula.

Esto quiere decir que los hongos *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* y el insecto *Bactericera cockerelli* producen cierto grado de afectación en la estructura del tejido vascular de la planta de papa.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1998 Plant Pathology. Third Edition. Academic Press, INC. London. 803 p.
- Agrios, G.N. 1996, Fitopatología, UTEHA, Noriega Editores, México 610-634 p.
- A. Brensky, F.E. 2002. Tratado de Botánica. 8° Edición. Castellana. Editorial Omega. 157-158 p.
- Alemán Navarro, I. 2005. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Buenavista, Saltillo, Coahuila, México 11p.
- Alexopoulos, C. J. and Mims, C. W. 1979. Introductory Mycology. Third Edition. J. Wiley and Sons. New York. 632 p.

- Alonso, A. F. 1996. El cultivo de la Patata. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 272 p.
- Anaya, R. S; Romero, N. J. *et al.* 1999. hortalizas Plagas y Enfermedades. Editorial Trillas. Primera Edición. México, D. F. 544 p.
- Aviles, G.M; Garzón, T. J; Marín. J. A; y Caro P. H. 2003. El psílido del tomate *Paratriza cockerelli* (Sulc). Biología. Ecología y su Control. El taller de *Paratriza cockerelli*. Ixtapa, Zihuatanejo, Guerrero 22-23 p.
- Ayers, G. W. 1952. Studies and *Verticillium* Wilt of Potatoes. American. Potato Journal 29: 201-206 p.
- Cadena-Hinojosa, M.A. 1974. Estudio sobre la punta morada de la papa. Centro de Fitopatología Texcoco, México, Colegio de Postgraduados 53 p.
- Cadena-Hinojosa, M.A. 1993. La punta morada de la papa en México: Incidencia y búsqueda de resistencia. Revista Agrocienza, Volumen 4, (No 2) 247-256 p.
- Cadena, H.M. 1996. La punta morada de la papa en México. Efecto de cubiertas flotantes, genotipos y productos químicos. Revista Mexicana de Fitopatología 14(1) 20-24 p.
- Calderóni A. V. 1978. Enfermedades de la Papa y su Control. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 143 p.
- Castrejon, S. A. 1978. Especies de *Verticillium* Causantes del marchitamiento del Algodonero en la Comarca Lagunera. Agricultura Técnica de México 4 (2) 127-135 p.
- Cruz-Martínez, J.M. 2001. Ácidos Húmicos y Fúlvico en papa (*Solanum tuberosum* L.) En la sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis Licenciatura. Buenavista, Coahuila, México. 14 p.
- De la garza G; J. L. 1996. Fitopatología General. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Marín, Nuevo León, México 515 p.
- Devaux, A. L. and Sackston, W. E. 1996. Taxonomy of *Verticillium* Species Causing Wilt of Horticultural Crops in Quebec, Canadian Journal of Botany 44: 803-811.
- Dimock, A. W; Geissinger, C. M and Harst, R. K. 1971. A New Adaptation of Tissue Implantation for the Study of Virus and Micoplasma Diseases. Phytopathology 61: 429-430 p.

- Doi, V; Teronaka, M; Yora, K; and Asuyama, H. 1967. Mycoplasma or PLT group-like microorganism's found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches'. *Ann phytopathology. Soc. Jap* 33: 259-256 p.
- Esau, K. 1972. *Anatomía Vegetal*. Segunda Edición. Ediciones H. Blume. Madrid España
- Flores-Olivas, A; Alemán Navarro, I; y Notario Zacarias; M. I. 2004. Alternativas para el Manejo de la Punta Morada de la Papa. *Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México 40-44p.
- Garzón-Tiznado J.A. 2002. El papel de la *Paratrypanozoa cockerelli* en la transmisión de fitoplasmas en tomate. *Fundación Produce*.
- Garzón, T. J. A. 2003. Asociación de *Paratrypanozoa cockerelli* Sulc con enfermedades en papa (*Solanum tuberosum*) y tomate (*Lycopersicon esculentum*) en México. En taller de *Paratrypanozoa cockerelli*. Ixtapa, Zihuatanejo, Guerrero, México 79-82 p.
- Garza, U. E. y Rivas, A. M. 2003. Manejo integrado de las plagas de chile y jitomate en la zona media de San Luis Potosí. INIFAP-CIRNE. Campo experimental Ebano. Folleto para productores No5. San Luis Potosí México 47 p.
- Garzón, T. S. A; Garzón, C. J. A; Velarde, F. S; Marín, J. A. y Cárdenas, O. G. 2005. Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al "permanente del tomate" por el psílido *Bactericera cockerelli* Sulc en México. En *Entomología Mexicana*. Vol 4. Tapachula, Chiapas, México. 672-675 p.
- Gilmon, J. C. 1963. *Manual de los Hongos del Suelo*. Compañía Editorial Continental. S.A. Primera Edición en Español. México, D. F. 572 p.
- Guigón, L. C. 1994. *Epidemiología de las Enfermedades de la papa Causadas por Hongos Fitopatógenos del suelo en el Sur de Coahuila*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 103 p.
- Hoymann, W. G; Picha, B; Turquist, O. C; 1963. Pelianca a new potato variety with moderate resistance to some common pathogens, *Am. Pot. J.* Volumen 23: 646-705 p.

- Hooker, W. J. 1980. Compendio de Enfermedades de la Papa. Publicaciones Centro Internacional de la Papa. Lima Perú. 166 p.
- Iporra, G; Álvarez, V; Fernández, N. E. N. 1998. Como reconocer y evitar la punta morada en el cultivo de la papa. Ficha técnica No 9. Programa de Investigación de la papa. Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria.
- Latorre, G. B. 1999. Enfermedades de las Plantas Cultivadas. Quinta Edición. Editorial. Alfa Omega. 646 p.
- Lee, I. M; Gundersen-Rindal, D. E; Bertaccini A. 1998^a. Phytoplasma Ecology and genomic diversity. *Phytopathology* 88: 135-136 p.
- Lee, I. M; Davis, R. E; 2000, Gundersen-Rindal, D. E; Phytoplasma: Pytopatogenic Moliicutes, Annual, Reviews, Microbiology, Volumen 54, 221-255 p.
- Lira, S. R. H. 1994. Fisiología Vegetal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Editorial Trillas.
- Martínez-Soriano, J. P; López-Flores, C.I; 1999, La punta morada de la papa. Unidad de Biotecnología e Ingeniería de Plantas. CINESTAV, Irapuato, México.
- Martínez-Soriano; J. P; Leyva-López, N. E; Zavala Soto, M. E; Berés, M; Léal Klevezas D. S. 1999^a. Detección molecular del agente causal del síndrome “bola de hilo” de la papa en semillas infectadas y asintomáticas. *Biotecnología aplicada*. 93-96 p.
- Martínez –Soriano, J. P; López Flores, C. I. 1999b. La punta morada de la papa. IX Congreso Nacional de Productores de Papa. Memorias. León, Guanajuato, México.
- Mendoza, Z. C. y Pinto, C. B. 1983. Principios de Fitopatología y Enfermedades Causadas por Hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 310 p.
- Metcalf, C.L y Flint. W.P. 1984. Insectos destructivos e insectos útiles, sus costumbres y control. 4^a Edic. Edit. Continental, México. 1208p.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades Fungosas de Hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 85 p.
- Moctezuma, G R; 2005. Hongos de Suelo y su Asociación con el Síndrome de Punta Morada en Coahuila y Nuevo León, Tesis Maestría Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 83 p.

- Montaldo, A. 1984. Cultivo y mejoramiento de la papa. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Editado por IICA, San José, Costa Rica 7-31 p.
- Moramorosch, K. 1998. Potato purple top Wilt. Simposio Internacional de la Papa. México.
- Nieminen, M. Kaisa 2004. Plant Physiology. Vol. 135. University of Helsinki. 654 p.
- Platt, H. W. and Sanderson, J. B. 1987. Comparison of Inoculation Methods for Field Studies of Varietal Response to Verticillium Wilt of Potatoes. American Potato Journal 64: 87-92 p.
- Ploaie, P. G. 1981. Mycoplasmlike organisms and plant diseases in Europa. Plant diseases and rector Academia Press. 61-103 p.
- Presley J. T. 1950 Verticillium Wilt of cotton UIT Particular Emphasis on Variation of the Causal Organism. Phytopathology 40: 497-511 p.
- Rascon-Emilio, A; 1999, Producción de tubérculos de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) mediante esquejes de tallo y minitubérculos bajo invernadero. Tesis Licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México, 5-6 p.
- Richards, B. L.: 1928. A new and destructive disease of the potato in UTA and it's relation to the potato psyllid Phytopathology 18: 140-141 p.
- Richards, B. L. and Blood, H. L. 1938. Psyllid yellow of the potato. Jaur. Agr. Research 189-216 p.
- Richards, B.L; and Blood. H.L. 1933. Psyllid yellows of the potato. Jour. Agr. Research. 46: 189-216.
- Roberts, D. A. y Boothroyd, C. W. 1978. Fundamentos de Fitopatología Vegetal. Editorial Zaragoza, España 392 p.
- Romero, C. S. 1993, Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Direccion de Patronato Universitario. A. C. Chapingo, México. 354 p.
- Rousselle, P; Robert, Y; Crosnier, J. C; 1999. La patata. Ediciones, Mundi-Prensa, Madrid, España 238 p.
- Ruiz, N. R. 1994. Efecto del color del acolchado y cintas reflejantes sobre insectos vectores de virus y el desarrollo fonológico del chile serrano *Capsicum annum*

- L. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, 8 p.
- Salazar, L. F. 1997. Identificación y control de enfermedades virales y fitoplasmas de la papa, Simposio Internacional de la Papa, México.
- Salas Marina, A. M. 2006. Eficiencia de insectos vectores en la transmisión del fitoplasma de la punta morada. Tesis maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Coahuila, México.
- Smith, I. M. Dunez, J; Lelliot, R. A. Phillips; D. H. y Archer, S.A. 1992. Manual de Enfermedades de las Plantas. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 671 p.
- Toussom, T. A. and Nelson, E. 1968. A Pictorial Guide, to the identification of Fusarium Species According to the Taxonomic System of Snyder and Hansen. The Pennsylvania State University Press. University Park and London. 51 p.
- Triplehorn, A. C. and Johnson, N. F. 2005. Borror and De Long's. Introduction to the Study of Insects. 7^a Edition. Thomson books/cole. United States of America. 310 p.
- Walker, J. C. 1968. Plant pathology. 3th Edition. McGraw-Hill, New York. 819 p.
- Walker, J. C. 1973 Plant pathology. 3th Edition. McGraw-Hill, New York. 819 p.
- Zamora, F. I. 2004. Trabajo de observación, estudio y obtención de información. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México 14 p.

PÁGINAS DE INTERNET CONSULTADAS

<http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/162/ca162.pdf#page=27>

<http://www.sagarpa.gob.mx/DesktopServlet>

<http://www.siea.sagarpa.gob.mx/InfOMer/analisis/Anpapa.html>