

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Bactericera cockerelli, Haplotipos y su Ubicación en México

Por:

CANDELARIA GÓMEZ RODRÍGUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Abril de 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Bactericera cockerelli, Haplotipos y su Ubicación en México

Por:

CANDELARIA GÓMEZ RODRÍGUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Ernesto Cerna Chávez

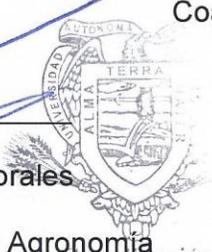
Asesor Principal



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Coasesor



M.C. Mariana Beltrán Beache
Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía
Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, Mexico

Abril de 2017

AGRADECIMIENTOS

A mi **ALMA TERRA MATER**. Por abrirme sus puertas, admitirme y formarme profesionalmente.

Al Dr. Ernesto Cerna Chávez. Por contribuir en todo momento en mi desarrollo profesional, por su gran amistad, paciencia y apoyo brindado para la realización, revisión del presente trabajo. Gracias Dr. Dios lo bendiga siempre.

A la Dra. Mariana Beltrán Beache. Por todas las sugerencias acertadas y facilidades para desarrollar la presente investigación. A si mismo por su amistad.

A la Dra. Yisa Ma. Ochoa Fuentes. Por la disponibilidad de su tiempo e interés brindado en la revisión del presente trabajo. A si mismo por su valiosa amistad brindada.

Al Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz. Por su tiempo disponible y sugerencias aportadas en la realización del presente trabajo.

A Mis Profesores del Departamento de Parasitología. Por compartir sus conocimientos, sabiduría y experiencia que durante el paso de los años, con trabajo y esmero lo han obtenido.

Al Cap.1/o. Inf. Jefe del Vivero Forestal Militar “Monterrey” Adrián López Cahum, por haberme dado la oportunidad a la realización de mis prácticas profesionales y por brindarme su valiosa amistad, consejos y sugerencias aportadas para mi formación profesional.

Al M.C. Antonio Cárdenas Elizondo. Por compartir sus conocimientos y por su valiosa amistad brindada.

A todos mis compañeros de la *GENERACIÓN CXXII* de Ingeniero Agrónomo Parasitólogo, les deseo lo mejor y éxito en su carrera profesional.

DEDICATORIAS

A MI DIOS

Por ser mi protector en todo momento de mi vida, por haberme dado la oportunidad de concluir mi carrera profesional, y ser mi luz en mis momentos de oscuridad.

A MIS PADRES

Haberlain Gómez Aguilar, María Antonieta Rodríguez Aguilar, Gracias por haberme dado la vida, amor, cariño y ser parte fundamental en mi desarrollo profesional, estoy infinitamente agradecida por su apoyo incondicional en todo momento, por haberme dado las mejores lecciones de la vida que no se aprende ni en la mejor escuela del mundo, por sus esfuerzos, oraciones y desvelos, por ser el pilar de mi vida y por darme la mejor herencia de mi vida “una profesión” ya que fue una de mis metas y mi grande sueño y por haber tenido confianza en mí, gracias papitos, con amor y cariño. Que Dios los bendiga y los cuide siempre.

A MIS HERMANAS Y HERMANO

Sandra, Elvira, Magdeli, Nasheli y Jesús, con cariño para ustedes, Gracias por llenar mi vida de su amor, comprensión y alegría que hemos vivido juntos, por sus consejos, por el apoyo que me han brindado a lo largo de mi vida, Dios los bendiga siempre. Los amo

A MIS SOBRINAS Y SOBRINOS

Ixamara, Luis, Darwin, Gema, Fernando, Valeria, Darío, Daniela, Dania, Henry, Ismael, por ser el alma de la casa, por los tantos momentos que hemos compartido de alegría. Porque con un beso, una caricia, una broma, un te quiero, me dan fuerzas para no dejarme caer, gracias por quererme tanto espero y algún día logren ver esto, síganse preparando y echándole ganas en sus estudios que todo tiene su recompensa, los quiero mucho.

A MIS CUÑADOS

Juan Luis, Cerafin, Edí, Isaí, Gracias por haberme brindado sus consejos, apoyo y cariño, en todo momento de mi vida, por demostrarme su confianza, que ante todo son mis amigos y hermanos. Los quiero

A MIS ABUELOS

Efraín, Jordán, Gracias por su gran amor y cariño que me han brindado y por tantos momentos que pase y sigo pasando junto a ustedes y gracias a ustedes tengo unos padres maravillosos. Los quiero

A MIS PADRINOS

Yolanda y Horacio, Gracias por sus consejos, confianza y cariño que me han brindado en toda mi vida, que gracias a eso me dieron ánimos para seguir adelante preparándome y llegar a formarme profesionalmente. Los quiero

A UN GRAN AMIGO

Nicolás Atanacio, Gracias por haber estado siempre conmigo, apoyándome y dando ánimos para seguir adelante, y convertir mis días tristes en alegres. Te quiero mucho

A MIS AMIGOS DE LA CARRERA

Rubí, Abigail, Lisviana, Isabel, Odelia, Kareli, Nicolás, Edwin, Molina. Gracias por sus amistades y por haber compartido alegrías y experiencias juntos a lo largo de nuestra carrera, les deseo lo mejor.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIAS	V
ÍNDICE DE CONTENIDO	VII
ÍNDICE DE FIGURA	VIII
ÍNDICE DE CUADROS	IX
RESUMEN	X
INTRODUCCIÓN	1
Justificación	3
Objetivo	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
<i>Bactericera cockerelli</i>	4
Distribución	4
Clasificación taxonómica.....	5
Biología	6
Características	7
Huevo	7
Ninfas.....	7
Primer instar :	7
Segundo instar.....	7
Tercer instar.....	8
Cuarto instar	8
Quinto instar	8

Adulto.....	8
Hospederos.....	9
Daños e importancia económica.....	9
Daños provocados por <i>B. cockerelli</i>	10
Directo	10
Indirecto	10
<i>B. cockerelli</i> como vector	12
Variación genética de <i>Bactericera cockerelli</i>	12
Haplotipos presentes de <i>Bactericera cockerelli</i>	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
Ubicación del experimento.....	15
Material utilizado	15
Extracción de ADN.....	16
Reacción de PCR.....	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
Resultados de la amplificación del gen mitocondrial (COI)	19
Ubicación geográfica.....	21
CONCLUSIÓN	23
LITERATURA CITADA	24

ÍNDICE DE FIGURA

Figura	Pág.
1. Ciclo biológico de <i>Bactericera cockerelli</i>	6
2. Plantas de Chile infestadas por <i>Bactericera cockerelli</i>	15
3. Extracción de ADN de <i>Bactericera cockerelli</i>	16
4. Recuperación de extracto de ADN.....	16
5. Resultados de la amplificación del gen mitocondrial citocromo oxidasa I.....	19
6. Resultados de secuenciación obtenida.....	20
7. Ubicación geográfica de sitios muestreados.....	22

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Listado de muestras que se secuenciaron y el estado de procedencia.....	18
2. Puntos de muestreo de <i>Bactericera cockerelli</i>	21

RESUMEN

El psilido de la papa, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae), es una plaga de la papa y otros cultivos de solanáceas en América del Norte, Central y Nueva Zelanda.

Los estudios de genotipificación previos basados en análisis de hibridación de alta resolución usando una amplificación generada a partir de una porción del gen mitocondrial citocromo c oxidasa subunidad I de *B. cockerelli*, han demostrado la presencia de tres diferentes haplotipos de *B. cockerelli* en los Estados Unidos correspondientes a tres regiones geográficas: Central, Occidental y Noroeste y un cuarto haplotipo que corresponde a la región geográfica del Suroeste de Estados Unidos.

El objetivo de este estudio consistió en identificar los haplotipos de psilido de *Bactericera cockerelli* presentes en México. Donde los resultados obtenidos para la identificación de haplotipos del psilido fueron identificados como haplotipo Central.

Palabras claves: *Bactericera cockerelli*, Haplotipos, Variación genética.

INTRODUCCIÓN

Bactericera cockerelli (Hemiptera: Triozidae), también conocida como psilido de la papa y jitomate es un insecto que se alimenta del floema de plantas pertenecientes a 20 familias botánicas pero con una marcada preferencia por las solanáceas (chile, papa y jitomate, entre las de importancia económica regional). Se ha sugerido (Nachappa *et al.*, 2012) que éste insecto migra de sus áreas invernales en el Norte de México, Oeste de Texas y Sur de Nuevo Mexico, Arizona y California hacia el Norte de E.U.A al final de la primavera cuando la temperatura es más cálida y con ayuda de los vientos.

Los psilidos eran considerados como plagas secundarias hasta hace algunos años, pero recientemente en varias regiones de México y Centroamérica, se ha asociado a la especie *B. cockerelli*, como responsable de la transmisión de enfermedades fitopatógenas en cultivos de solanáceas y de producir daños por su efecto toxinífero en sus plantas hospedantes. El psilido es asociado con la transmisión de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* la cual también se asocia con la enfermedad en papa zebra chip (Hansen *et al.*, 2008).

Dentro de las especies de insectos *B. cockerelli*, se informó de la existencia de dos biotipos. Esta diferenciación fue originalmente asociada con la resistencia a las bajas temperaturas y se puede controlar a través de variaciones genotípicas en el gen citocromo oxidasa I (COI).

Estudios sobre la variabilidad genética entre poblaciones de *B. cockerelli* han revelado biotipos separados que coinciden con la separación geográfica de las poblaciones analizadas (Liu *et al.*, 2006, Jackson *et al.*, 2009). Con el propósito de entender la dinámica poblacional temporal y espacial de *B. cockerelli* se han utilizado análisis genéticos de un solo individuo para identificar diferentes poblaciones o haplotipos (Swisher *et al.* 2012).

En México y Centroamérica, el psilido de la papa y la enfermedad de la zebra chip han sido identificados en el Este de México, Guatemala, Honduras y Nicaragua (Secor y Rivera-Varas 2004., Munyaneza *et al.*, 2007, Rehman *et al.*, 2010, Bextine *et al.*, 2012, Munyaneza 2012). Sin embargo, poco se sabe sobre la identidad de los haplotipos psilidos que se producen en estas regiones. Para Identificar los psilidos en México y Centroamérica, este estudio utilizó análisis de fusión de alta resolución del gen COI del psilido de la papa para realizar el genotipado de psilidos recogidos de México, El Salvador, Honduras y Nicaragua.

Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue identificar los haplotipos de *B. cockerelli* provenientes de varios estados de la República Mexicana.

Justificación

Existe poca información disponible acerca de las características genéticas de *Bactericera cockerelli* que pueden dar inicios de estrategias para su manejo y de las enfermedades que transmite.

Objetivo general

- Identificar los haplotipos de *B. cockerelli* presentes en México.

Objetivos específicos

- Caracterizar haplotipos de *B. cockerelli* en base a la región mitocondrial COI.
- Ubicar los haplotipos encontrados geográficamente.

Hipótesis

Se identificara la presencia de al menos uno de los haplotipos de *Bactericera cockerelli* ya reportados.

REVISIÓN DE LITERATURA

Bactericera cockerelli

B. cockerelli fue estudiado por primera vez por T.D. Cockerelli en Colorado (EE.UU) en cultivos de papa. Descrito por el Dr. Sulc en 1909 y posteriormente fue designado como Paratrioza *cockerelli* y asignándole el género Paratrioza por Crawford (Crawford, 1911). Recientemente, el psilido de la papa ha sido reasignado al género *Bactericera* (Burckhardt y Lauterer, 1997). En insecto hemíptero se informó como una plaga, principalmente de la papa, sin embargo, periódicamente, también ha colonizado el jitomate y pimiento (Blood *et al.* 1933).

Cranshaw (1993), mencionó que *B. cockerelli* es originaria de Norte América, ya que los primeros problemas en papa ocasionados por esta plaga, se detectaron en los Estados Unidos en 1920.

Distribución

La distribución de *B. cockerelli* es amplia desde América Central y parte Occidental de los EE.UU, Canadá y México (Hodkinson, 1988); la primera aparición de *B. cockerelli* fue registrada en California en 1940, mientras que en el medio Oeste se encontró en el año 1970 (Abdullah, 2008) y en México se documentó la presencia del psilido, *B. cockerelli* en 1947, atacando las solanáceas en Durango, Estado de México, Guanajuato, Michoacán y Tamaulipas, pero en la actualidad está presente en al menos 17 estados de la República Mexicana (Arslan *et al.* 1985; Jensen, 1954).

En las zonas semidesiertas del Sur de Arizona, Nuevo México y Texas, en el invierno la migración de adultos de *B. cockerelli* se reproducen en plantas de *Lycium spp.*, en verano cuando las temperaturas son demasiado altas para los psilidos emigran a otras zonas (Arslan *et al.* 1985; Jensen, 1954).

A partir de 1970 se le considero como una plaga primaria en los cultivos de chile, jitomate y papa (Garzón-Tiznado, 2003). En Nueva Zelanda apareció en 2005 y se le ha catalogado como una plaga de gran importancia en diversas especies vegetales, especialmente en chile y jitomate (Teulon *et al.*, 2009). Dos años después de haber detectado a *B. cockerelli* en campos agrícolas de Nueva Zelanda se reportó la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, tal hecho sugiere que la bacteria llegó con el psilido a Nueva Zelanda y que este es su vector (Liefting *et al.*, 2009).

En las zonas semidesiertas del sur de Arizona, Nuevo México y Texas, en el invierno la migración de adultos de *B. cockerelli* se reproducen en plantas de *Lycium spp.*, en verano cuando las temperaturas son demasiado altas para los psilidos emigran a otras zonas (Arslan *et al.*, 1985; Jensen, 1954).

Clasificación taxonómica

Pilkington, *et al.* (2004) indicaron que *B. cockerelli* es un insecto que se encuentra dentro de la familia *Psyllidae*, años después Hodkinson (2009) clasifico taxonómicamente a *B. cockerelli* de la siguiente manera:

Reino: Animal

Phyllum: Artrópoda

Clase: Hexápoda

Orden: Hemíptera

Suborden: Sternorrhyncha

Superfamilia: Psylloidea

Familia: Triozidae

Género: *Bactericera*

Especie: *B. cockerelli*

Biología

Bravo *et al.* (2006) mencionó que las poblaciones de *B. cockerelli* son particularmente abundantes después de los inviernos con poco frío y ambientes frescos; el tiempo requerido para el desarrollo de una generación desde huevo hasta adulto es de 15 a 30 días. La temperatura óptima es de 27 °C en tanto que con temperaturas por debajo de 15 °C o arriba de 32 °C afecta su desarrollo y la supervivencia de los psilidos. La hembra puede ovipositar mas de 500 huevos en 21 días, que es lo que dura en promedio su periodo de ovoposición; puede haber de 3 a 4 generaciones por temporada (MAG, 2010) en el cultivo de papa parece haber una generación por año (Munyaneza *et al.* 2009).

El ciclo de vida de los psilidos típicamente comprende el huevo, cinco instatares ninfales, y adultos con reproducción partenogenica (Hodkinson, 2009).

La hembra adulta suele ser capaz de depositar un huevo en un minuto o dos, pero a veces la hembra parece tener dificultades en la oviposición, por lo que el tiempo requerido puede ser de 5 o más minutos. Los huevos que son fértiles no desarrollan ninfas y no salen del cascaron y tienden a secarse (Lehman, 1930).



Figura 1. Ciclo biológico de *Bactericera cockerelli*

Características

Huevo

Bújanos *et al.* (2005) menciono que los huevos son de color amarillo-naranja, de forma ovoide, en el extremo basal presenta un filamento con el cual se adhieren a las hojas, presentan cinco estadios ninfales con forma oval, dorso-ventralmente aplanados, con los ojos bien definidos, requieren de 8 a 10 días para su incubación (Marín, 2004).

Ninfas

B. cockerelli presenta cinco estadios ninfales con forma oval, dorso ventralmente aplanados, con ojos bien definidos, en forma de escamas, presentan filamentos alrededor del cuerpo, cerosos los cuales forman toda la orilla del cuerpo y a menudo viven en el envés de las hojas; son casi inmóviles en los tres primeros estadios y en los otros dos siguientes, adquieren cierta movilidad (Bújanos *et al.* 2005; Bravo *et al.* 2006).

Primer instar: presenta dorso ventralmente aplanado de forma oval, cabeza y tórax fusionados (cefalotórax), antenas con segmentos basales cortos, gruesos y poco definidos, el último segmento contienen setas sensoriales; ojos poco diferenciados, estilete, casi del largo del cuerpo. Patas bien desarrolladas, con segmentos poco evidentes, segmentos tarsales con uñas poco desarrollada, alas no visibles, poros anales externos poco definidos. Margen del cuerpo cubierto por una hilera de setas truncadas (Marín *et al.* 1995).

Segundo instar: presenta forma dorso-ventralmente aplanada; las divisiones entre cabeza, tórax y abdomen son evidentes. Cabeza con antenas con segmentación no diferenciada, poseen dos sencillas placoides y dos setas censoras. El clipeo, labio y estilete se encuentran diferenciados; presencia de ojos. Alas desarrolladas, patas diferenciadas (Becerra, 1989).

Abdomen, con segmentación poco marcada con los espiráculos de los primeros segmentos diferenciados, presencia de círculos de poros anales externo e interno, así como el orificio anal. El margen del cuerpo igual al estadio anterior.

Tercer instar: dorso ventralmente aplanado divisiones del cuerpo al estadio anterior. Cabeza con antenas con tres sencillas placoides y setas censoras (Marín *et al.* 1995). Los paquetes alares son fácilmente detectables, el color amarillo empieza a tornarse en color verde (Pletsch, 1947) y se definen perfectamente las constricciones del cuerpo, a partir de este instar las glándulas de cera son prominentes alrededor del margen del cuerpo.

Cuarto instar: antenas con una sencilla más que el anterior, la antena estrecha visiblemente hacia su parte media, dos setas censoras en su parte terminal. Tórax con patas segmentadas y un par de uñas visibles. La diferencia en el abdomen con la instar anterior es que la construcción entre tórax y abdomen es más notoria (Marín, 1995).

Quinto instar: cabeza, tórax y abdomen bien definidos. Cabeza con antenas engrosadas en su base, reduciéndose sucesivamente hacia la parte terminal; en estas se encuentran dos setas sensorias insertadas a diferentes niveles, la apical más gruesa y larga que la precedente (Marín, 1995). Describen al quinto instar con cuerpo aplanado; margen de la cabeza anterior ampliamente redondeado; antenas cortas, flagelo de las antenas de 1 a 3 segmentos; tarso pequeño, ovales, redondas o triangulares (Burckhardt y Lauterer 1997), el color de las ninfas maduras pueden ser cercano al color de las hojas, dependiendo de planta huésped.

Adulto

Miden aproximadamente 2 mm (MAG, 2010), poseen una coloración verde los dos primeros días para posteriormente cambiar a una tonalidad negra con marcas color blanco, una franja paralela sobre el primer segmento abdominal y otra marca en forma de “Y” invertida cerca de la orilla del abdomen.

El fémur de las patas posteriores se encuentra agrandado lo que les permite saltar al ser molestados. En general son muy activos por lo que se les conoce también como pulgón saltador (Mena *et al.*, 2005).

(Burckhardt y Lauterer, 1997), mencionan que *B. cockerelli* tiene cabeza inclinada respecto al eje longitudinal del cuerpo, más estrecho que el tórax; sutura coronal siempre desarrolladas; alas anteriores transparente; setas laterales presentes solo en el primer terguito abdominal visible, genitales femeninos cortos, rara vez moderadamente largos.

Hospederos

B. cockerelli posee un amplio rango de plantas hospederas incluyendo especies vegetales en 20 familias prefiriendo principalmente especies de solanáceas (Abdullah, 2008). A partir de 1970 esta especie se considera una plaga primaria de la papa *Solanum tuberosum* L., chile *Capsicum spp.* y tomate *Lycopersicum esculentum* Mill. (Garzón *et al.*, 1992; Garzón, 2003).

Daños e importancia económica

Ayer y Crawford (1933), documentaron ampliamente el comportamiento de alimentación de *B. cockerelli* en el cultivo de papa, en particular el daño causado por las ninfas conocido como “enfermedad” causada por psilidos. La cual ocasiona pérdidas de rendimiento que consiste en una sobreproducción de tubérculos de menor tamaño y de baja calidad, necrosis del floema que ocurre en tallos, estolones, raíces y raicillas laterales, esta necrosis es más severa en tallos y estolones. Otro daño ocasionado por *B. cockerelli* es el enrollamiento de hojas.

Los psilidos de la papa se alimentan de la savia de las plantas hospederas; como resultado de la alimentación, producen el amarillamiento de la papa y el jitomate por efecto de las toxinas (daño toxinífero o directo), el efecto patológico de la toxina es temporal.

Las ninfas, además de ser toxinífero, producen secreciones cerosas de color blanquecino, las cuales dan la apariencia de sal en las hojas, de donde deriva el nombre de “salerillo de la papa” (Garzón, 2002). En la planta, las ninfas o los adultos introducen el estilete hasta el floema; por uno de los conductos el insecto succiona la savia y por el otro inyecta su saliva a la planta (Col, 2005).

Daños provocados por *B. cockerelli*

Directo

Los daños toxinífero provocados por el pulgón saltador fueron dados a conocer por Richards (1928 y 1933), que atribuyó la enfermedad del “amarillamiento de la papa” a los procesos de alimentación de las ninfas en la planta, por el estilete también inoculan toxinas, lo que se confirmó al retirar las ninfas de las hojas y observar que los síntomas desaparecían lentamente, así mismo la planta tendía a recuperar su color verde normal.

Diversos investigadores han aportado mayores elementos sobre el efecto de la toxina de *Bactericera* en las plantas de papa y tomate, sin embargo, en algunos casos estos son contradictorios y provocan confusión, pues algunos investigadores dicen que además del amarillamiento en papa, “las hojas apicales tienen foliolos ondulados y morados”, síntomas que están más relacionados con los de la punta morada de la papa que fueron causados por la toxina. Otros aspectos contradictorios son los referidos a la disminución y acumulación de almidón en papa reportada por Eyer en 1937 y Leach en 1940, respectivamente (Garzón, 2002).

Indirecto

La principal enfermedad de la papa es la punta morada, originalmente descrita en Estados Unidos y transmitida por chicharritas. A una enfermedad similar en papa observada en México, se le asignó el mismo nombre y estudios moleculares del ADN concluyeron que es causada por un fitoplasma del grupo del áster yellows (Leyva-López y Col, 2002) y que a diferencia de los reportes de

Estados Unidos, en México la punta morada de la papa parece ser transmitida por *B. cockerelli* y no por chicharritas (Garzón, 2002, Garzón *et al.*, 2005; Salas-Marina, 2006).

Estudios recientes han mostrado que una nueva especie de una bacteria no cultivable denominada *Candidatus Liberibacter solanacearum (psyllauros)*, es responsable de la enfermedad “Permanente del tomate” y “Punta morada de la papa o manchado del tubérculo” (Zebra chip) (Munyaneza *et al.*, 2007 y 2009) y es transmitida por *B. cockerelli* (Garzón-Tiznado, *et al.*, 2009). Siendo este el patógeno de mayor importancia del cual es portador el psilido.

Candidatus Liberibacter solanacearum es una bacteria limitada al floema y es transmitida por *B. cockerelli* al alimentarse de la savia de plantas infectadas (Pelz-Stelinsky *et al.*, 2010).

Al igual que el vector, esta bacteria tiene un rango de temperatura relativamente estrecho. Temperaturas inferiores a 17 °C o superiores a 32 °C afectan negativamente el desarrollo de la bacteria. A 17 °C o menos, el desarrollo de la bacteria en la planta se reduce significativamente pero no lo previene. En cambio, cuando la temperatura se mantiene por varias horas arriba de 32 °C la bacteria no se desarrolla en la planta (Munyaneza, 2012).

Por otro lado Hansen *et al.* (2008) documentaron que la enfermedad ocasionada por *Candidatus Liberibacter solanacearum*, se ha asociado con el psilido de la papa, *B. cockerelli*, en una forma de transmisión persistente, donde el vector adquiere a la bacteria por la alimentación e incorporación a la microflora del intestino.

En cuanto a los patrones de desplazamiento de *Candidatus Liberibacter solanacearum* dentro del hospedante, Levy *et al.* (2011) mencionaron que esta bacteria se moviliza a través del floema en tomate y papa. La frecuencia y dirección del desplazamiento varían entre las dos especies y entre las variedades

de papa en ambos cultivos se detectó a la bacteria en las hojas del nivel medio superior, tres semanas después de la transmisión por *B. cockerelli*.

***B. cockerelli* como vector**

De acuerdo con Pelz-Stelinsky *et al.* (2010) *Candidatus Liberibacter* es una bacteria persistente que se reproduce dentro del insecto vector y puede transmitirse de generación en generación de forma transovarica.

Liefting *et al.* (2009) menciona que *B. cockerelli* es el principal vector de *Candidatus Liberibacter solanacearum*. El insecto adquiere la bacteria al alimentarse de las plantas infectadas, la cual, pasa a través de la barrera intestinal, se multiplica dentro del vector y una vez que llega a las glándulas salivales es transmitida a otra planta durante el proceso de alimentación.

Variación genética de *Bactericera cockerelli*

Romney (1939) indicó que este insecto desarrolló grandes poblaciones con migraciones primaverales en el Sur de Arizona de Enero a Mayo sobre plantas silvestres del género *Lycium*. Típicamente, *B. cockerelli* luego migró a Colorado, Nebraska y otros estados del Norte. Pletsch (1947) después indicó que el origen anual de las poblaciones ocurrió mucho más lejos y migraron del Sur de Texas (cerca del Río Grande) o incluso de México que posteriormente migraron a Arizona y Nuevo México.

Estos antecedentes llevaron a investigaciones que tenían por finalidad el determinar si estos nuevos brotes eran el resultado de un simple rango de expansión en su distribución o la evolución de un nuevo biotipo de *B. cockerelli*. Esto fue posible utilizando secuencias repetidas de marcadores (ISSR) así como las secuencias del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI), un espaciador interno transcrito (ITS2) y del gen *wsp* (Liu *et al.* 2006).

En un estudio posterior Jackson *et al.* (2009) demostraron mediante el uso de marcadores ISSR la cercanía genética entre *B. cockerelli* de Coahuila, México y Texas, EUA, evidenciando con ello las migraciones que este insecto realiza al Norte entrando la primavera, así como las diferencias genéticas estadísticamente significativas entre dichas poblaciones y *B. cockerelli* de Guatemala. Los biotipos de insectos reconocen cierta variación entre poblaciones de la misma especie que pueden incluir variación morfológica y la capacidad de sobrevivir, reproducirse o causar enfermedades en diferentes plantas (Shufrán y Payton 2009).

Dentro de las categorías taxonómicas de las poblaciones que presentan un proceso de especiación, se pueden encontrar una gran variedad de términos utilizados por diferentes autores tales como biotipos, razas hospederas y especies (Diehl y Bush 1984, Pashley 1986, Drès y Mallet 2002, Coyne y Orr 2004). Drès y Mallet (2002) usan el término biotipo para referirse a una población con alguna diferenciación genética o fenotípica con respecto a otra población, la cual está en el mismo rango polimórfico de lo que taxonómicamente se define como especie.

Dentro de los biotipos se pueden encontrar diferencias a nivel molecular que generan haplotipos (Lewter *et al.* 2006, Nagoshi *et al.* 2007 a y b). Un “haplotipo” es definido básicamente como una única forma genética que difiere de cualquier otra forma por variaciones en las posiciones individuales (al menos en un nucleótido) en una secuencia de ADN (Templeton, 2006).

Aunque se puedan encontrar diferencias a nivel fisiológico o reproductivo dentro de los biotipos, las similitudes en características a nivel morfológico hacen imposible su separación. Sin embargo, los biotipos difieren en varias características a nivel molecular que permiten su diferenciación de manera rápida y efectiva. Dentro de estas características, se pueden incluir las variaciones en aloenzimas electroforéticas, en particular las esterasas, polimorfismos de ADN mitocondrial, RFLP's, AFLP's, así como las diferencias en las secuencias de ADN repetitivo (Salinas, 2010).

Los estudios previos de variabilidad genética en poblaciones de psilidos de papa han revelado biotipos separados dentro de *B. cockerelli* que coinciden con la separación geográfica de las poblaciones de psilidos de papa (Liu *et al.*, 2006, Jackson *et al.*, 2009). Los biotipos de insectos reflejan algunas variaciones entre poblaciones de la misma especie que pueden incluir la variación morfológica y la capacidad de sobrevivir, reproducirse o disminuir la ingesta de diferentes plantas que sus contrapartes (Shufrán y Payton, 2009).

Haplotipos presentes de *Bactericera cockerelli*

Estudios de mapeo de poblaciones han identificado tres haplotipos distintos dentro de los Estados Unidos, que están asociados con tres regiones geográficas diferentes: Central, Occidental y Noroeste (Liu *et al.*, 2006; Swisher *et al.*, 2012, 2013). Psilidos del haplotipo Central han sido identificados a través de una amplia gama geográfica, que se extiende desde el este de México hasta Texas, Kansas, Colorado, Nebraska y Wyoming, extendiéndose hasta Dakota del Norte (Swisher *et al.* 2012, 2013). Del mismo modo, se identificó el haplotipo Occidental a través de California y Nuevo México hasta Washington, Oregon y Idaho (Swisher *et al.* 2012, 2013). A la fecha, el haplotipo Noroeste sólo ha sido identificado en el Noroeste de Washington, Oregon y Idaho (Swisher *et al.* 2012, 2013). Este haplotipo es genéticamente diferente de los biotipos Central y Occidental (Swisher *et al.*, 2012).

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del experimento

El presente trabajo de investigación se realizó dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, el experimento se llevó a cabo en el departamento de parasitología, en el laboratorio de toxicología.

Material utilizado

Se trabajó con insectos adultos *Bactericera cockerelli* de los estados de Aguascalientes, Jalisco, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Michoacán, Zacatecas, Nuevo León, Coahuila y Nayarit, proporcionados por M.C. Mariana Beltrán Beache.



Figura 2. Plantas de chile infestadas por *Bactericera cockerelli*

Extracción de ADN

Se extrajo ADN de forma individual de psilidos de *B. cockerelli* capturados en cada sitio, empleando la técnica descrita por Doyle & Doyle, (1990).

Para el aislamiento del ADN se macero un insecto de cada población en morteros, agregando 200 μ l de solución de buffer de lisis (EDTA pH 8.5, 50 Mm; Tris HCL pH 8, 100 Nm; NaCL 50 Mm; SDS 2 %).

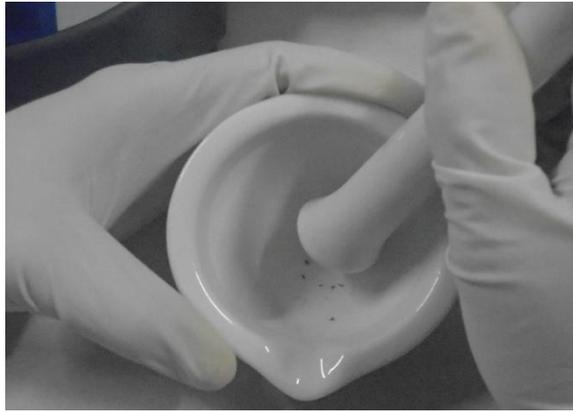


Figura 3. Extracción de ADN de *Bactericera cockerelli*

El extracto se recuperó y se depositó en un tubo de eppendrff de 1.5 μ l y se adicióno 200 μ l de cloroformo-alcohol isoamilico (24:1), se mezcló en vortex durante 30 s.

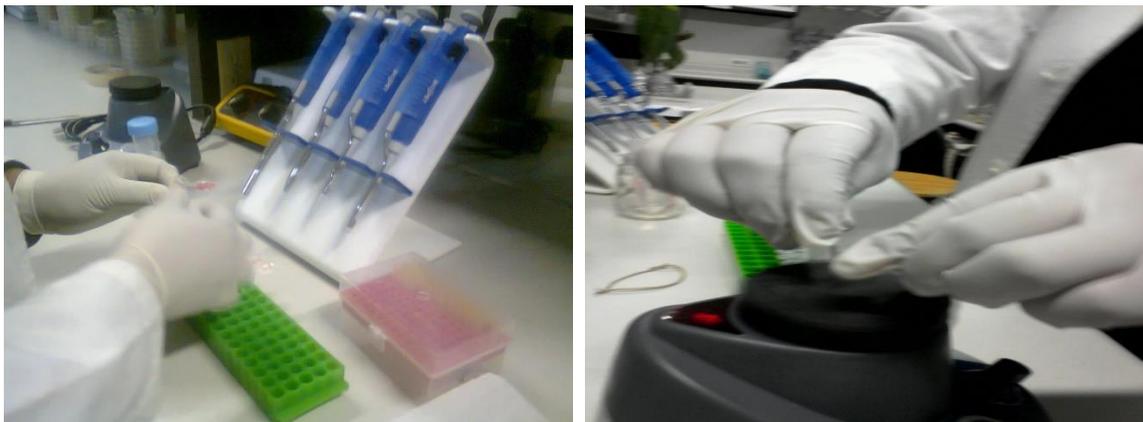


Figura 4. Recuperación de extracto de ADN

La solución se centrifugo a 12000 rpm a temperatura ambiente por 15 min. A continuación se recuperó a un tubo nuevo estéril la fase líquida y se le adiciona una cantidad proporcional al volumen recuperado de isopropanol frío. Con la finalidad de tener mayor pureza en el ADN, se mezcló con inmersiones suaves e incubo durante 15 min a 4 °C.

A continuación, la solución se centrifugo a 12000 rpm a temperatura ambiente por 10 min para precipitar y formar una pastilla de ADN en el fondo del tubo. Se desechó el isopropanol por decantación para no desprender la pastilla del fondo del tubo. Se agregaron 200 µl de alcohol al 70 %, se lavó la pastilla con inversiones suaves, se desechó el alcohol y se deja secar a temperatura ambiente. Finalmente se resuspendió la pastilla en 20 µl de agua estéril. El ADN fue analizado por electroforesis en gel de agarosa 2 % 100 ml de TAE 1X como solución de corrida.

Reacción de PCR

Para la reacción de PCR se emplearon Iniciadores COI F3 (‘5-TACGCCATACTAGCAATCGG-3’) y COI R3 (‘5-GAGTAACGTCGTGGTATTCC-3’), que amplifican una región de 500pb del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (GenBank EF372597) (Swisher *et al.*, 2012); en la reacción de PCR se emplearon 4µL de Taq&Go^T Mastermix (MP Biomedicals), 0.5µL de cada iniciador a 10µM y 1µL de ADN. El programa de reacción fue, una temperatura inicial de 98°C durante 30s, seguida por 35 ciclos de 98°C por 10s, 56°C por 20 s, como temperatura media de alineación y 72°C por 30s, seguidos de una extensión final de 72°C durante 7min, en un termociclador MaxyGene de la marca Axygene. Los productos obtenidos se verificaron en un gel de agarosa 2 % empleando como fluorógeno buffer de carga-Gel Red (Gen Script). Los amplificados generados se secuenciaron en ambos sentidos (Macrogen, USA) y las secuencias obtenidas se analizaron en el programa BLAST (NCBI), comparándolas con los haplotipos de *B. cockerelli* ya reportadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron un total de 34 amplificaciones (Fig. 5) provenientes de los sitios indicados en la tabla 1, de las cuales se seleccionaron al azar de dos a tres muestras de cada estado para su secuenciación, obteniendo la secuencia de nucleótidos presentada en la figura 6.

Tabla 1. Listado de muestras que se secuenciaron y el estado de procedencia

Numero de Muestra	Estado
1	Zacatecas
2	Aguascalientes
3	Aguascalientes
4	Jalisco
5	Jalisco
7	Aguascalientes
9	Guanajuato
10	Guanajuato
12	Jalisco
13	Hidalgo
14	Hidalgo
15	Puebla
17	Puebla
19	S.L.P
20	S.L.P
21	Zacatecas
23	Zacatecas
24	Nayarit
26	Nuevo León
27	Nuevo León
28	Nuevo León
30	Durango
31	Durango
33	Michoacán
34	Coahuila

Resultados de la amplificación del gen mitocondrial (COI)

En la figura 5. Se muestra la imagen del gel de agarosa con los resultados obtenidos tras la reacción de PCR, donde se puede observar el bandeo a un peso de 500 pb, el cual corresponde al producto esperado de la amplificación de la región del gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I, los resultados fueron los esperados en todas las muestras analizadas.

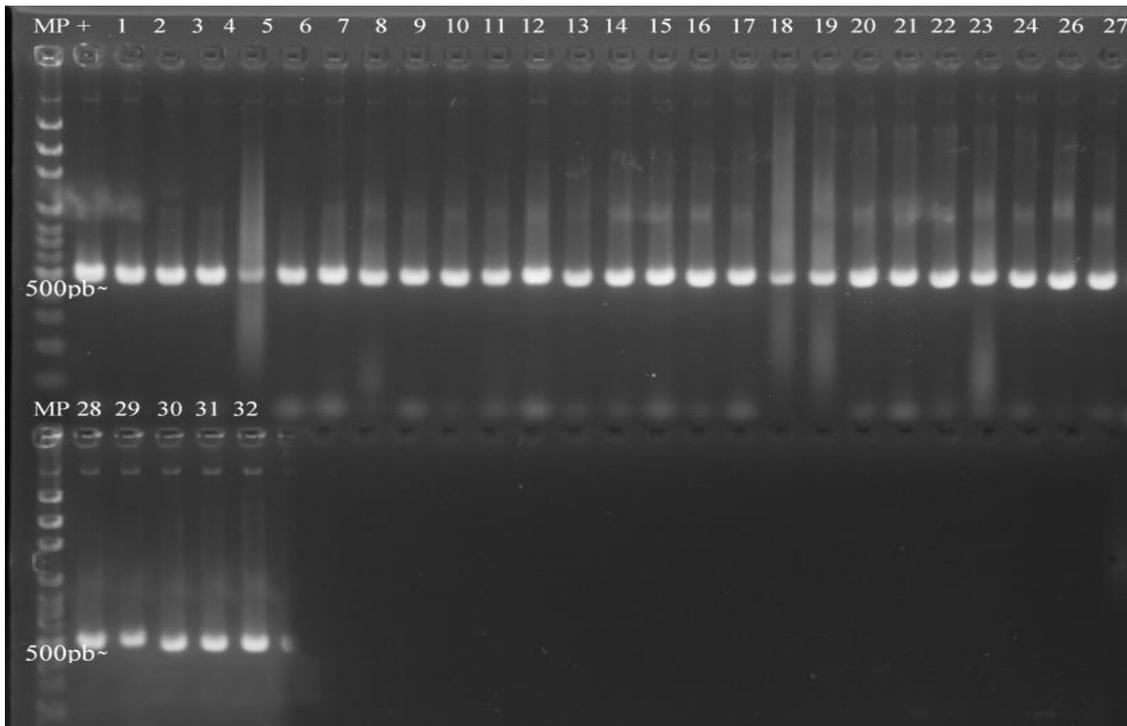


Figura 5. Resultados de la amplificación del gen mitocondrial citocromo oxidasa I

Todos los productos secuenciados presentaron el mismo patrón de nucleótidos (figura 5). La secuencia obtenida se comparó con las secuencias disponibles de los haplotipos Central, Noroeste, Suroeste y Oeste disponibles en el GenBank. Coincidiendo en un 100 % con el haplotipo Central lo cual coincide con lo reportado por Swisher *et al.* (2013), quienes reportan la presencia de este haplotipo en Mexico.

Como podemos ver, a continuación se muestra la secuenciación obtenida.

```
TACGCCATACTAGCAATCGGAATTCTAGGATTCATTGTTTGAGCACATCATATA
TTTACAGTAGGTATAGATGTTGATTCTCGTGCCTATTTCACTTCCGCAACTATA
ATTATTGCTGTCCCTACAGGAATTAATAATTTTATGTTGATTAGCAACTATTTATG
GGATAAAAATATATTTTTCTCCAAGTATTATTTGATCTCTAGGATTCATTTTCCT
GTTTACACTGGGAGGTTTAACAGGTGTAATTTTAGCAAATTCTTCAATTGACAT
TATTTTACATGACACATACTATGTAGTAGCACATTTCCATTATGTTTCTATCTATA
GGGGCTGTATTTGCAATTATTGCTAGATTTATTAATTGATACCCTTTAATAACA
GGAGTAATTATAAATAAACTTTATTAATAAACACAATTTATTAGTACTTTTATTG
GTGTTAACCTTACTTTTTTCCCCAACATTTCTTAGGACTCATAGGAATACCAC
GACGTTACTC
```

Figura 6. Resultados de secuenciación obtenida

Swisher *et al.* (2013) recogieron 12 psilidos de papa cerca de Toluca en octubre de 2012, y 12 psilidos en Querétaro, México. Utilizando un análisis de hibridación de alta resolución del gen COI, identificando la presencia del haplotipo Central en Mexico, El Salvador, Honduras y Nicaragua de los cuales también se incluyeron insectos en dicho estudio.

Para este trabajo se muestrearon los estados de Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, S.L.P, Nayarit, Nuevo León y Durango (Tabla 2), de los cuales algunos están geográficamente cerca de los estados de Toluca, Querétaro (Swisher *et al.*, 2013) y área fronteriza ((Swisher *et al.*, 2012), donde se ha reportado el haplotipo Central, respaldando los resultados obtenidos en la presente investigación.

Ubicación geográfica

En la figura 7, Se localizan los estados de muestreo de los psilidos cuyo sitio de origen se menciona en la tabla 2, donde se encontró presente el haplotipo Central en Mexico, cada uno de los cuales se resalta su ubicación marcados con un globo.

Tabla 2. Puntos de muestreo de *Bactericera cockerelli*.

Numero de muestra	Localidad	Estado
1	Pinos	Zacatecas
2	La finca de Adobe, El Taray	Aguascalientes
3	Los Laureles, Villa Hidalgo	Jalisco
4	El Reparito, Villa Hidalgo	Jalisco
5	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Aguascalientes
6	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Aguascalientes
7	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Aguascalientes
8	Rcho. Nuevo de la Luz, León	Guanajuato
9	San Fco. del Rincón	Guanajuato
10	Rcho. Nuevo de la Luz, León	Guanajuato
11	Ciudad Guzmán	Jalisco
12	San Agustín Metzquititlan	Hidalgo
13	San Cristóbal	Hidalgo
14	La gallera, Tlaola	Puebla
15	San Juan Tianguismanalco	Puebla
16	San Juan Tianguismanalco	Puebla
17	La víbora, Villa de Arista	S.L.P
18	Bocas	S.L.P
19	Santa Fe, Moctezuma	S.L.P
20	Campechana, Villa de Cos	Zacatecas
21	Las Catarinas, Fresnillo	Zacatecas
22	La Laborcilla, Calera de V. R.	Zacatecas
23	Sta. María del Oro	Nayarit
24	San Rafael	Nuevo León
25	Navidad	Nuevo León
26	San Rafael	Nuevo León
27	Labor de Abajo, Poanas	Durango
28	La Borrega, Poanas	Durango
29	H. Márquez, Poanas	Durango
30	El Refugio, Durango	Durango
31	Cocucho, Charapan	Michoacán
32	Saltillo	Coahuila

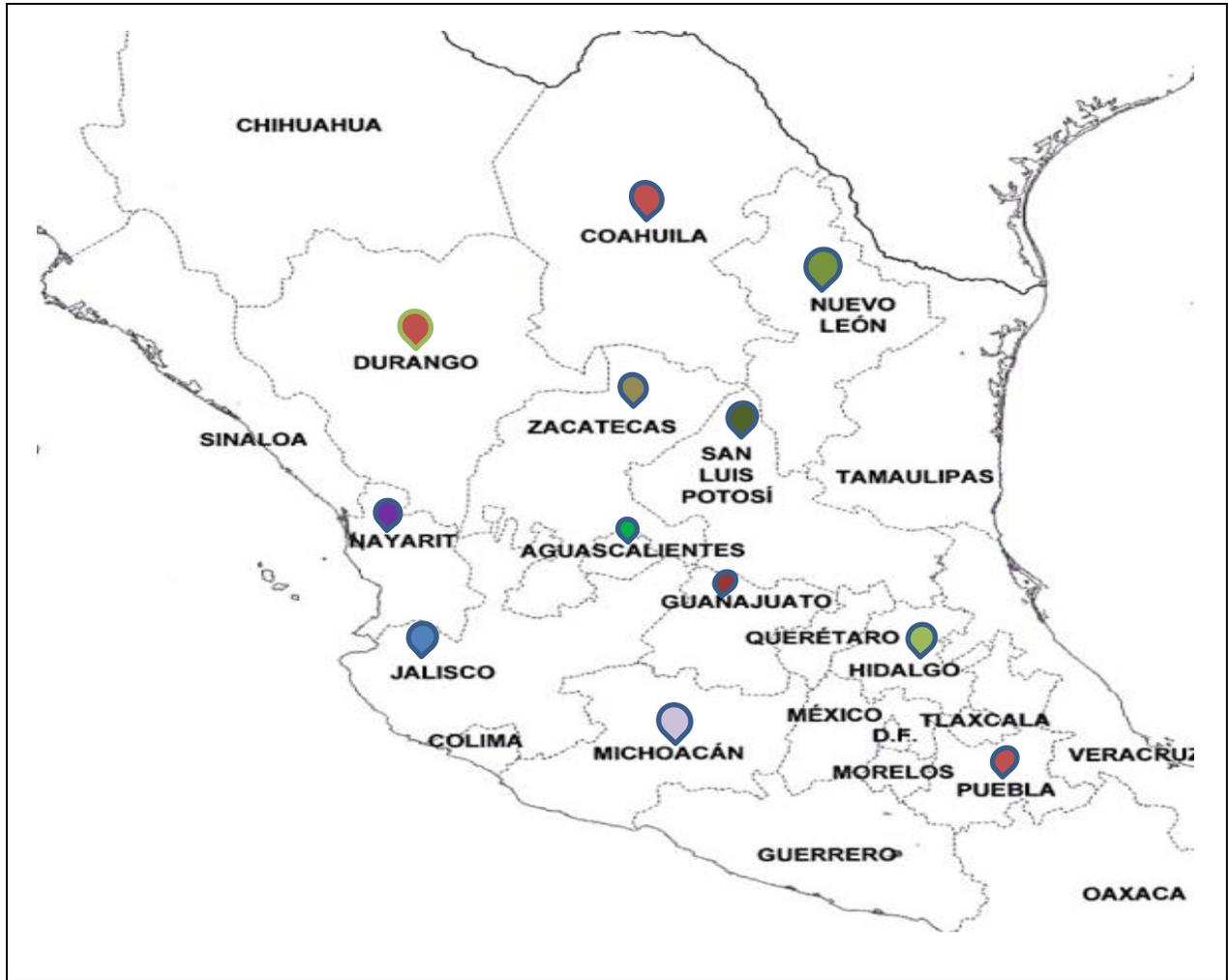


Figura 7. Ubicación geográfica de sitios muestreados

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los datos obtenidos de esta investigación en el análisis de secuencias de los productos obtenidos de la amplificación del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI) del psilido *Bactericera cockerelli*, identificando de manera efectiva los psilidos como haplotipo Central.

LITERATURA CITADA

- Abdullah, N. 2008. Life history of the Potato Psyllid *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) in Controlled Environment agriculture in Arizona. *African Journal of Agricultural Research* 3(1): 60-67.
- Arslan, A., Bessey P. M., Matsuda K. and Oebker N. R. 1985. Physiological effects of psyllid (*Paratrioza cockerelli*) on potato, *American Potato Journal*. 62: 9-22.
- Becerra-Flora A. 1989. Biología de *Paratrioza cockerelli* Sulc y su relación con la enfermedad del "Permanente del tomate" en el Bajío. Tesis de Licenciatura. Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Querétaro, México. p 55.
- Bextine, B., A. Arp, E. Flores, E. Aguilar, L. Lastrea, and F. Soza Gomez, C. Powell, and A. Rueda. 2012. First report of zebra chip and "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" on potatoes in Nicaragua. *Plant Dis*. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-09-12-0824-PDN>.
- Blood, H., Richards, B. and Wann F. 1933. Studies of psyllid yellows of tomato. *Phytopathology* 23:930.
- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newlyemerging, century-old disease of citrus. *J. Plant Pathol*. 88: 7–37.
- Bravo, L. G. A., Galindo, G. G. y Amador, D. R. M. 2006. Tecnología de producción de chile seco. (INIFAP) Instituto nacional de investigaciones forestales agrícolas y pecuarias-Centro de investigación regional norte centro, Campo experimental Zacatecas. 5:110.

- Brlansky HR., Dewdney MM, Rogers EM and Chung R.K. 2009. Florida citrus pest management guide: Huanglongbing (Citrus greening). Plant Pathology Department, Florida Cooperative Extensión Service, institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, USA. 225 p.
- Bujanos, R., Garzón, J. A. y Marín, A. 2005. Manejo Integrado del pulgón saltador *Bactericera* (=Paratrioza) *cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) en los cultivos de solanáceas en México. Second World Pepper Convention pp. 93-99.
- Burckhardt, D. Lauterer P. 1997. A taxonomic reassessment of the triozid genus *Bactericera* (Hemiptera: Psylloidea) *Journal of natural history*. 39(35): 31-99-153.
- CAB International. 2011. „*Candidatus* Liberibacter solanacearum. <http://www.cabi.org/cpc/default.aspx?LoadModule=datasheet&dsID=109434&CompID=1&site=161&page=868> Fecha de consulta: 20 de Agosto 2016.
- Camacho-Tapia M., Rojas-Martinez RL, Zavaleta-Mejia E, Hernandez-Deheza MG, Carrillo-Salazar JA, Rebollar-Alviter A y Ochoa-Martinez DL. 2011. Aetiology of chili pepper variegation from Yurecuaro, México. *Journal of Plant Pathology* 93:331-335.
- Cranshaw, WS. 1993. Annotated bibliography of potato/tomato psyllid *Paratrioza cockerelli* Sulc. (Homoptera: Psyllidae). Pub. TB93-5. Colorado State University, Fort Collins. Agricultural Experiment Station.USA. 52 p.
- Crawford, D. 1911. American Psyllidae III. (Triozidae). *Pomona Journal of Entomology* 3: 422-453.

- Crosslin, J. M., N. Olsen, and P. Nolte. 2012b. First report of zebra chip disease and “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” on potato es in Idaho. *Plant Disease* 96: 453.
- Crosslin, J. M., P. B. Hamm, J. E. Eggers, S. I. Rondon, V. G. Sengoda, and J. E. Munyaneza. 2012a. First report of zebra chip disease and “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” on potatoes in Oregon and Washington State. *Plant Disease* 96: 452.
- Da Graca JV and Korsten L. 2004. Citrus Huanglongbing: Review, present status and future strategies. *Diseases of Fruits and Vegetables* 1:229-245.
- Diehl S. and Bush G. 1984. An Evolutionary and Applied Perspective of Insect Biotypes. *Annals of the Entomological Society* 29: 471- 504.
- Drés M. and Mallet J. 2002. Host races in plant-feeding insects and their importance sympatric speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of Science* 357: 471-492.
- Eyer, J. R., and Crawford, R. F. 1933. Observations on the feeding habits of the potato psyllid (*Paratrioza cockerelli* Sulc) and the pathological history of the “psyllid yellows” which it produces. *J. Econ. Entomol.* 26: 846-850.
- Garzón, T. J. A. 2002. Asociación de *Paratrioza cockerelli* Sulc. con enfermedades en papa (*Solanum tuberosum*) y tomate (*Lycopersicum lycopersicum* Mil. Ex Fawnl) en México. In: Memoria del Taller sobre *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) como plaga y vector de fitoplasma en hortalizas. Culiacán, Sinaloa, México. pp: 79–87.
- Garzón, T. J. A. 2003. El pulgon Saltador o la *Paratrioza*, una amenaza para la horticultura de Sinaloa. In: Memoria del Taller sobre *Paratrioza*

- cockerelli* Sulc. Como plaga y vector de fitoplasma en hortalizas. Culiacán, Sinaloa. Mexico. pp. 9-12.
- Garzón, T. J. A., Becerra, F. A., Marín, A., Mejía, A. C. y Bierly, M. K. F. 1992. Manejo Integrado de la Enfermedad “Permanente” del tomate (*Lycopersicon lycopersicum* (L) Kars), en el Bajío in Afidos como vectores de virus en Mexico.
- Urias-M, C., Rodríguez-M, R. y Alejandre-A, T. (eds.). Montecillo, Mexico. Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados. 116-129 pp.
- Garzón-Tiznado JA., Cárdenas-Valenzuela OG, Bujanos-Muñiz R, Marín Jarillo A, Becerra-Flora A, Velarde-Felix S, Reyes-Moreno C, González Chavira M y Martínez-Carrillo JL. 2009. Asociación de Hemiptera: Triozidae con la enfermedad “Permanente del tomate” en México. Agricultura Técnica en México, 35:1:58-69.
- Garzón-Tiznado JA., Garzón-Ceballos JA, Velarde-Félix S, Marín-Jarillo A, Cárdenas-Valenzuela OG. 2005. Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al “permanente del tomate” por el psílido *Bactericera cockerelli* Sulc en México. Entomología Mexicana, 4:672-674.
- Garzon-Tiznado JA. 2003. El pulgon saltador o la Paratrioza, una amenaza para la horticultura de Sinaloa. Pp: 9-12. In: Memoria del Taller sobre Paratrioza *cockerelli* (Sulc.) como plaga y vector de fitoplasma y hortalizas. Culiacan, Sinaloa, México.
- Hansen, A.K. Trumble, J.T., Stouthamer, R., y Paine, T.D. 2008. A new Huanglongbing species, *Candidatus Liberibacter psyllauros*, found to infect tomato and potato, is vectoral by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Applied and Environmental Microbiology 74(18), 5862-5865.

- Hodkinson, I. D. 2009. Life cycle variation and adptation in jumping lice (Insecta: Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. *J. Nat. Hist.* 43:65-179.
- Hodkinson, I. D. 1988. The Nearctic Psylloidea (Insecta: Homoptera): an annotated check list, *Jour of Natural History*, 22: 1179-1243.
- Jackson B., Goolsby J, Wzykowski A, Vitovksy N, and Bextine B. 2009. Analysis of Genetic Relations hips between potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) Populations in the United States, Mexico and Guatemala Using ITS2 and Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Data. *Subtropical Plant Science* 61:1-5.
- Jensen, D. D. 1954. Notes on the potato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc), the Pan-Pacific. *Entomologist.* 30: 161-165.
- Jepson SB. 2008. Citrus Greening Disease (Huanglongbing). OSU Plant Clinic, Oregon State University. Corvallis, OR, USA. Corvallis OR 97331-2903.
- Lehman, S. S. R. 1930. Some observations on the Life History of the Tomato Psyllid (*Paratrioza cockerelli* Sulc) (Homoptera), *Journal of the New York Entomological Society*, 38(3):307-3012.
- Levy, J., Ravindran, A., Gross. Tamborindeguy. C., y Pierson, ET. 2011. Translocación de "*Candidatus Liberibacter solanacearum*", del patógeno Zebra Chip, en la papa y el tomate. *Fitopatología.* 101 (11): 1285-1291.
- Lewter, J., Szalanski A, Nagoshi R, Meaguer R, Owens C, y Luttrell R. 2006. Genetic variation within and between strains of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist* 89(1): 63-67.

- Leyva-López, NE., Ochoa-Sánchez JC, Leal-Klevezas DS y Martínez Soriano JP. 2002. Multiple phytoplasma Associated with potato diseases in Mexico. *Canadian journal of Microbiology*, 48:1062-1068.
- Liefting, L. W., Weir, B. S., Pennycook, S. R., and Clover, G. R. G. 2009b. „*Candidatus Liberibacter solanacearum*“, a *Liberibacter* associated with plants in the family *Solanaceae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59:2274-2276.
- Liefting, L.W., Perez-Egusquiza, C.Z., Clover, G.R.G. and Anderson J.A.D., 2008. A New “*Candidatus Liberibacter*” Species in *Solanum tuberosum* in New Zelanda. *Plant Disease* 92:1474.
- Liu D., Trumble J, and Stouthamer R. 2006. Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) in to western North America. *Entomología Experimentalis et Applicata* 118:177-183.
- MAG, 2010. Plan de acción ante la cercanía de la Paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc.). Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica (MAG). Servicio Fitosanitario del Estado. Realidad Fitosanitario No.45 Agosto- Septiembre 2010.
- Marin J. A. 2004. Biología, ecología e identificación de insectos vectores en cultivo de papa. Memoria de la XXI Semana Internacional del Parasitólogo: Simposium Punta Morada de la Papa, Saltillo, Coahuila, México. PP. 84-96.
- Marin-Jarillo, Garzon. A., Becerra Flora, A. Méja-Avila C. Bujanos-Muñiz R. Y. Byerly-Murphy K.F.1995. Ciclo biológico y biología del salerillo *Paratrioza cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae) Vector de la enfermedad permanente de jitomate en el bajío. Manejo Integrado de Plagas. Costa rica. PP. 38.

- Martinez Y., Llauger R, Batista L, Luis M, Iglesia A, Collazo C, Peña I, Casin JC, Cueto J and Tablada M. 2009. First report of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" Associated with Huanglongbing in Cuba. *Plant Pathology* 58:389.
- Mena, C. J. 2005. Biología de los Insectos Chupadores en Chile y Tomate en Zacatecas. pp. 85-86. *In: Segunda Convención Mundial del Pimiento.*
- Morris, J., Reed. P., y Sansford 2009. CSL. Informacion note: *Candidatus Liberibacter solanacearum* a new bacterium associated with an adisease of tomatoes, capsicums, and potatoea in New Zeland. <http://www.fera.defra.gov.uk/planta-tHealth/pestaDiaseasea/documenta/canLibSol.pdf>.
- Munyanenza, J. E., Crosslin, J. M., and Upton, J. E. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with Zebra Chip, a New Potato Disease in Southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology* 100(3): 656-663.
- Munyanenza, J. E., Fisher, T. W., Sengoda, V. G., Garczynski, S. F., and Nissinen, A. 2010. Association of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" with the psyllid, *Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Europe. *J. of Economic Entomol.* 103: 1060–1070.
- Munyanenza, J. E., Sengoda, V. G., Crosslin, J. M., Garzón-Tiznado, J. A., and Cárdenas-Valenzuela, O. G. 2009. First report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in tomato plants in Mexico. *Plant Disease* 93(10): 1076.
- Munyanenza, J.E. 2012. Zebra Chip Disease of Potato: Biology, Epidemiology, and Management. *American Journal of Potato Research*. Vol.89, Issue 5, pp 329-35.

- Murray, R.G.E. and Stackebrandt E. 1995. Taxonomic note: Implementation of the provisional status *Candidatus* for incompletely described procaryotes. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45: 186-187.
- Nachappa, P., Shapiro, A.A., and Tamborindeguy, C. 2012. Effect of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” on fitness of its insect vector, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae), on tomato. *Phytopathology* 102:41-46.
- Nagoshi R., Silvie P, Meagher Jr. R, Lopez J, y Machado V. 2007a. Identification and comparison of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains in Brazil, Texas, and Florida. *Annals of the Entomological Society of America* 100: 394- 402.
- Pelz-Stelinski, K.S., Brlansky, R.H., Ebert, T.A., y Rogers, M.E. 2010. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *J Econ Entomol* (5): 1531-41.
- Pilkington L., Gurr GM, Fletcher MY, Nikandrow A y Elliott E. 2004. Vector status of three leafhopper species for Australian Lucerne yellows phytoplasma. *Australian Journal Entomology*, 43:366-373.
- Plesch DJ. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc), its Biology and control. Pub 446. Montana. Agricultural Experimental Station. USA. 95 p.
- Rehman, M. J., Melgar, C. Rivera, N. Urbina, A. M. Idris, and J. K. Brown. 2010. First report of “*Candidatus Liberibacter psyllaourous*” or “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” associated with severe foliar chlorosis, curling, and necrosis and tuber discoloration of potato plants in Honduras. *Plant Dis.* 94: 376.

- Richards BL y Blood HL. 1933. Psyllid yellows of the potato. *Journal of Agriculture Research*, 46:189-216.
- Richards BL. 1928. A new destructive disease of the potato in UTA and its relation of the potato psylla. *Phytopathology*, 18:140-141.
- Romney V. 1939. Breeding areas of the tomato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc). *Journal of Economic Entomology* 32:150-151.
- Salas-Marina, M. A., Flores-Olivas, A., Sánchez-Arizpe, A., García-Martínez, O., Almeida-León, I. H. y Garzón-Tiznado, J. A. 2006. Eficiencia de insectos vectores en la transmisión de fitoplasma de la punta morada de la papa, pp. 1 *in*: Memoria de XXII Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, 30 Julio - 4 Agosto 2006. ALAP, Toluca, México.
- Salinas H. 2010. Identificación de haplotipos de *Spodoptera frugiperda* en algunas poblaciones de Colombia para el estudio del comportamiento migratorio de la especie. Tesis. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Facultad de Ciencias, pp. 93.
- Sector, G. A., and Rivera, V. V., 2004. Emerging diseases of cultivated potato and their impact on Latin America. *Rev. Latinoamericana Papa* (Suppl.) 1:1-8.
- Shufran, K. A., and T.L. Payton. 2009. Limited Genetic variation within and between Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotypes in the United States. *J. Econ. Entomol.* 102: 440-445.
- Swisher, K. D., J. E. Munyaneza, and J. M. Crosslin. 2012. High resolution melting analysis of the cytochrome oxidase I gene identifies three haplotypes of the potato psyllid in the United States. *Environ. Entomol.* 41: 1019-1028.

- Swisher, K. D., J. E. Munyaneza, and J. M. Crosslin. 2013a. Temporal and spatial analysis of potato psyllid haplotypes in the United States. *Environ. Entomol.* 42: 381-393.
- Tanaka, F.A.O., Colleta. Filho, H.D., Alves, K.C.S., Spinelli, M.O., Manchado, M.A., y Kitajima, E.W. 2007. Detection of the *Candidatus Liberibacter americanus*. In Phloem Vessels of experimentally infected *Cantharanthus roseus* by Scanning electron microscopy. *Fitopatol. Bras* 36, 519-520.
- Templeton A. 2006. Populations genetics and micro evolutionary theory. Chapter 1: Scope and Basic Premises of Population Genetics. Eds. John Wiley & Sons, Inc. pp. 700.
- Teulon DAJ., Workman PJ, Thomas JL and Nielsen M-C. 2009. *Bactericera cockerelli*: incursion, dispersal and current distribution on vegetable crops in New Zealand *Plant Protection* 62:136-144.
- Van der Merwe AJ and Andersen FG. 1937. Chromium and manganese toxicity. Is it important in Transvaal citrus greening Farming in South Africa. 12:439-440.