

**EVALUACIÓN, SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPOS DE PAPA  
(*Solanum tuberosum* L.), TOLERANTES AL SÍNDROME DE LA PUNTA  
MORADA**

*VÍCTOR MANUEL PARGA TORRES*

**TESIS**

*Presentada como Requisito Parcial para*

*Obtener el Grado de:*

**DOCTOR EN CIENCIAS  
EN FITOMEJORAMIENTO**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
PROGRAMA DE GRADUADOS**

*Buenavista, Saltillo, Coahuila, México*

*Junio de 2009*

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO**

**EVALUACION, SELECCIÓN Y CARACTERIZACION DE GENOTIPOS DE PAPA  
(*Solanum tuberosum* L.) TOLERANTES AL SÍNDROME DE LA PUNTA MORADA.**

**TESIS POR**

**VICTOR MANUEL PARGA TORRES**

**Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como  
requisito parcial para obtener el grado de:**

**DOCTOR EN CIENCIAS EN FITOMEJORAMIENTO**

**COMITÉ PARTICULAR**

**Asesor principal:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Víctor Manuel Zamora Villa**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Fernando Borrego Escalante**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Juan M. Covarrubias Ramírez**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Alfonso López Benítez**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Isidro Humberto Almeyda León**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Jerónimo Landeros Flores**

**Subdirector de postgrado**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio de 2009.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Instituto Nacional de Investigaciones forestales, Agrícolas y Pecuarias por haberme brindado la oportunidad de superarme.

Al personal académico del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonino de Narro por sus valiosos conocimientos transmitidos durante mi formación.

A mi comité de asesoría por su acertada orientación y dirección en la investigación.

Para todos los compañeros con quien conviví a través de mi formación y quienes fueron parte importante en mis estudios así como en el desarrollo de los trabajos de campo.

Al Dr. Humberto Antonio López Delgado y Dra. Martha Elena Mora Herrera así como al personal de apoyo del Laboratorio de Biotecnología del Programa Nacional de Papa por su apoyo para la caracterización de los genotipos por su actividad POX.

Al Dr. Antonio Rivera Peña e Ing. Víctor Julián Magallanes por proporcionarme germoplasma de papa de sus programas de mejoramiento para la presente investigación.

Agradezco con sinceridad y aprecio a todas aquellas amistades que me apoyaron y alentaron para la culminación de mis estudios.

## **DEDICATORIA**

### **A MIS PADRES:**

José Refugio Parga Ibarra (+) y Ramona Torres Alvarado (+) por sus consejos y ejemplo al haberme conducido a través del camino de la superación, por enseñarme que hay cosas más importantes que el dinero, por su infinito amor, y que gracias a sus grandes sacrificios me ayudaron a alcanzar las metas.

### **A MIS HIJOS:**

Víctor Daniel, Crystal Alicia y Cesar Joel, así como a mi nieto Ian Alexander con gran cariño por ser mis principales motivos de seguir adelante siempre buscando la superación en la vida.

### **A MIS HERMANOS:**

José Refugio, María del Carmen, Francisco Antonio, Ramona, Miguel, Juan Carlos y José Rafael, así como a sus familias por su valiosa compañía y cariño a través de mi vida y sobre todo por su apoyo en los momentos difíciles que he vivido.

### **A NORMA ALICIA:**

Por sus diversas muestras de apoyo durante mi desempeño profesional y académico.

# COMPENDIO

## EVALUACIÓN, SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPOS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.), TOLERANTES AL SÍNDROME DE LA PUNTA MORADA

POR

VÍCTOR MANUEL PARGA TORRES

DOCTORADO EN FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO. JUNIO DE 2009.

Dr. Víctor Manuel Zamora Villa---Asesor Principal---

**Palabras clave:** Germoplasma, virus, fitoplasmas, producción, características agronómicas, estabilidad, relaciones genéticas y agronómicas.

La investigación se realizó con el objetivo general de evaluar y seleccionar germoplasma de papa bajo, condiciones de campo por tolerancia al Síndrome de la Punta Morada. En Arteaga, Coahuila, durante el 2006, se establecieron 214 genotipos, bajo condiciones de cero control de vectores, los cuales se monitorearon semanalmente. De los 10 genotipos seleccionados en el ciclo 2006, se produjeron esquejes que fueron cultivados a los 28 días en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) y se tomaron muestras de plantas a los 28 días de cultivo *in vitro*, cuantificándose la actividad enzimática de la peroxidasa (POX) y

estableciendo las relaciones entre las variables agronómicas y de daño del síndrome de la punta morada con la actividad de la peroxidasa (POX). Con el objeto de conocer la estabilidad de nueve genotipos seleccionados, se establecieron en seis localidades productoras de papa en los estados de Coahuila y Nuevo León, en el Noreste y se sembraron en el ciclo primavera-verano 2007, en Mochis, Sin. y Huatabampo, Son., para el Noroeste, durante el otoño-invierno 2007, utilizando en cada ambiente un diseño de bloques completos al azar. Analizando como bloques al azar combinado sobre ambientes para determinar la existencia de la interacción genotipo x ambiente (IGA) que a su vez, fue analizada con el método de AMMI. Los datos agronómicos y de calidad industrial, así como los coeficientes del primer eje del “Análisis de los efectos principales aditivos y las interacciones multiplicativas”, denominado AMMI para los genotipos, a través de los ambientes de prueba, se sometieron al análisis de conglomerados. A los diez genotipos de papa seleccionados bajo condiciones de campo por tolerancia al síndrome de la punta morada en el ciclo 2006, se les calcularon las relaciones genéticas entre genotipos por el método de similaridad genética, propuesto por Nei y Li (1979). La matriz de distancias generada, se utilizó para producir un dendograma por el método de Agrupamiento de Unidades de Distancias Mínimas y Promedios Aritméticos (UPGMA).

De los 214 genotipos evaluados, solamente un 46.7% produjo tubérculos, mientras que el resto murió sin llegar a producir. Los primeros tres componentes principales explicaron el 76.84% de la varianza total, separando en primera instancia los genotipos productores de los no productores y en segunda, a los más tardíos con

mayor cobertura y menor brote de hilo, de aquellos con características opuestas. El análisis de conglomerados identificó tres grupos; el primero con 114 genotipos que no produjeron tubérculos, dado que presentaron más temprano los primeros síntomas y murieron. El segundo grupo, con 53 genotipos de mayor tolerancia, obtuvo la mejor media de producción por planta. El tercero con 47 genotipos, presentó tardíamente los primeros síntomas, intervalo más amplio a marchitez y baja producción. El análisis fitopatológico de tubérculos, detectó la presencia de bacterias, virus y fitoplasmas. Dado lo complejo del síndrome, se seleccionaron los genotipos: Gigant, Alpha, Norteña, Bayonera, Nieder, Atlantic y los clones 91-29-10, 98-14-01, 94-02-01 y 96-01-01 por su producción y sin manchado interno de tubérculo, cuando no se controlan vectores. En lo referente a la caracterización de los diez genotipos por su actividad enzimática de la peroxidasa (POX), existió variabilidad. La mayor actividad POX, la presentaron el clon 98-14-01, seguido por los genotipos Alpha, Norteña y 96-01-01. Además, se detectó una relación que pudo estar dada por la acción de la peroxidasa (POX) con el inicio de primeros síntomas, días a marchitez, intervalo de inicio a marchitez, mayor altura y cobertura en la planta, características que les confiere resistencia a los genotipos.

Se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.01$ ) entre ambientes, genotipos y la interacción genotipo x ambiente para todas las variables agronómicas. Los genotipos más estables en producción comercial y total fueron: 96-01-01, Bayonera y 98-14-01. Las localidades de Emiliano Zapata y Navidad N. L., son adecuadas para seleccionar a tolerancias o resistencias a virus y fitoplasmas por su alta incidencia de insectos vectores. El análisis de conglomerados, utilizando

las características agronómicas de daño del síndrome de la punta morada y calidad, conformó tres grupos. Grupo I estuvo integrado solo por la variedad Gigant, con un rendimiento medio de 26.431 y 28.330 total y comercial t ha,<sup>-1</sup> respectivamente. Como características sobresalientes de este cultivar, es su resistencia al manchado de la pulpa, además de no presentar floración. El grupo II, lo conforman los genotipos Alpha, 94-02-01, 96-01-01 y 98-14-01 y el grupo III, incluye a las variedades Norteña, Nieder y Bayonera. Al comparar las características agronómicas y de calidad entre ambos grupos, no se detectó diferencia y las características que los distinguen, es el grado de susceptibilidad en planta y tubérculo al síndrome de la punta morada.

Se amplificaron un total de 28 fragmentos (17.9 en promedio), el 78.57% fueron polimórficos y el 21.43% fueron monomórficos. De acuerdo a los resultados, podemos inferir que los marcadores utilizados serían de gran interés en la caracterización molecular de los diferentes genotipos de papa que se cultiven. Se observaron 4 grupos principales, la variedad Nieder conformó el grupo A y fue genéticamente la más contrastante del resto de los materiales. El grupo B, fue conformado por las variedades Gigant, Alpha y el clon 91-29-10, observándose mayor distancia genética entre Gigant en relación a Alpha y el clon 91-29-10. La mayor similitud genética observada entre Alpha y el clon 91-29-10 en relación a la variedad Gigant, se explica porque la variedad Alpha es progenitor del clon 91-29-10. Los clones 94-02-01, 96-01-01 y 98-14-01 del programa de papa del Campo Experimental Toluca del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, constituyeron el grupo C. La conformación de este grupo, sugiere que



los genotipos que lo conforman poseen mayor proporción de germoplasma mexicano, usado en la hibridación. El grupo D está conformado por las variedades Norteña, Atlantic y Bayonera. Estas variedades tienen parentesco genético, ya que en todas ellas participan como progenitores clones de origen norteamericano.

Se identificó; evaluó la estabilidad y caracterizó por su actividad de la peroxidasa así como molecularmente, germoplasma con tolerancia al síndrome de la punta morada. Es urgente trabajar en el manejo integrado de vectores e iniciar el mejoramiento de poblaciones de papa por resistencia múltiple, como la alternativa más viable y económica para una producción sustentable de papa.

## ABSTRACT

**EVALUATION, SELECTION AND CHARACTERIZATION OF POTATO (*Solanum tuberosum* L.) GENOTYPES TOLERANT TO THE PURPLE TOP SYNDROME**

**BY**

**VICTOR MANUEL PARGA TORRES**

**DOCTORATE IN PLANT BREEDING**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MEXICO. JUNE 2009.**

**Dr. Victor Manuel Zamora Villa---Main Adviser**

**Key words: Germplasm, virus, phytoplasms, production, agronomic characteristics, stability, genetic and agronomic relations.**

The investigation was done to evaluate and select potato germplasm under field conditions for tolerance to Purple Blight syndrome. In Arteaga, Coahuila during 2006, 214 genotypes were established, under zero vector conditions control which were weekly monitored. Out the 10selected genotypes on the 2006 cycle, shoots were produced shoots, which were cultivated 28 days in culture medium MS (Murashige y Skoog, 1962), taking plant samples on the 28<sup>th</sup> day of *in vitro* cultivation, quantifying the peroxidase enzymatic activity (POX) and establishing relations among agronomic variables and purple top harm syndrome with peroxidase activity (POX). In order to know the stability of nine selected

genotypes, these were established in six potato producing locations of potato in the states of Coahuila and Nuevo Leon (Northern) and they were sown in the 2007 spring-summer cycle in Mochis, Sin. And Huatabampo, Son. (Northeast) on autumn-winter, 2007; using on every environment a complete randomly block design. Analyzing it as, combined random block on environments to determine the existence of genotype x environment interaction (IGA,) which in turn, was, analyzed with the AMMI method (Analysis of the Main Additive effects and the Multiplicative Interactions),for the genotypes throughout the tested environments. Agronomic and industrial quality data, as well as the coefficient of the first axle of the, were submitted to Cluster analysis. To the ten selected potato genotypes, for purple top syndrome tolerance under field conditions in the 2006 cycle, genetic relations were calculated among genotypes by the genetic similarity method, proposed by Nei and Li (1979). The generated distances matrix, was used to produce a dendogram by the Minimum Distances Unit Grouping Method and Arithmetic Average (UPGMA).

From the 214 evaluated genotypes, only a 46.7% produced tubers while the rest died without producing. The first three principal components explained the 76.84% of total variance, separating first of all the producing from the non producing genotypes and secondly, to the latest with higher covering and less thread shooting from those of opposite characteristics. The Cluster analysis identified three groups; the first one with 114 genotypes that produced no tubers, since they had earlier symptoms and died. The second group with 53 higher tolerant genotypes, had the best production average per plant. The third one with 27

genotypes, presented first symptoms lately, the widest wilt interval and low production. The phytopathological tuber analysis, detected bacterias, virus and phytoplasms. Due to the complex syndrome, Gigant, Alpha, Norteña, Bayonera, Nieder, Atlantic genotypes were selected and, the 91-2910, 98-14-01, 94-02-01 and 96-01-01 clones on basis of their production and internal tuber stainless when vectors are not controlled.

With respect to the characterization of the ten enzymatic peroxidase activity genotypes (POX), there was variability. The highest POX activity was by the 98-14-01 clone, followed by the Alpha, Norteña and 96-01-01 genotypes. Also it was detected a relation which could of be given by the peroxidasa (POX) action, starting with the first symptoms, wilt days, wilt interval initiation, highest height and plant covering, characteristics that gives resistance to genotypes.

Significant difference ( $p \leq 0.01$ ) was found among environment, genotypes and the interaction genotype x environment for all agronomic variables. The most stable genotypes in commercial and total production were 96-01-01, Bayonera and 98-14-01. Emiliano Zapata and Navidad, N. L., are adequate locations to select virus and phytoplasma tolerance or resistance caused by its high incidence of insect vectors. Three groups were formed with the combined analysis, using the agronomic characteristics of damage to purple top syndrome and quality. The Group I was integrated only by the variety Gigant, having an average yield of 26.431 and 28.330 total and commercial t ha<sup>-1</sup>, respectively. Its resistance to flesh blight, and lack of flowering were the outstanding characteristics of this cultivar. The Group II it was formed by the genotypes Alpha, 94-02-01, 96-01-01 and 98-14-01 and, the

Group III includes the Norteña, Nieder and Bayonera varieties. When comparing the agronomic and quality characteristics between both groups, there was no difference detected but They are distinguished by the susceptibility degree in plant and tuber to purple blight syndrome.

A total of 28 fragments were amplified (17.9 in average), a 78.57% were polymorphics and 21.43% were monomorphics. According to results, we can infer that the used markers could be of great interest in the molecular characterization of the different cultivated potato genotypes. Four main groups were observed, the Nieder variety formed group A and was genetically the most contrasting from the rest of the materials. Group B was formed by the Gigant, Alpha varieties and the 91-29-10 clone, observing higher genetic distance among Gigant in relation to Alpha and the 91-29-10 clone. The highest genetic similarity observed between Alpha and the 91-29-10 clone in relation to Gigant variety is explained because explains why the Alpha variety is the parent of 91-29-10 clone. The 94-02-01, 96-01-01 and 98-14-01 clones from the potato program of Campo Experimental Toluca of INIFAP, formed group C. This group formation, suggests that the genotypes that form it have higher Mexican germplasm proportion used in hybridization. Group D is made up with the Norteña, Atlantic and Bayonera varieties. These varieties have genetic relation, since all of them are involved as parents of the North American clones.

Germplasm with tolerance to purple top syndrome was identified, its stability was evaluated and its peroxidase activity as well as molecularly was characterized.

Its urgent to work in the integrated management of vectors and also initiate the improvement of potato populations for multiple resistance as the most viable and economy alternative to obtain a sustainable potato production

## INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
COMPENDIO.....	v
INDICE DE CUADROS.....	xvii
INDICE DE FIGURAS.....	xviii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS .....	3
HIPOTESIS .....	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
II.1. Patosistemas y Vulnerabilidad.....	5
II.2. Síndrome de la Punta Morada.....	10
II. 3. Punta Morada por Fitoplasmas.....	12
II.4. Otros Factores Causantes de la Punta Morada.....	18
II.5. Mejoramiento Genético de Papa. ....	21
II.6. Mejoramiento por Resistencia a Condiciones Adversas de la papa.....	22
II.7. Mecanismos de Resistencia.....	24
II.8. Interacción Genotipo x Ambiente en la Evaluación de Germoplasma.....	27
II.9. Inducción de Resistencia a Condiciones Adversas. ....	28
II.10. Importancia de la Caracterización Molecular.....	32
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
III.1. Evaluación de germoplasma de papa contra el síndrome de la punta morada bajo condiciones de campo sin aplicación de insecticidas.....	37

III.2. Caracterización, por actividad de la peroxidasa (POX) de genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada y su relación con las características de campo. ....	39
III.3. Estabilidad de características agronómicas de genotipos seleccionados por tolerancia al Síndrome de La Punta Morada en diferentes localidades. ....	41
III.4. Caracterización molecular de 10 genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada. ....	45
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	53
IV.1. Evaluación de germoplasma de papa contra el síndrome de la punta morada bajo condiciones de campo sin aplicación de insecticidas. ....	53
IV.2. Caracterización, por actividad de la peroxidasa (POX) de genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada y su relación con las características de campo. ....	63
IV.3. Estabilidad de características agronómicas de genotipos seleccionados por tolerancia al Síndrome de La Punta Morada en diferentes localidades. ....	70
IV.4. Caracterización molecular de 10 genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada. ....	86
V. CONCLUSIONES .....	91
VI. BIBLIOGRAFÍA .....	93



## INDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1 Germoplasma de papa utilizado, genealogía y origen.....	41
Cuadro 3.2 Germoplasma de papa evaluado en seis ambientes de producción de papa en México y grado de tolerancia al tizón tardío.....	42
Cuadro 3.3 Características de los ambientes de evaluación.....	44
Cuadro 3.4. Iniciadores utilizados en la caracterización molecular de 10 genotipos de papa, por medio de la técnica de SSR.....	46
Cuadro 3.5 Principales características de los iniciadores seleccionados para los microsatélites (Ashkenazi <i>et al.</i> , 2000; Ghislain <i>et al.</i> , 2000).....	47
Cuadro 4.1 Coeficientes de correlación de cada variable con los tres componentes principales.....	54
Cuadro 4.2 Número de individuos, medias de características agronómicas y de tubérculos en los grupos formados por diferentes genotipos de papa, sin aplicación de insecticidas. ....	58
Cuadro 4.3 Producción por planta de los genotipos que superan la media del grupo 2. ....	62
Cuadro 4.4 Coeficientes de correlación de cada variable con los tres componentes principales.....	66
Cuadro 4.5. Cuadrados medios y significancia para diferentes variables agronómicas evaluadas en nueve genotipos de papa en seis ambientes, así como sus componentes principales.....	71
Cuadro 4.6. Cuadrados medios y significancia para rendimiento comercial en nueve genotipos de papa en cinco ambientes y sus componentes principales. ....	72
Cuadro 4.7. Valores promedio por grupo de características agronómicas, de calidad y daño del síndrome de la punta morada.....	85
Cuadro A.1 Análisis de varianza de la actividad enzimática de la peroxidasa en diez genotipos de papa.....	111
Cuadro A.2 Comparaciones de media para características agronómicas en seis ambientes de evaluación. ....	111
Cuadro A.3 Comparaciones de medias para características agronómicas en nueve genotipos de papa de seis ambientes de evaluación. ....	112
Cuadro A.4 Valores promedio de características de calidad y daño por el síndrome de la punta morada en nueve en genotipos de papa.....	112

## INDICE DE FIGURAS

Figura 4.1. Distribución de las variables en los dos primeros componentes. ...	55
Figura 4.2. Agrupamiento de los genotipos en el espacio generado por los dos primeros componentes. ....	56
Figura 4.3 Monitoreo de insectos vectores a través del ciclo (P-V 2006), en la localidad de Emiliano Zapata municipio de Arteaga, Coahuila .....	60
Figura 4.4 Agrupamiento de los genotipos, con base en los dos primeros componentes.....	61
Figura 4.5. Actividad POX en diferentes genotipos de papa. ....	64
Figura 4.6. Relación entre variables con base en los dos primeros componentes principales.....	67
Figura 4.7. Distribución de los genotipos con base en los primeros dos componentes principales.....	69
Figura 4.8. Monitoreo de insectos vectores a través del ciclo (P-V 2007), en la localidad de Emiliano Zapata municipio de Arteaga, Coahuila. ....	72
Figura 4.9. Monitoreo de insectos vectores a través del ciclo (P-V 2007), en la localidad de Navidad, N. L. ....	73
Figura 4.10. Media de producción total y comercial ( $t ha^{-1}$ ) de papa de nueve genotipos de papa en seis localidades. ....	74
Figura 4.11. Distribución de genotipos y ambientes para el rendimiento total y los primeros dos componentes. ....	75
Figura 4.12. Distribución de genotipos y ambientes con base al rendimiento total y el primer componente. ....	78
Figura 4.13. Distribución de genotipos y ambientes para el rendimiento comercial y los primeros dos componentes.....	79
Figura 4.14. Distribución de genotipos y ambientes con base al rendimiento comercial y el primer componente.....	81
Figura 4.15. Agrupamiento de genotipos de papa con base en las características agronómicas, de calidad y de daño por punta morada.....	83
Figura 4.16. Amplificación mediante la técnica de SSR utilizando diferentes iniciadores y DNA de 10 genotipos de papa. ....	87
Figura 4.17. Amplificación mediante la técnica de SSR utilizando diferentes iniciadores y DNA de 10 genotipos de papa.....	87

Figura 4.18. Distancias genéticas entre diferentes genotipos de papa, calculadas por el método de similitud genética propuesto por Nei y Li (1979).....	89
Figura A.1. Distribución de la variable altura en los dos primeros componentes.....	113
Figura A.2. Distribución de la variable tallos en los dos primeros componentes.....	114
Figura A.3. Distribución de la variable días a flor en los dos primeros componentes.....	115

## I. INTRODUCCIÓN

La papa es importante fuente de alimentación humana, ocupando el cuarto lugar entre los principales cultivos alimenticios del mundo, ya que su producción sólo es superada por el trigo, maíz y arroz. Se cultiva en un amplio rango de ambientes de 55°N a 50°S, desde el nivel del mar hasta más de los 4000 metros de altitud, y bajo un amplio rango de regímenes de humedad y temperatura (Mendoza, 1997). La producción en los países en desarrollo creció de 29 a 105 millones de toneladas en los últimos 36 años, mientras que en los países desarrollados la producción disminuyó de 236 a 90 millones de toneladas durante el mismo período. Es decir, que la participación de los países en desarrollo en la producción mundial de papa se incrementó de 11 % a 36 % (Scott y Maldonado, 1998). En 2007 se sembraron en todo el mundo 19.3 millones de hectáreas, con una cosecha de 321 millones de toneladas (un promedio de casi 17 t ha<sup>-1</sup>). En México en el 2007, se sembraron 64 mil hectáreas, con una producción total de 1.7 millones de toneladas y un rendimiento medio de 27 t ha<sup>-1</sup>. Del total de la producción comercial el 66% es para consumo fresco, 21% industrial y solo el 13%

es destinado como semilla (Claridades-Agropecuarias, 2008). Es un cultivo importante económicamente ya que representa el 1% del Producto Interno Bruto total y el 2.6% agropecuario (ITESM, 2003). En los países en desarrollo, el consumo per cápita de papa aumentó de 10 kg (1961–1963) a 21.5 kg en 2003. En los países desarrollados el consumo per cápita promedio anual es de 93 kg (Bayer, 2008). Al inicio de la década de 1990 se introdujeron en México variedades con características de calidad adecuadas para la industria, debido al auge en el consumo de comidas rápidas y de papa frita (hojuela); sin embargo, las variedades introducidas (Atlantic, Snowden, Chipeta, Premiere, Cesar, Adora, Vivaldi etc.) muestran alta susceptibilidad a las principales enfermedades (tizón tardío, tizón temprano, fusarium, verticillium, virus, fitoplasmas, etc.), y a las temperaturas extremas adversas. Dado que las variedades comerciales utilizadas en la producción de papa, en México tienen un parentesco cercano al provenir principalmente de Holanda y Norteamérica, han ocasionado una fuerte dependencia hacia el uso de agroquímicos debido a la baja resistencia a las enfermedades y a la falta de adaptación de los cultivares a las condiciones adversas. A finales de la década de 1990, la calidad del producto dirigido tanto al mercado fresco como a la industria, ha sido afectada por condiciones que favorecen al síndrome de la punta morada, con pérdidas del 35% por mala calidad y manchado interno del tubérculo (Parga, 2000). En el ciclo agrícola 2004, los daños por punta morada fueron responsables por más 50% de pérdidas en producción y hasta del 100 % en calidad (Flores *et al.*, 2004). Actualmente, para producir papa en el Noreste de México, se requieren de 30 a 50 aplicaciones de insecticidas para el control de los principales vectores de virus y fitoplasmas

(Parga *et al.*, 2008b). Debido a esto se ha hecho un uso intensivo de agroquímicos, los cuales representan hasta el 35% del costo del cultivo de acuerdo a estimaciones del Fideicomiso Institucionalizado de Recursos para la Agricultura (FIRA, 2008). Lo anterior es preocupante por el riesgo que representa para los productores, trabajadores, consumidores y ecosistemas de la región.

El principal programa de mejoramiento genético en México, tiene como objetivo la generación de germoplasma por resistencia al tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*), programa en el que México es líder a nivel mundial. Sin embargo, debido al incremento del problema de punta morada actualmente se están realizando evaluaciones para determinar y detectar fuentes de resistencia contra el síndrome de la punta morada (Rivera, 2008).

**Por lo anterior el objetivo general del proyecto fue:**

Evaluar, seleccionar y caracterizar germoplasma de papa bajo condiciones de campo por tolerancia al Síndrome de la Punta Morada.

**Objetivos específicos:**

- 1).- Caracterizar al germoplasma seleccionado por su actividad de la peroxidasa y su relación con características agronómicas y el síndrome de la punta morada.
- 2).- Evaluar la estabilidad de los genotipos seleccionados en diferentes ambientes de evaluación y agruparlos de acuerdo a sus características agronómicas, calidad y daño por el síndrome de la punta morada.

3).- Caracterizar molecularmente los clones y variedades seleccionados, así como sus relaciones genéticas.

## **HIPÓTESIS**

Es posible que en germoplasma generado é introducido por el Programa Nacional de Papa del INIFAP existan genotipos tolerantes al Síndrome de la Punta Morada y con amplio rango de adaptación.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### II.1. Patosistemas y Vulnerabilidad.

Un Patosistema es una clase especial de *subsistema* del ecosistema; es el que involucra el parasitismo. El Patosistema involucra la interacción de una población de la especie parásita con una población de la especie hospedante. En la agricultura existen dos tipos de diferentes patosistemas; estos son los patosistemas en plantas silvestres y los de las plantas cultivadas: El patosistema vegetal silvestre es un sistema adaptativo, autoorganizable y complejo, en el cual el ser humano “aún no” ha intervenido. La selección natural se ha asegurado de que actúe como un sistema balanceado, estable y dinámico, que ha sobrevivido millones de años de competencia evolutiva y ecológica. El patosistema silvestre también es muy flexible; tiene variabilidad genética y sus poblaciones responden a las presiones de selección. Existen tres componentes primordiales en un patosistema silvestre: La población del hospedante, la población del parásito, y el ambiente. Los patosistemas de cultivos se derivan de un patosistema silvestre, pero se diferencian fundamentalmente por la presencia de un cuarto componente,



el hombre, que es quien ha cambiado a los tres componentes. Por lo tanto los patosistemas cultivados son muy diferentes, y todas las diferencias se deben a las actividades humanas. En primer lugar la población hospedante ha sido cambiada en diferentes aspectos. La especie en sí misma ha cambiado genéticamente durante el proceso de domesticación y selección artificial. Las plantas así domesticadas han sido adicionalmente cambiadas por el fitomejorador moderno, y actualmente se cultivan en grandes áreas de poblaciones genéticamente uniformes bajo la forma de líneas puras, híbridos y clones. Además, estas poblaciones uniformes tienen densidades poblacionales usualmente mucho más grandes que las de la mayoría de los patosistemas silvestres. En segundo lugar, el ambiente ha sido cambiado. La tierra que alguna vez pudo haber estado cubierta con bosques mixtos ha sido arrasada, drenada, sembrada, deshierbada, abonada, tratada con plaguicidas y tal vez irrigada. En tercero la población de parásitos ha estado sujeta a presiones de selección, tan extrañas, que nunca hubieran ocurrido en un patosistema silvestre. Debido al uso de plaguicidas los parásitos han sido también liberados de las presiones de muchos de sus enemigos naturales y como resultado sus explosiones poblacionales son mucho más grandes. Uno de los efectos de toda esta artificialidad es que la diversidad genética, la flexibilidad genética, y la discontinuidad de los patosistemas silvestres han sido reemplazados con uniformidad, inflexibilidad y debido a los modernos monocultivos, con una gran cantidad de continuidad epidemiológica. Como consecuencia directa, el patosistema de cultivos ahora es un sistema inestable y desbalanceado. Sin el uso de plaguicidas químicos algunos de nuestros cultivos ni siquiera se podrían

desarrollar, y muchos otros sufrirían reducciones intolerantes en el rendimiento y la calidad del producto (Robinson, 1987; Robinson, 2000).

Actualmente mediante el proceso del fitomejoramiento, se han incrementado los rendimientos y la calidad. En muchas especies cultivadas, este mejoramiento es espectacularmente exitoso. Desafortunadamente la característica especial de resistencia a parásitos ha sido con frecuencia menospreciada o aún deliberadamente sacrificada. Por lo anterior, podemos decir que los cultivos modernos son generalmente más susceptibles a parásitos que sus antepasados silvestres, y que muchos no pueden ser cultivados sin el uso de pesticidas para protegerlos contra sus parásitos.

La papa (*Solanum tuberosum* L.), es probablemente el mejor ejemplo, es atacada por enfermedades originadas por hongos, virus, bacterias y fitoplasmas. Estos patógenos, al infectar el follaje, raíces y tubérculos, provocan debilitamiento de las plantas, muerte prematura y comercialmente, la mala calidad de los tubérculos (Rousselle *et al.*, 1999), habiendo casos en que puede causar su destrucción completa, como el ocasionado por la enfermedad conocida como tizón tardío (*Phytophthora infestans*). Al respecto, Henfling (1987), comenta la importancia que ha adquirido el tizón tardío, ya que de 1845 a 1850, como consecuencia de éste, murieron 1 millón de personas de un total de 8 millones de habitantes en Irlanda, y otro millón y medio emigraron del país. Además indica que el tizón tardío es la más seria de las enfermedades fungosas de la papa, ya que afecta hojas, tallos y tubérculos y, si no es controlada, las pérdidas pueden llegar al 100%.

Incluso con niveles más bajos de infección, la cosecha puede no ser apta para el almacenamiento.

Actualmente, el control de la enfermedad es principalmente a través de productos químicos, el cual es muy costoso, encarece el cultivo y afecta al medio ambiente. En 1994 los productores de papa gastaron \$4,000 millones de dólares en fungicidas para el control de la enfermedad de acuerdo a reportes del Programa Internacional del Tizón Tardío de la papa (PICTIPAPA, 1997). Aunado a lo anterior, debido a que la producción de papa es multiplicada vegetativamente de semilla-tubérculo las plagas y enfermedades son fácilmente diseminadas e introducidas a nuevas áreas (Mulder y Turkensteen, 2005).

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en México y en particular en la región de Coahuila- Nuevo León, es probablemente el mejor ejemplo para explicar el fenómeno de "Vulnerabilidad de Cultivos". En la actualidad en México, se siembran más del 95% con variedades introducidas de papa de Norteamérica, Canadá y Holanda, susceptibles al tizón tardío (*Phytophthora infestans*), implicando que deben efectuarse constantes aplicaciones de fungicidas para controlar el ataque del hongo, que requiere entre 15 y 30 aplicaciones de fungicidas preventivos y de 4 a 12 sistémicos para la protección adecuada del cultivo, representando un volumen de más de 5 mil toneladas anuales de agroquímicos sólo para el control de esta enfermedad. A pesar de este número y dosis de fungicidas, se ha tenido daño en tubérculo. Dichas variedades tienen un parentesco cercano, ya que no se ha hecho un esfuerzo importante encaminado a ampliar su base genética. Es conocido que cuando se usan estos cultivares en

mejoramiento genético la progenie resultante tendrá un grado de endogamia debido al parentesco entre sus progenitores, lo que puede reducir su rendimiento y estabilidad (Estrada, 1999); esta situación ha ocasionado una fuerte dependencia hacia el uso de agroquímicos debido a la baja resistencia a las enfermedades y a la falta de adaptación de los cultivares a las condiciones adversas (Spiertz *et al.*, 1996).

El uso de plaguicidas químicos en la papa está aumentando en los países en desarrollo, conforme los agricultores intensifican la producción y utilizan variedades no adaptadas, altamente susceptibles a plagas y enfermedades y a producir en temporadas y zonas que no son adecuadas a este cultivo. Los plaguicidas que absorbe el suelo muchas veces penetran en los cultivos, se escurren y contaminan el suministro de agua. El uso excesivo de los mismos con frecuencia se suma a los problemas causados por las plagas y enfermedades. En Colombia se han asociado los brotes de una enfermedad viral a los insecticidas que eliminaron los depredadores naturales del vector de esa enfermedad (Claridades-Agropecuarias, 2008). Lagnaoui y Radcliffe (1998), reportan que las aplicaciones para el control del tizón tardío (*Phytophthora infestans*), tienen una relación directa con la degeneración de la semilla al ser afectados los organismos benéficos (entomofauna y entomopatógenos). En México, debido al uso de variedades altamente susceptibles al tizón tardío, es necesario realizar frecuentes aplicaciones de fungicidas preventivos (15-30) y sistémicos (4-12) para su prevención y control, lo cual ha favorecido un incremento de las poblaciones de insectos vectores al disminuir los organismos benéficos (Parga, 2008b).

## II.2. Síndrome de la punta morada.

En los años noventas, en zonas paperas de Coahuila, Nuevo León, Jalisco y otras del país comenzó a manifestarse la enfermedad punta morada de la papa (PMP), asociada etiológicamente a un fitoplasma, el que ocasiona amarillamiento, enrollamiento de folíolos con color morado, formación de tubérculos aéreos, necrosis vascular en tallos y tubérculos (García-Quijano, 1996), otros patógenos asociados con el PMP son los virus del enrollamiento (PLRV) y Y (PVY) (Flores *et al.*, 2004) y daños ocasionados por hongos como *Fusarium*, *Verticillium* y *Rhizoctonia* (Guigon, 1994; Moctezuma, 2005). Afecta también la calidad de los tubérculos por un manchado interno que los hace inadecuados para la industria y para uso como semilla (García-Quijano, 1996; Almeyda *et al.*, 1999; Cazares *et al.*, 2003). Existen evidencias que indican, que además de agentes bióticos, los abióticos como la temperatura, humedad relativa o una mala nutrición pueden causar alteraciones metabólicas o fisiológicas de la planta, provocando la expresión de síntomas de punta morada (Agrios, 1996; Rubio 1998; Santiago, 2004); además de considerar a factores como altitud y variedad que afectan el inicio de infección y expresión de síntomas (Maramorosch, 1988; Banttari, 1993, Kranz, 1988; Santiago, 2004), ya que altas temperaturas causan pérdida de turgencia, reduce la transpiración por el cierre de estomas, reducen la absorción y transporte de agua/nutrientes y fotosintatos, provocando que no lleguen a lugares

donde la planta lo requiere (Levitt, 1980). La alta humedad predispone a la planta al ataque de hongos del suelo y los procesos fisiológicos funcionan en forma inadecuada, ocasionando fallas en los mecanismos de defensa (Horsfall, 1979; Agrios, 1996; Santiago, 2004). Por lo anterior la Punta Morada es un síndrome debido a que intervienen tanto factores bióticos como abióticos.

Ames (1980) menciona que el “enrollamiento” es un síntoma que puede ser producido por diversas causas no relacionadas entre sí. La reducción en la translocación de los hidratos de carbono a partir del follaje, da como resultado la acumulación de almidón en las hojas, las cuales se vuelven coriáceas y se enrollan hacia arriba, en una forma muy similar a la que adoptan por ataque de virus. El síntoma de enrollamiento con o sin clorosis, conjuntamente con una pigmentación roja pueden acompañar a los daños provocados por *Rhizoctonia*, a la marchitez por *Fusarium*, por virus y fitoplasmas o por otros patógenos y también puede ser la consecuencia de daños mecánicos que se han producido en los tallos. También ciertas deficiencias de elementos nutricionales en la planta pueden causar estos síntomas (García y Olivares, 2001). En las zonas productoras de papa de Coahuila y Nuevo León, diagnósticos fitopatológicos (Ramos *et al.*, 2003) han identificado la presencia de *Fusarium oxysporum* (80%), *Fusarium solani* (46%), *Rhizoctonia solani* (60%), *Alternaria solani* (50%) y esporádicamente *Verticillium* spp. (3%), asociados a este síndrome; los virus PLRV (8%), PVY (1%); además se detectó el 20% de fitoplasma en plantas con sintomatología de “Punta Morada”. Por lo anterior, no todas las plantas con sintomatología de Punta Morada son afectadas por fitoplasmas, sino que se encuentran involucrados otros factores,

que reducen a su vez el rendimiento y la calidad. Los principales insectos vectores de virus y fitoplasmas, presentes en la región son: pulgones (*Myzus* spp), chicharritas (*Empoasca* spp) y psílicos (*Bactericera cockerelli*), los cuales se relacionan con el síndrome de la Punta Morada.

### **II.3. Punta morada por fitoplasmas.**

La enfermedad conocida como punta morada de la papa (PMP), causada por fitoplasmas, es de importancia mundial ya que afecta cultivos en América, Europa, Asia y Australia (Maramorosch, 1998). Los síntomas de la PMP se observaron en México desde 1948 y en los últimos 10 años se ha visto un incremento acelerado de la enfermedad, especialmente en la región centro del país (Cadena *et al.*, 2003). Las pérdidas ocasionadas por la “punta morada” de la papa varían del 30 al 100% en México, y afectan además la viabilidad de los tubérculos a usarse como semilla en el siguiente ciclo. Se han calculado pérdidas millonarias para los productores y procesadores del suroeste de los Estados Unidos, México y Guatemala (Goalsby *et al.*, 2007). Esta enfermedad ha sido catalogada como la segunda enfermedad de mayor importancia (después del tizón tardío); al igual que en México, en Guatemala la ubican como el segundo problema en importancia del cultivo de la papa después del tizón tardío (Martínez-Soriano, 1999). Malamud *et al.*, (1997), reportan cinco categorías de importancia de las enfermedades basados en las pérdidas estimadas: reportada solamente (sin pérdidas en la producción); esporádica (<2% pérdida); moderada (2-10% pérdida); importante (11-30% pérdida) y muy importante (>30% pérdida). Los síntomas de la PMP se caracterizan por un achaparramiento de la planta, abultamiento del tallo en los

lugares de inserción de las hojas, formación de tubérculos aéreos y una decoloración en las hojas superiores, las cuales tienden a tornarse moradas en algunas variedades. Los tubérculos provenientes de plantas con síntomas de PMP desarrollan un pardeamiento interno y generalmente no brotan, o si lo hacen, sus brotes son muy delgados o ahilados. Se ha demostrado que los síntomas descritos previamente pueden estar asociados con la presencia de fitoplasmas (Almeyda *et al.*, 1999; Maramorosch, 1998; Cadena *et al.*, 2003) y con el efecto de una posible toxina inyectada a las plantas por el psílido de la papa *Bactericera cockerelli* Sulc. (*Hemiptera*: Triozidae) también conocida como *Paratrioza cockerelli* Sulc. (Arslan *et al.*, 1985; Asscherman *et al.*, 1996). Sin embargo, esa “toxina” nunca ha sido aislada y el desorden metabólico pudiera ser debido a la posible presencia de metabolitos producidos por las ninfas del insecto é introducidos por éste al momento de alimentarse. Hansen (2008) reporta a *Bactericera cockerelli* (Sulc), como transmisores de *C. Liberibacter psyllaourous*, la cual causa los mismos síntomas de PMP. Otros estudios conducidos en México han comprobado que el psílido de la papa *B. cockerelli* también es vector de los fitoplasmas causantes de la PMP (Garzón *et al.*, 2004). El uso de técnicas moleculares ha permitido distinguir siete diferentes tipos de fitoplasmas asociados con la PMP en Estados Unidos, Japón y Malasia (Okuda *et al.*, 1997). En México se ha detectado la presencia de al menos dos tipos de fitoplasmas asociados con los síntomas de la PMP (Almeyda *et al.*, 1999; Leyva *et al.*, 2002).

El psílido de la papa se encuentra ampliamente distribuido en México y en Estados Unidos de América. De acuerdo a Cranshaw (1993), desde 1920 se detectaron los



problemas ocasionados por el psílido de la papa en EE.UU. y actualmente está distribuido en los estados de Minnesota, Dakota del Norte, Dakota del Sur, Nebraska, Kansas, Oklahoma, Texas y en todos los estados del oeste americano, excepto Oregon y Washington. En México *B. cockerelli* ataca a la papa y al jitomate especialmente en el estado de Guanajuato, y su importancia puede estar ligada a su función como vector de una enfermedad viral conocida como “Permanente del tomate” (Garzón *et al.*, 1992). Otros lugares en los que también ha ocasionado fuertes daños en el cultivo de jitomate son en el estado de California en EE. UU. y Baja California en México (Cranshaw, 1993). En México, en años recientes se ha detectado daño por *B. cockerelli* en casi todas las zonas productoras de papa, con excepción de Sonora, Sinaloa y Jalisco, por lo que se estima que afecta 70% de la superficie sembrada con papa (Rubio *et al.*, 2002). Se le ha encontrado en el Distrito Federal y en Río Frío, Edo. de México (Cranshaw, 1994), así como en otras localidades de esta entidad, y en los estados de Guanajuato, Chihuahua, Michoacán, Puebla, Veracruz, Durango, Coahuila, Tamaulipas, Baja California Norte, Aguascalientes y Nuevo León (López-flores, 2002; Zavala-Quintana 2002; Fuentes-Valle *et al.*, 1960).

*Paratrioza cockerelli* puede atacar varios cultivos (Pletsch, 1947; Wallis, 1955). Pletsch (1947), reportó que la papa es el hospedero favorito para la ovoposición, comparada con otras solanáceas. Los síntomas que causa en el follaje de la papa son: retraso en el crecimiento, clorosis; posteriormente las hojas se enrollan, los entrenudos se acortan, se engrosan los nudos y se producen tubérculos aéreos. Se ha asociado el síntoma de amarillamiento en plantas de papa y tomate con una

toxina que es introducida por el psílido al momento de alimentarse (Carter, 1950; Arslan *et al.*, 1985). Blood *et al.*, (1993) reportaron que los síntomas de amarillamiento fueron inducidos en las plantas cuando se alimentaron al menos 30 psílicos; si los insectos eran removidos, las plantas recuperaban su desarrollo normal. Se ha reportado que el síntoma del amarillamiento en las plantas hospederas del psílido es ocasionado por la alimentación del insecto en su estadio ninfal (Richards, 1931). Carter (1950) encontró que no todas las ninfas tienen la capacidad de producir una reacción tóxica. En los tubérculos subterráneos se presenta un pardeamiento, que puede llegar a necrosis y una brotación anormal, cuando éstos se colocan en el almacén (Cranshaw 1994; 2002), la cual consiste en la brotación prematura y en la producción de brotes débiles. Con respecto a este punto Ploaie (1981), reporta: hipertrofia, hiperplasia y proliferación o necrosis de células, especialmente del floema secundario, acumulación anormal de callosa en las paredes del floema, degeneración de la lamela media, colapso de elementos cribosos e incremento en la producción de floema secundario. Las alteraciones celulares a nivel ultraestructural en el hospedante incluyen: incremento en el contenido de ribosomas, degeneración de mitocondrias y cloroplastos, así como vacuolización del citoplasma.

Los fitoplasmas causantes de la PMP, son transmitidos también por varias especies de chicharritas (Homoptera: *Cicadelidae*). Entre las especies citadas se encuentran *Macrostelus orientalis*, *M. fascifrons*, *M. Striifrons*, *Scleroracus flavopictus*, *Orosius albicinctus*, *Alebroides dravidamus* (Maramosrosch, 1998a). En Estados Unidos de América, se ha comprobado la importancia de dos especies

de chicharritas (*Circulifer tenellus* y *Ceratagallia* spp.), como vectores de fitoplasmas (Munyanza, 2005). En México, en los estados de Nuevo León y Coahuila, se detectó la presencia de fitoplasmas en chicharritas de los géneros *Empoasca* y *Aceratagallia* (Almeyda et al., 2004).

En todos los casos hasta ahora estudiados, los vectores de fitoplasmas requieren de un periodo de incubación (desde la adquisición hasta la transmisión). Este varía, dependiendo del fitoplasma, entre diez y 35 días. Varios estudios han demostrado que los fitoplasmas son propagativos en su vector y pueden inducir cambios positivos o detrimentales en ellos. Estos organismos pueden persistir en su vector hasta 88 días en algunos casos. Durante este tiempo los insectos pueden transmitir al fitoplasma (Salazar, 1995). *Empoasca fabae* consume en su alimentación al floema y parénquima (Hunter y Backus, 1989). Este tipo de alimentación resulta en una desorganización de empaquetamiento vascular, colapso de las fibras del floema, y alargamiento y proliferación del parénquima del floema y de las células del cambium. Los síntomas resultantes, llamadas hopperburn, están en ambos en floema y xilema bloqueando y acumulando fotosintatos en las hojas (Ecale y Backus 1995). Grandes incrementos en la respiración ocurren en plantas sujetas a la alimentación de la chicharritas, disminuyendo las reservas viables al crecimiento y desarrollo del tubérculo. También disminuye la eficiencia fotosintética de la planta, siendo este efecto irreversible. El transporte de agua es también interrumpida resultando en un marchitamiento. Las secreciones salivarías de la chicharra son ricas en amilasa e

invertasa que parecen ser toxicogénica a las células cribosas del floema (Radcliffe y Jhonson, 1994).

En trabajos iniciales, el agente causal de la PMP en los EUA (Leach, 1939) fue considerado por varios investigadores como el mismo que causa los amarillentos del aster (Kunkel, 1926; Leach, 1939; Youkin, 1943; Leach y Bishop, 1944; Self y Darling, 1953), el cual es transmitido por la chicharrita *Macrosteles quadrilineatus* Forbes (Hirumi y Maramorosch, 1968; Maramorosch *et al.*, 1968). En 1967 se reportó evidencia de una posible etiología de origen fitoplásmico (Doi *et al.*, 1967). Se han encontrado fitoplasmas (MLO'S) en el floema de plantas enfermas y en las glándulas salivales de los vectores infectivos (Maramorosch *et al.*, 1968). En México, en un estudio conjunto entre el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Cadena, 1974; Maramorosch, 1998) se observaron fitoplasmas al microscopio electrónico en ultracortes de tejido enfermo de plantas con síntomas de punta morada, procedentes de transmisión seriada por injerto, por lo cual se propuso que este tipo de patógenos pudiera ser el agente causal de esta enfermedad. Posteriormente se presentó evidencia adicional de la asociación de fitoplasmas con la PMP (Cárdenas *et al.*, 1992; Almeyda *et al.*, 1999; Martínez-Soriano *et al.*, 1999). Almeyda *et al.* (1999), encontraron que es posible la detección de fitoplasmas asociados con la PMP en etapas tempranas de la enfermedad, aún en plantas asintomáticas. A la fecha, esta enfermedad, generalmente es considerada de origen fitoplásmico, a pesar de que los postulados de Koch no han sido debidamente probados. En el área donde está

ubicado el Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX), se presentan todos los años incidencias altas de la PMP, situación que se ha utilizado para establecer estudios enfocados a su control (Cadena, 1974; 1987). En evaluaciones de materiales genéticos se encontraron algunos clones con cierta tolerancia al pardeamiento asociado con la enfermedad (Cadena, 1974; 1987; 1993; 1996; Cadena y Galindo, 1986). En evaluaciones de insecticidas, se encontró que el forato y aldicarb aplicados al momento de la siembra y el ometoato y otros insecticidas sistémicos en aplicaciones foliares, disminuyeron considerablemente la incidencia y severidad de la PMP (Cadena 1974; 1996). Posteriormente se encontró que con la aplicación de imidacloprid combinada con una alta densidad de siembra se redujo también la incidencia de la enfermedad (Cadena, 1999). ). El exceso en las aplicaciones de insecticidas ha ocasionado una considerable pérdida de la fauna benéfica, favoreciendo la adaptación e incremento de las poblaciones de insectos plaga, así como, el incremento potencial de la resistencia de estos hacia los pesticidas. Son precisamente las poblaciones de insectos pertenecientes al taxón Homóptera, que han desarrollado resistencia a plaguicidas (Sifuentes, 1997).

#### **II.4. Otros factores causantes de la punta morada**

Flores *et al.* (2004), señalan que, en prácticamente todas las investigaciones orientadas a la punta morada de la papa, asocian esta enfermedad con los fitoplasmas; así mismo, reitera la gran importancia de dicho agente en la manifestación de los síntomas; sin embargo, hace notar la participación de otros agentes en la etiología de la punta morada, si bien participan en menor grado, no

dejan de ser importantes. Al respecto, Guigon (1994) y Hernández (2001), reportaron trabajos en donde aislaron, purificaron é identificaron *Fusarium* sp. y *Verticillium* sp., efectuando con ellos los postulados de Koch en plantas libres de fitoplasmas, logrando la repetición de los síntomas de punta morada y reaislando a los hongos inoculados; demostrando así que estos hongos son capaces por sí solos de producir síntomas de punta morada en plantas de papa. Aunado a *Fusarium* sp. y *Verticillium* sp. La *Rhizoctonia* sp. También es causante de síntoma de punta morada (Notario, 2006). Un problema fitopatológico de considerable importancia de la papa en México que produce síntomas similares con los asociados a PMP en planta es el luteovirus PLRV (Potato leaf roll virus), el virus del enrollamiento de la hoja (Almeyda, et al. 1999; Hull, 2002;). PLRV causa un prominente enrollamiento hacia arriba de las hojas de la planta y las achaparra, produciendo un estiramiento de las mismas. Se puede presentar necrosis del floema de plantas y principalmente tubérculos, en los cuales produce brotes delgados y débiles (PROINPA, 1997). Este virus es transmitido a través de semillas-tubérculos infectadas y por más de 10 especies de áfidos de manera persistente, de los cuales *Myzus persicae* ha sido reportado en México como su principal vector (Hull, 2002., Sifuentes, 1997.). En Bolivia se describen los síntomas de Planta Morada, tales como coloración púrpura en el borde superior y punta de los folíolos superiores de la planta, enrollamiento en algunos folíolos, 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 *et al.*, 1998). Flores (2005), realizó un muestreo en la región papera de Coahuila y Nuevo León, reportando que de 150 muestras analizadas con síntomas de punta morada, 30.6% fueron positivas al virus del enrollamiento de la hoja. 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 amplificaciones generadas por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y análisis de Polimorfismos en la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP) de las secuencias amplificadas. Obteniendo que 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 (Jensen *et al.*, 2004).

Debido a que el síndrome de punta morada es causado por diferentes factores bióticos o abióticos, entre los primeros están los fitoplasmas (Maramorosch, 1998b), los virus (Salazar, 1995), hongos (Garza, 1999) y actualmente se reporta a Huanglongbing (HLB) *Candidatus Liberibacter americanus*, especie única que causa enfermedades en solanáceas tal como tomate y papa y es transmitida por el psílido *Bactericerca cockerelli* (Sulc) (Hansen *et al.*, 2008); y en los segundos, las deficiencias de nutrición (Rubio, 1998), alta temperatura y sequía (Davis, 1998). Por lo anterior, el síndrome de la punta morada de la papa, es considerado problema prioritario en México, no solo por las pérdidas sino también por lo

paradójico que resulta el uso excesivo de insecticidas que utilizan en la prevención y control de la enfermedad.

### **II.5. Mejoramiento genético de la papa.**

Uno de los objetivos importantes en mejoramiento de papa, además de altos rendimientos, es lograr la resistencia a enfermedades, plagas y factores abióticos, que en forma numerosa y severa afectan la producción por cantidad y calidad. Si se desea obtener la variedad ideal, es necesario recombinar más de 60 pares de genes, lo cual teórica e idealmente trabajando con herencia tetrasómica, resultarían cifras astronómicas e imposibles de obtener en la práctica (Estrada, 1999). Esta realidad está demostrada en la misma situación actual en la cual a nivel mundial en 200 años de mejoramiento ha sido difícil de obtener una variedad cercana a la ideal. En la práctica, ocurre también que de aproximadamente siete a ocho variedades que entrega un programa de mejoramiento, sólo una de ellas llega a tener un relativo éxito en su cultivo, aceptación y mercado para que pueda prevalecer por varios años (Estrada, 1983). Debemos pues, conformarnos con obtener los tipos que al menos resuelvan parcialmente algunos de los problemas más urgentes como calidad, producción, resistencia a tizón tardío, resistencia a los virus y fitoplasmas más importantes, a las bacterias más limitantes, a heladas o a altas temperaturas y que además posean precocidad. El enfoque de mejoramiento de poblaciones de papa para punta morada, es un ejemplo de resistencia múltiple a plagas y enfermedades. Mendoza (1989), realizó un análisis de los factores limitantes del rendimiento que se presentan más frecuentemente y sus efectos en el comportamiento de las variedades de papa más importantes. Señalando que los



altos rendimientos son obtenidos solamente cuando se aplican insumos muy costosos: semilla de alta calidad de variedades seleccionadas, altas dosis de fertilizantes, uso constante de pesticidas y tecnología avanzada en la agricultura. En relación a los países en desarrollo, esto explica parte de los altos rendimientos obtenidos en Europa y Norte América, que además, presentan las condiciones climáticas más favorables al cultivo. La otra parte, es explicada por la vulnerabilidad de las variedades cultivadas bajo condiciones ecológicas de estreses bióticos y abióticos para las cuales nunca fueron generadas.

#### **II.6. Mejoramiento por resistencia a condiciones adversas de la papa.**

La papa, por su enorme aporte de especies y variedades primitivas nativas, tiene un potencial único de mejoramiento. Las especies silvestres y cultivadas de papa que se extienden de Estados Unidos de América hasta el extremo sur de Chile representan un recurso genético único en el mundo para mejorar la papa cultivada. Estas especies crecen desde los desiertos hasta las selvas húmedas, desde los campos cultivados, en forma de malezas, hasta los lugares montañosos, áridos y escarpados. Uno de los objetivos importantes en mejoramiento de papa es lograr la resistencia a enfermedades, plagas y factores abióticos, que en forma numerosa y severa afectan la producción y calidad (Estrada, 1983). Esta diversidad ha sido utilizada por Institutos, Universidades y Fitomejoradores para la obtención de germoplasma resistentes a enfermedades y plagas. Por ejemplo en el Instituto Max Planck de Alemania se seleccionó un buen número de clones y algunos cultivares con resistencia al tizón tardío y virus. Cerca de 83% de los cultivares alemanes de hoy tienen genes de *S. demissum* y 26% tienen genes de

otras especies silvestres (Ross, 1986). Esto indica claramente la importancia de las especies silvestres en el mejoramiento del cultivo. *Solanum acaule* puede ser considerada una especie silvestre de papa única en importancia por los diferentes tipos de resistencia a estreses bióticos y abióticos; en su “pool” de genes, se ha encontrado resistencia a los virus X, Y, PLRV y al viroide PSTV, *Pseudomonas solanacearum*, *Phytophthora infestans*, y otros patógenos, y la mayoría de los genotipos son altamente resistentes a heladas. Esta larga lista de características de gran utilidad en una especie merece, sin duda alguna, más investigación en cuanto al uso potencial de la misma en el mejoramiento (CIP, 1988).

Dada la vulnerabilidad de la papa a estreses, una estrategia de mejoramiento genético orientada a seleccionar cultivares sustentables puede incluir resistencia durable (cuando es posible) o tolerancia como mayor componente. En el mejoramiento genético es básico el conocimiento de la variabilidad genética, y la heredabilidad de los más importantes atributos de la papa. Esta información es necesaria para seleccionar la estrategia más efectiva de mejoramiento a usar con nuestras fuentes genéticas, y a determinar el más eficiente método para combinar varios caracteres. La heredabilidad ( $h^2$ ) para producción varía de 0 a 0.65, siendo el rango más común de 0.1 a 0.25; para dos componentes del rendimiento (número y peso de tubérculos) la heredabilidad fue entre 0.5 a 0.7;  $h^2$  para iniciación de tuberización, componente de precocidad, fue del 0.65; en contenido de materia seca de 0.5 y 0.10  $h^2$  para contenido de azúcares reductores (Mendoza, 1980). En lo referente a resistencia a virus X y Y son monogénicos dominantes, y altamente heredables. La resistencia a virus del enrollamiento

PLRV es controlada poligénicamente con una baja heredabilidad estimada ( $h^2=0.24$ ), (Mendoza, 1980). El mismo autor comenta que la resistencia al PLRV tiene varios componentes: resistencia a la infección, multiplicación, translocación, hipersensitividad, antibiosis y antixenosis a áfidos o sin preferencia. Ninguna inmunidad se ha encontrado en especies cultivadas y especies silvestres.

Existen variedades (NIVAP, 2007) y especies silvestres resistentes a los virus PVY y PLRV y a estreses abióticos (Salazar, 1995). Sin embargo, para los fitoplasmas causantes de la PMP, no existe reporte de especies o cultivares que posean resistencia (Maramorosch, 1998a), siendo enfocado al control de vectores mediante insecticidas, hasta la actualidad (Weintraub y Beanland, 2005).

## **II.7. Mecanismos de resistencia**

Salazar (1995), menciona que existen plantas de algunos genotipos que impiden la actividad normal de los vectores en ella (resistencia al vector). Un mecanismo de defensa de las plantas es de tipo físico, por el cual la pubescencia glandular en el follaje impide la infestación de las plantas, al atrapar físicamente e inmovilizar a insectos que se alimentan de él. Otro mecanismo es la antibiosis, incluye todos los efectos adversos en la planta que alteran la biología del vector, incluyendo cualquier factor que reduce la tasa de crecimiento y multiplicación del insecto y el número de ninfas producidas. La antixenosis o no preferencia, es la acción repelente de la planta hacia el insecto. Esta puede resultar de toxinas o compuestos volátiles, liberados por la planta. Flanders *et al.*, (1993), evaluaron 100 especies de papa de diferente origen geográfico, por resistencia a uno o más

cinco insectos plagas, reportando que las especies de México y América Central presentaron mayor resistencia a los áfidos que las especies de Argentina y Chile. Además que la densidad de vellosidad fue asociada con resistencia al afido verde del durazno, escarabajo y chicharrita. El glicoalcaloide tomatina fue asociado con resistencia de campo al escarabajo Colorado de la papa y a la chicharra. Maramorosch y Raychaudhary (1998), reportan que en una evaluación inicial fueron seleccionados variedades e híbridos de papa, que se pensaron eran tolerantes o resistentes para esta enfermedad. Sin embargo, en los siguientes tres ciclos de evaluación, bajo alto potencial de inóculo, reveló que ellos habían escapado a la infección. Cadena (1993), reporta que en muestreo realizado en lotes de papa, en el estado de México, la variedad Alpha fue la única que no presento pardeamiento de tubérculo. En otro diagnóstico, además de la variedad Alpha, también se identificaron a la variedad Gigant y al clon NAU-6. Estos resultados fueron de siete años de evaluación en diferentes localidades (Cadena *et al.*, 2003).

Las variedades resistentes pueden proveer una eficiente aproximación al control de enfermedades fitoplásmicas, sin embargo sólo variaciones de susceptibilidad han sido reportadas, pero muy pocos ejemplos han sido documentados.

Por lo anterior, el enfoque del mejoramiento múltiple de papa para el síndrome de la punta morada, es un ejemplo de resistencia múltiple a plagas y enfermedades, así como a condiciones abióticas. Mendoza y Rowe (1977), expresan el rendimiento final de un clon y su estabilidad de comportamiento con la función:  $X = f(A + Y + R)$ , donde A, Y y R representan el efecto de un grupo de genes para

adaptación, rendimiento per sé y resistencia a enfermedades, respectivamente. Mendoza (1997), reporta que en el Centro Internacional de la Papa (CIP), la aplicación de selección fenotípica recurrente para mejorar por resistencia múltiple, ha dado excelentes resultados. Los resultados preliminares, indican que el rápido progreso se ha suscitado a pesar de la herencia polisómica del cultivo. La selección recurrente (Chávez y López, 1990), es la selección sistemática de los individuos deseables de una población, seguida por una recombinación, para formar una nueva población. Las poblaciones de una amplia base genética, están sujetas a selección recurrente fenotípica combinada. Los genotipos sobrevivientes, son probados bajo condiciones de campo para reconfirmar su resistencia, así como su rendimiento y adaptación. Esta metodología cumple tres puntos básicos:

- 1) La preservación de una amplia diversidad genética;
- 2) El aumento de las frecuencias de genes deseables;
- 3) El estímulo de la recombinación de atributos deseables.

En general, la acumulación de caracteres controlados por muchos genes, está usualmente bajo influencia intensa de las condiciones ambientales, es más lenta que para los caracteres controlados por uno o pocos genes que usualmente no son afectados por el medio ambiente (Mendoza, 1997). Debido a que los atributos tanto cuantitativos como cualitativos son importantes en papa, los procedimientos de selección y prueba se deben aplicar tomando esto en consideración. Con el objeto de seleccionar material parental de buen comportamiento, con estabilidad y que pueda transmitir estos a su progenie, las pruebas para el potencial de rendimiento, deben efectuarse durante años y en diferentes localidades.

## **II.8. Interacción genotipo x ambiente en la evaluación de germoplasma.**

En los programas de mejoramiento genético de cultivos, es importante la evaluación de germoplasma en etapas intermedias y avanzadas, en diferentes ambientes de producción con el objeto de conocer su comportamiento. La respuesta diferencial de los genotipos a las condiciones ambientales produce la interacción genotipo x ambiente (IGA), que limita la precisión en la estimación del rendimiento y dificulta la identificación de genotipos aptos para ambientes específicos (Crossa *et al.*, 1990). Con respecto a esto último, Coutiño y Vidal (2003) indican que con metodologías apropiadas de estadística y mejoramiento, es posible entender las causas de la IGA. Por su parte Yan *et al.* (2000), reportan una eficiente técnica basada en modelos multiplicativos para explorar e interpretar los patrones de respuesta genética, ambiental y de la IGA de los ensayos evaluados en varios ambientes. La IGA es una característica que se evalúa en los genotipos sobresalientes, con el propósito de seleccionar aquellos con una menor interacción en la región de interés, y cuya respuesta en rendimiento se incremente conforme mejoran las condiciones del cultivo. En la medida en que se puedan desarrollar clones con escasa interacción con el ambiente o de reacción gradual y favorable en cuanto a rendimiento, en respuesta a la mejora de las condiciones del ambiente, se habrá obtenido el clon apropiado para la producción (Wissar y Ortiz, 1987). Para el análisis de la IGA se han desarrollado diversos métodos que permiten caracterizar los genotipos con base en su estabilidad o baja interacción; en México, según Cruz (1992), el método de Eberhart y Russell (1966), conocido como el método de los parámetros de estabilidad, es uno de los procedimientos más utilizados por los fitomejoradores. Recientemente, el avance en el área de la

computación ha permitido el uso de metodologías más expeditas, como es el “Análisis de los efectos principales aditivos y las interacciones multiplicativas”, denominado AMMI por sus siglas en inglés (Additive Main Effects and Multiplicative Interaction), propuesto por Zobel *et al.*, (1988), el cual consiste básicamente en la combinación de dos técnicas de análisis de datos: el análisis de componentes principales (ACP) y el análisis de varianza (ANVA). El AMMI consiste en realizar un ANVA de la manera usual y obtener las medias de variedades, de ambientes y la general del experimento, después la IGA (residual no aditivo del modelo del ANVA) se ajusta a un modelo multiplicativo del ACP, cuya finalidad es reducir la dimensionalidad de los datos, de tal manera que se manejen sólo dos o tres ejes para representarlos. El método AMMI ha sido usado por diversos investigadores (Crossa *et al.*, 1990; Ebdon *et al.*, 1998), debido a su gran facilidad de manejo y a la interpretación gráfica de los datos; además, normalmente explica mayor cantidad de la variación con dos o tres componentes principales que aquella que explica el ANVA en su fuente de variación correspondiente; debido a esto, se le considera un mejor modelo que aquel planteado por Eberhart y Russell (1966).

## **II.9. Inducción de resistencia a condiciones adversas.**

Tanto los cultivos como las plantas silvestres son altamente sensibles a numerosos factores ambientales que varían en intensidad, a menudo dentro de períodos de tiempo muy reducidos (Trewavas, 2000), que les provocan algunas circunstancias de estrés y que requieren una rápida percepción y respuesta a

estos estímulos externos (Jia *et al.*, 2001). Las plantas se adaptan a los cambios, en los factores bióticos y abióticos de un ambiente del que no pueden evadirse, mediante alteraciones fisiológicas, morfológicas y de desarrollo que son inducidas por la transmisión de señales ambientales que desencadenan respuestas intracelulares. Las plantas pueden activar un arsenal muy efectivo de respuestas inducidas en defensa, comprendidas en un suicidio contenido y programado genéticamente de células infectadas (respuesta hipersensitiva, HR), al igual que el refuerzo del tejido y producción antibiótica en el lugar de la infección. Estas respuestas locales pueden en turno, soltar una respuesta sistémica de larga duración (resistencia sistémica adquirida, SAR), que prepara a la planta para resistencia contra un amplio espectro de patógenos (Vallad y Goodman, 2004). Aunque aún queda un largo camino por recorrer, antes de que comprendamos totalmente la complejidad de las múltiples respuestas de las plantas en su interacción con otros organismos, patógenos o no, en la actualidad empieza a haber bastante información de las vías de respuesta, derivada de estudios a nivel celular y molecular. La resistencia de las plantas al ataque de plagas incluye un conjunto de muy diversos mecanismos inducidos por los organismos que interaccionan con ellas (patógenos, herbívoros parásitos, simbiotes, etc.) o dicho con más propiedad, por determinadas moléculas de el patógeno o la propia planta (“elicitors”) que, interaccionando con “receptores”, afectan finalmente el metabolismo primario (poniendo en marcha procesos como el choque oxidativo o la muerte celular programada) y/o el secundario, dando lugar a la síntesis de una amplia y variada gama de sustancias químicas, según el tipo de planta y la naturaleza del ataque (Álvarez y Espinosa, 2003). Las plantas reaccionan a un



amplio abanico de estreses ambientales abióticos (alta y baja temperatura, sequía, salinidad, ozono, etc.) y bióticos (infecciones por patógenos y no patógenos y heridas) activando la producción de especies activas de oxígeno (*EAOs*) tanto en el apoplasto como en diferentes compartimentos celulares (cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas), en un fenómeno conocido como “choque o estallido oxidativo”. Las *EAOs* también se producen en condiciones normales ligadas a los procesos de oxidación que ocurren en todo ser vivo, pero en mucha menor cantidad que bajo condiciones estresantes. Las *EAOs* más importantes son: los radicales libres de  $O_2$  (superóxido) y más raramente también  $HO_2$  (hidroperóxido) y  $OH$  (hidroxilo) dependiendo las condiciones de la reacción, junto con el  $H_2O_2$  (peróxido de hidrógeno o agua oxigenada) (Elstner y Oswald, 1994; Bolwell y Wojtaszek, 1997). Las enzimas más involucradas son el superóxido dismutasa (SODs), catalasas, peroxidasas y glutathione S-transferasas (Gullner *et al.*, 1995). Las peroxidasas catalizan la oxidación de varios compuestos orgánicos é inorgánicos y tiene una función importante dentro de la planta. Ellas participan en la planta en el crecimiento, en procesos de diferenciación y desarrollo, incluyendo en el catabolismo de las auxinas, biosíntesis del etileno, en el sistema de reducción-oxidación de la membrana plasmática y en la generación de peróxido ( $H_2O_2$ ), construcción de la pared celular, lignificación y suberización, como respuesta a los patógenos (Gaspar *et al.*, 1982; Alba, *et al.*, 2000) y en el catabolismo del ácido índole-3-acético (Elstner y Osswald, 1994). En general, las peroxidasas son enzimas que incrementan su actividad ante el estrés oxidativo, principalmente para contrarrestar el daño originado por *EAOs* (Jebara *et al.*, 2005). Actualmente es de interés el rol de las peroxidasas en los procesos de

señalización, mediado por el  $H_2O_2$  como la respuesta a estreses bióticos y abióticos en las plantas.

Algunas propiedades defensivas del  $H_2O_2$  formado en el apoplasto son que, en altas concentraciones son tóxicos para los microorganismos patógenos, así que su acumulación constituye una efectiva primera barrera a la infección, a concentraciones moderadas según el tipo de pared celular; oxidan y combinan compuestos fenólicos (dando lugar a redes de lignina y suberina) o bien los aminoácidos fenólicos de las glicoproteínas estructurales (provocando el entrecruzamiento de las mismas con la red de polisacáridos de la pared). En uno y otro caso, la pared celular queda considerablemente reforzada, lo que impide la penetración y la degradación de la misma por el patógeno (Álvarez y Espinosa, 2003). En reacciones incompatibles de las plantas a los virus, la generación de EAOs puede jugar un papel importante en su resistencia (Riedle-Bauer, 2000). En células infectadas, una rápida acumulación de  $H_2O_2$  puede ser observada (Mehdy, 1994).  $H_2O_2$  es reportado que actúa como señal para localizar células muertas y por inducción de genes de defensa en las células adyacentes (Levine *et al.*, 1994).

La inducción de tolerancia al ataque de plagas y enfermedades en las plantas mediante el empleo de señales, es un campo poco explorado. La manipulación de señales y antioxidantes para inducir tolerancia al síndrome de “punta morada”, permitiría reducir en parte el empleo de agroquímicos, ayudando a reducir costos é impacto al medio ambiente, al utilizar compuestos ecológicamente inocuos, y/o manipulando su regulación natural interna en plantas; adicionalmente, ayudaría a la rentabilidad y manejo integrado del cultivo, contribuyendo al conocimiento de los

agentes oxidantes, en el control de dicho síndrome. Estrés bióticos y abióticos están asociados con la producción de especies oxidantes activos (AOS) y con daño oxidativo. Se sabe que el daño oxidativo es minimizado por la acción de enzimas antioxidantes y compuestos no enzimáticos como el ácido ascórbico (Bowler *et al.*, 1992; Foyer *et al.*, 1994; Allen, 1995). Por lo que el hecho de que una alta capacidad antioxidativa confiera alta tolerancia a un rango de estrés medioambientales, es importante para programas de mejoramiento de protección en plantas. La acumulación de peróxido de hidrógeno ocurre en estrés bióticos y abióticos, y se ha sugerido que tiene un papel central como una señal difusible para la inducción de genes de defensa (Levine *et al.*, 1994; Foyer *et al.*, 1997). Actualmente existe un aumento en las evidencias que indican, que  $H_2O_2$  es una señal en la mayoría de los factores de estrés bióticos y abióticos. Recientemente se obtuvo inducción de resistencia a choque de calor (42 ° C) por  $H_2O_2$  en plantas de papa *in vitro*. Las plantas fueron resistentes al calor aún 6 semanas después de haber sido tratadas por solo una hora con  $H_2O_2$  (López *et al.*, 1998; Foyer *et al.*, 1997). Se ha propuesto que  $H_2O_2$  puede funcionar como señal selectiva para la inducción de una batería de genes de defensa (Levine *et al.*, 1994; Summermatter *et al.*, 1995; Tenhaken *et al.*, 1995). Por otro lado, la expresión de una enzima generadora de  $H_2O_2$  en plantas transgénicas de papa, indujo resistencia a *Phytophthora infestans* y *Erwinia carotovora* (Wu *et al.*, 1995).

## **II.10. Importancia de la caracterización molecular**

Hoy en día los biólogos evolutivos usan tanto datos morfológicos como moleculares para establecer hipótesis de relaciones filogenéticas entre

organismos, para estimar la variación dentro de las poblaciones y para probar hipótesis de adaptaciones ecológicas. Sin embargo, es común observar incongruencias entre los análisis basados en datos morfológicos y los basados en datos moleculares (Hillis y Vives, 2000), lo que ha originado polémicas respecto a qué tipo de datos pueden proveer de información adecuada para sustentar y probar hipótesis evolutivas. El principal argumento en favor de la utilización de caracteres moleculares es que son universales. En muchos casos, principalmente cuando se requiere comparar linajes con divergencia temprana, es imposible establecer hipótesis de homología morfológica; en cambio, existen genes presentes en todos los genomas celulares -como los ribosomales-, que pueden proveer de información para reconstrucciones filogenéticas, donde los caracteres morfológicos son inaplicables (Avice, 1994). Además, estudios teóricos y empíricos han mostrado que en la reconstrucción de filogenias es crucial contar con numerosos caracteres informativos (Hillis *et al.*, 1996) y los estudios típicos de secuencias nucleotídicas implican varios cientos o miles de caracteres en contraste con los estudios morfológicos, en los que un análisis incluye raramente más de cien caracteres (Sanderson y Donoghue, 1989). Los datos moleculares también tienen la ventaja de trabajar directamente con la base genética de la variación, mientras que la base genética de la mayoría de los caracteres morfológicos se asume. Asimismo, en el acercamiento molecular, los caracteres se pueden seleccionar y definir de una manera relativamente objetiva (Hillis y Wiens, 2000). Los marcadores moleculares se usan principalmente para detectar la variabilidad genética y cambios en el genoma, o para determinar la estructura de poblaciones en animales, plantas y microorganismos. Los marcadores

moleculares son precisos, siendo ellos la mayoría codominantes. Los marcadores proteínicos, se conocen como isoenzimas para indicar las formas moleculares múltiples de una enzima, compartiendo una misma actividad catalítica, y son específicas de tejido, estado de desarrollo y especie (Michelmore y Hulbert, 1987). El polimorfismo basado en proteínas ha sido de gran utilidad en las investigaciones realizadas en plantas, pero con el desarrollo de las tecnologías basadas en ADN, la investigación en esta área se ha visto favorecida con la disponibilidad de una mayor cantidad de marcadores, aquellos basados en Fragmentos de Restricción Polimórficos (RFLP) y en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Ambas técnicas han derivado en múltiples técnicas como son la Amplificación de ADN al Azar (RAPD), Fragmentos Polimórficos de ADN Amplificados (AFLP), minisatélites (VNTR) y microsatélites (SSR), entre otros (Martínez y Martínez, 1999).

En la actualidad se ha generado un gran número de marcadores moleculares entre los que destacan los basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que permiten amplificar secuencias específicas o al azar del ADN y requieren de pequeñas cantidades iniciales del mismo. Entre estos marcadores están los denominados polimorfismos del ADN amplificados al azar (RAPD = por sus siglas en inglés “random amplified polymorphic DNA”) y los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR = por sus siglas en inglés, “simple sequence repeats”). El método RAPD's es un sistema de marcadores que utiliza oligonucleótidos cortos, de secuencias arbitrarias y de baja astringencia, que permiten amplificar fragmentos discretos de ADN mediante la técnica de PCR (Kim

*et al* 1998). Los análisis RAPD's son rápidos, económicos y fáciles de realizar; han sido extensamente utilizados para diversos estudios genéticos como el análisis de variación genética de bacterias, hongos y plantas (Bidochka *et al.*, 1994, Wang *et al.*, 1993), y en la construcción de los primeros mapas de ligamiento para ciertas especies de plantas (Lodhi *et al.*, 1995; Yang y Quiros, 1995) lo que los convierte en una herramienta útil en programas de mejoramiento genético de plantas y animales. Además, han sido utilizados para determinar la variación intra e interespecífica en híbridos somáticos de papa y huella genética (Baird *et al.*, 1992 y Carrasco *et al.*, 1998). Los SSR's o microsatélites también han sido utilizados para establecer las relaciones genéticas entre cultivares de papa (Kawchuk *et al.*, 1996; Milbourne *et al.*, 1997; Provan *et al.*, 1996) y otras especies como soya y cebada (Akkaya *et al.*, 1992). Estos marcadores son secuencias repetidas en tándem de 5 a 50 nucleótidos cuyo número de repeticiones revela las diferencias genéticas entre individuos (Valdez y Khal, 2000). El ADN conteniendo tales secuencias pueden ser amplificadas mediante PCR con iniciadores que flanquean las secuencias repetidas y que pueden ser fácilmente visualizados mediante geles de electroforesis. En programas nacionales de papa se han realizado la caracterización molecular de su germoplasma con el objeto de conocer su identidad y el grado de diversidad genética con la que cuentan (Hosaka *et al.*, 1994; Herrera *et al.*, 2008).

El conocimiento de las relaciones comunes y características de individuos puede ayudar a los mejoradores y genetistas a la identificación de juegos o grupos de individuos que tengan utilidad potencial para propuestas de mejoramiento o

genética específicas. Aunque algunos de los métodos de agrupación han sido utilizados desde hace cientos de años, la mayoría de la literatura del Análisis de Agrupamiento "Cluster" ha sido escrita durante las pasadas tres décadas y es el nombre que reciben una gran cantidad de procedimientos que pueden utilizarse para clasificar o agrupar objetos o individuos. Uno de los principales objetivos del Análisis Cluster es agrupar los  $n$  individuos de la muestra en cúmulos (grupos) en base a  $k$  variables medidas, pero también puede utilizarse para identificar grupos entre estas variables (Gutiérrez, 1994). El Análisis de Cluster ha sido sugerido para clasificar entradas de colecciones de germoplasma basadas en el grado de similitud y disimilitud (Peeters y Martinelli, 1989).

### **III. MATERIALES Y METODOS.**

Con el fin de cumplir los objetivos, se llevaron a cabo diversas actividades: durante los ciclos 2006, 2007, 2008 y 2009.

#### **III.1. Evaluación de germoplasma de papa contra el síndrome de la punta morada bajo condiciones de campo sin aplicación de insecticidas.**

La introducción de germoplasma, es una metodología por la cual se puede obtener una variedad a partir de genotipos introducidos o se pueden seleccionar aquellos con características deseables con el objeto de ser utilizados en programas de hibridaciones y conformar una variedad que reúna las características deseables. Por lo anterior, se establecieron, en el Campo Experimental Saltillo del INIFAP, ubicado en el Ejido Emiliano Zapata, municipio de Arteaga, Coah., 214 genotipos bajo condiciones de riego. La fecha de siembra fue el 17 de mayo, en el ciclo primavera-verano 2006. El germoplasma introducido provino: del Programa Nacional de Papa de México (INIFAP); variedades del Programa Nacional de Cuba (Cubanita e Ibis); Estados Unidos de Norteamérica (FL-1867, Russet Burbank, Early Valley y Atlantic) y Holanda (Gigant, Vivaldi, Felsina, Granola, Escort, Platina, Liseta y Alpha). La semilla utilizada fue mini-tubérculos



(provenientes de invernadero) libre de patógeno. Estableciendo un tubérculo por genotipo a una distancia de 0.20 entre planta y 0.92 m entre surcos. Se monitorearon semanalmente, a través del ciclo, los vectores paratíozoa, pulgones y chicharritas, mediante trampas amarillas. El manejo fue de acuerdo a las recomendaciones del Campo Experimental Saltillo (Parga *et al.*, 2005), no realizando aplicaciones de insecticidas de emergencia a desvare y las aplicaciones de fungicidas, se realizaron a través del ciclo para el control del tizón tardío.

Los parámetros evaluados fueron:

- Altura de planta (AP) al desvare o muerte de la misma en centímetros, desde la superficie del suelo hasta el ápice.
- La Cobertura (COB); se contabilizó como el diámetro de la planta en centímetros a los 80 días después de emergencia, ó a la muerte de planta.
- Días a Inicio de síntomas (DIS); consideró los días desde la emergencia a la aparición de los primeros síntomas (decoloración o enrollamiento de las hojas).
- Días a muerte de planta (DMP); días transcurridos desde la emergencia a muerte de la planta.
- Inicio de síntomas a muerte de planta (ISM); días transcurridos al observar los primeros síntomas, a la muerte de la planta.
- Producción total por planta (PT) expresada en g/planta.

- Número de tubérculos por planta (NT) y manchado interno del tubérculo (MIT); para estas variables se contabilizó el número de tubérculos por planta, de los cuales algunos fueron partidos a la mitad para evaluar la presencia del manchado o pardeamiento interno y se expresó en porciento.
- Brotación (B); Se almacenaron por seis meses los tubérculos sobrantes con el objeto de evaluar brotación normal (BN), de hilo (BH) y sin brotes (SB) (Cadena-Hinojosa *et al.*, 2003).

Adicionalmente, se colectó una muestra aleatoria a la cosecha de un tubérculo de 35 clones que llegaron a producción del lote de evaluación, para determinar la incidencia de fitoplasmas, virus y bacterias y se enviaron para su análisis al Laboratorio de Diagnóstico Fitopatológico del Campo Experimental Valle de Culiacán del INIFAP. Para la detección de fitoplasmas y bacteria (*Xilella fastidiosa*) se usó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Martínez-Soriano *et al.*, 1999). Debido a que es un método de alta sensibilidad en la detección y diagnóstico de enfermedades de fitoplasma (Harrison, 2005). Para detectar a los virus PLRV, PVY y su variante necrótico PVY<sup>n</sup>, la técnica de ELISA (Enzyme-Linked Inmunosorbent Assay) fué usada (Salazar, 1995).

### **III.2. Caracterización, por actividad de la peroxidasa (POX) de genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada y su relación con las características de campo.**

Las plantas reaccionan a un amplio abanico de estreses ambientales abióticos (alta y baja temperatura, sequía, salinidad ozono, etc.) y bióticos (infecciones por

patógenos y no patógenos y heridas) activando la producción de especies activas de oxígeno (EAOs). (Eltner y Oswald, 1994; Bolwell y Wojtaszek, 1997).

Dado la importancia de la actividad de la peroxidasa (POX) en la tolerancia a estreses, se caracterizaron por POX los genotipos tolerantes al síndrome de la punta morada, utilizando plantas *in vitro* libres de virus, obtenidas del Banco de Germoplasma *in vitro* del Laboratorio de Biotecnología del Programa Nacional de Papa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Metepec, Estado de México, México. El experimento se inicio a partir de esquejes con una yema axilar con hoja de los 10 genotipos seleccionados en el ciclo 2006 (Cuadro 3.1). Estos esquejes fueron cultivados a los 28 días en medio MS (Murashige y Skoog, 1962). Se tomaron muestras de plantas a los 28 días de cultivo *in vitro*, se cuantificó la actividad enzimática POX. Todas las cuantificaciones se realizaron tres veces. La cuantificación de la actividad enzimática de la peroxidasa por espectrofotometría se realizó de acuerdo con el método descrito por Srivastava y Dwivedi, (1998). La extracción de proteína se realizó de la manera descrita para catalasa (Anderson *et al.*, 1995).

Mezcla de reacción. La actividad enzimática de la peroxidasa se midió en la mezcla de reacción con amortiguador de fosfato de sodio 50 mM pH 7.0, 3.33 mM de guaiacol, 4 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 0.020 mL de la muestra en un volumen final de 3 mL. La reacción se inicio con la adición de la muestra a 25-28°C. El blanco consistió en el amortiguador de reacción sin extracto de proteína. La oxidación del sustrato (guaiacol) se midió por el incremento en la absorbancia a 470 nm durante 3

minutos en intervalos de 30 segundos. Para determinar la actividad de la peroxidasa se usó el coeficiente de extinción del guaiacol  $\epsilon = 2.6 \text{ mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ .

Cuadro 3.1 Germoplasma de papa utilizado, genealogía y origen.

Genotipo	Progenitores	Origen
1.- Gigant	Elvira x AM 66-42	Holanda
2.- Alpha	Paul Kruger x Preferent	Holanda
3.- Atlantic	Waeson x B5141-6	USA
4.- Norteña	Atzimba x 55-22-3	México
5.- Bayonera	Ileri x USA-4	México
6.- Nieder	Murca x Nook Sack	México
7.- 94-02-01	CFE 69-1 x San José	México
8.- 98-14-01	Tollocan x Chata Roja	México
9.- 96-01-01	AEX-69-1 x Amarilla de Puebla	México
10.- 91-29-10	Alpha x Nebraska	México

### III.3. Estabilidad de características agronómicas de genotipos seleccionados por tolerancia al Síndrome de La Punta Morada en diferentes localidades.

En los programas de mejoramiento genético de cultivos, es importante la evaluación de germoplasma en etapas intermedias y avanzadas, a través de diferentes ambientes de producción con el objeto de conocer su comportamiento. La Interacción Genotipo Ambiente, es una característica que se evalúa en los genotipos sobresalientes con el propósito de seleccionar aquellos con una menor interacción en la región de interés, y cuya respuesta en sus características deseables se incrementen conforme mejoran las condiciones del cultivo.

Se evaluaron nueve genotipos, entre ellos, tres variedades del Programa de Papa del Campo Experimental Saltillo; tres clones avanzados del Campo Experimental Valle de Toluca, ambos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP); y dos variedades comerciales introducidas, de Holanda y una de Estados Unidos de Norteamérica, variedades ampliamente utilizadas en las regiones productoras de papa en el país (Cuadro 3.2). Los genotipos evaluados fueron de los seleccionados por su tolerancia al síndrome de la punta morada al presentar producción y algunos de ellos sin manchado del tubérculo en el ciclo 2006. Cabe aclarar, que inicialmente se tenían más genotipos seleccionados sin embargo no fue posible incluirlos, debido a que estaban en etapa temprana de evaluación o no se tenía tubérculo-semilla con sanidad.

Cuadro 3.2 Germoplasma de papa evaluado en seis ambientes de producción de papa en México y grado de tolerancia al tizón tardío.

Genotipo	Progenitores	Origen	Tizón tardío
1.- Gigant	Elvira x AM 66-42	Holanda	Susceptible
2.- Alpha	Paul Kruger x Preferent	Holanda	Susceptible
3.- Atlántic	Waeson x B5141-6	USA	Altamente susceptible
4.- Norteña	Atzimba x 55-22-3	México	Resistente
5.- Bayonera	Ileri x USA-4	México	Tolerante
6.- Nieder	Murca x Nook Sack	México	Tolerante
7.- 94-02-01	CFE 69-1 x San José	México	Resistente
8.- 98-14-01	Tollocan x Chata Roja	México	Resistente
9.- 96-01-01	AEX-69-1 x Amarilla de Puebla	México	Resistente

Estos genotipos se establecieron en seis localidades productoras de papa de los estados de Coahuila y Nuevo León, en el Noreste y se sembraron en el ciclo primavera-verano 2007. En Mochis, Sin. y Huatabampo, Son. para el Noroeste, estableciéndose en otoño-invierno 2007-2008. En el cuadro 3.3, se presentan características distintivas para cada ambiente de evaluación. La parcela experimental constó de un surco de 5.0 m de largo, espaciados a 0.92 m, con una distancia entre plantas de 0.3 m; la parcela útil la integró el mismo surco de 3.0 m, eliminando un metro en cada extremo para estimar el rendimiento total y comercial ( $t\ ha^{-1}$ ). Adicionalmente se midieron las siguientes variables: altura de planta (cm) (cinco plantas /parcela), número de tallos por planta (cinco plantas /parcela), días de emergencia a floración (>50% de la población) y como parámetros de calidad industrial se consideraron el contenido de sólidos (%) y el color de la hojuela (fritura). Estos parámetros de calidad fueron realizados tomando una muestra de las tres repeticiones y siguiendo los siguientes procedimientos:

Porcentaje de sólidos. Se tomó y lavó una muestra de 3.629 kg de tubérculos medianos (50-60 mm de diámetro) por genotipo, posterior a la evaluación de la cosecha. Se utilizó el método del hidrómetro (Gould y Plimpton, 1985). El contenido de sólidos es una medida de la gravedad específica o materia seca de la papa y su importancia radica en que influye en la eficiencia del procesamiento, la absorción de aceite y la cantidad final del producto, variable donde 14% es el valor mínimo aceptado por la industria.

Color de hojuela. De los tubérculos evaluados para sólidos se tomó una muestra de 20, los cuales fueron partidos a la mitad y del centro se tomaba una rodaja y se

freían en freidor eléctrico a una temperatura de 180°C. EL aceite utilizado fue de girasol. A las hojuelas, se les evaluó la decoloración o quemado de hojuela, transformándolos en porcentajes.

Cuadro 3.3 Características de los ambientes de evaluación.

Localidad	Condiciones	Coordenadas	Altitud (msnm)	Clima (García, 1988) Bwh
L1. Dr. Arroyo, Galeana, N. L.	Riego. Con aplicaciones de insecticidas desde emergencia.	23° 41' N y 100°11' O	1756	Semiseco, templado, muy extremo, lluvias todo el año.
L2. Huatabampo, Son.	Riego. Con aplicaciones de insecticidas semanal.	26° 54' N y 109° 57' O	10	Muy seco, cálido, lluvias en verano.
L3. Mochis, Sin.	Riego. Con aplicaciones de insecticidas semanal.	25°47' N y 109° 0' O	10	Seco, semicálido, lluvias en verano.
L4. Navidad, Galeana, N. L.	Riego. Con aplicaciones de insecticidas a los 15 días y cada tres días, después de emergencia.	25° 04' N y 100° 36' O	1895	Semiseco, templado, muy extremo, con precipitaciones escasas y erráticas todo el año
L5. E. Zapata, Arteaga, Coah.	Riego. Sin aplicaciones de insecticidas.	25°14' N y 100° 35' O	2000	Templado subhúmedo con precipitaciones escasas y erráticas todo el año.
L6. Lirios, Arteaga, Coah.	Temporal. Con aplicación semanal de insecticidas.	25°23' N y 100°28' O	2800	Templado subhúmedo con precipitaciones escasas y erráticas todo el año.

Además se evaluó el número de plantas con síntomas del Síndrome de Punta Morada y de una muestra de 20 tubérculos aleatoriamente de las tres repeticiones

se evaluó el manchado o pardeamiento de los mismos, convirtiéndolos en porcentaje en relación al total.

#### **III.4. Caracterización molecular de 10 genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada.**

La identificación genética de genotipos sobresalientes y sus relaciones entre ellos, son esenciales para el mantenimiento de germoplasma y la obtención de nuevos cultivares, que sean una alternativa en la solución de los problemas y en el incremento de la productividad, mediante una agricultura sustentable. Se utilizaron diez genotipos de papa (Cuadro 3.1), seleccionados bajo condiciones de campo por tolerancia al síndrome de la punta morada en el ciclo 2006.

La extracción del ADN genómico se realizó utilizando la metodología descrita por Almeyda–León *et al.*, (2001). Se trituraron 250 mg de tejido fresco en presencia de nitrógeno líquido. La muestra macerada se transfirió a un tubo de microcentrifuga de 1.5 ml y se le agregaron 750  $\mu$ l de la solución de extracción (2% p/v CTAB, 100 mM Tris – HCl pH 8.0, 20 mM EDTA pH 8.0, 1.4 M NaCl, 1% p/v polivinyl-pyrrolidona) previamente calentada a 65 °C. La mezcla se homogenizó y se incubó durante 30 minutos a 65 °C, agitándose ocasionalmente. Después se agregó a la mezcla un volumen (p/v), de cloroformo – alcohol isoamílico (24:1) y se agitó suavemente por inversión y se centrifugó a 10,000 rpm durante cinco minutos a temperatura ambiente. Se colectó el sobrenadante (parte superior) y se agregó un volumen de cloroformo – alcohol isoamílico (24:1) se agitó suavemente y se centrifugó a 10,000 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente y nuevamente se colectó la fase acuosa. El ADN fue precipitado



adicionando 0.7 volumen de isopropanol, dejando reposar la muestra un mínimo de 45 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó a 10,000 rpm por 15 minutos. El sobrenadante se eliminó y el sedimento se lavó con etanol al 70 % frío, al menos dos veces, se secó a temperatura ambiente y el DNA se resuspendió en 100  $\mu$ l de agua estéril, y se almacenó a 4 °C hasta su uso. El ADN fue cuantificado mediante espectrofotometría a 260 y 280 nm.

Para los SSR (Secuencias Simples Repetidas) o microsatélites se utilizaron los iniciadores M3F/M4R y M5F/M6R, reportados por Ashkenazi *et al.* (2000) y M7F/M8R, M9F/M10R y M11F/M12R utilizados por Ghislain *et al.* (2000) (Cuadro 3.4). Estos iniciadores fueron seleccionados con base en el número de genotipos que diferencian y al tamaño de fragmento que amplifican (Cuadro 3.5).

Cuadro 3.4. Iniciadores utilizados en la caracterización molecular de 10 genotipos de papa, por medio de la técnica de SSR.

Par de Iniciadores	Iniciador Derecho	Iniciador Izquierdo
M3F/M4R	5'-GTGATTGGCAATCAGATTGAAA-3'	5'-GTGTGTGGACTGTGGAGTGG-3'
M5F/M6R	5'-AACATTACAACACATTAGCA-3'	5'-AACTTATCTGAAACTCTCGT-3'
M7F/M8R	5'-AATAGGTGTACTGACTCTCAATG-3'	5'-TTGAAGTAAAAGTCCTAGTATGTG-3'
M9F/M10R	5'-TTCGGAATTACCCTCTGCC-3'	5'-AAAAAAGAACGCGCACG-3'
M11F/M12R	5'-AGAGATCGATGTA AACACGT-3'	5'-GTGGCATT TTTGATGGATT-3'

Las condiciones utilizadas en las reacciones de PCR fueron las reportadas por Ashkenazi *et al.*, 2000 y Ghislain *et al.*, 2000, variando solamente en la temperatura de alineamiento para cada par de iniciadores en particular.

Cuadro 3.5 Principales características de los iniciadores seleccionados para los microsatélites (Ashkenazi *et al.*, 2000; Ghislain *et al.*, 2000).

Iniciadores	Tm	Tamaño de Fragmento Obtenido (pb)	No. de Genotipos que Discrimina	Repetición	Localización
M3F/M4R	59	200	58	(at) <sub>11</sub>	
M5F/M6R	47	204	50	(tg) <sub>10</sub> (ag) <sub>10</sub>	
M7F/M8R	47	83-239	73	(at) <sub>7</sub> (gt) <sub>10</sub> (at) <sub>4</sub> (gt) <sub>5</sub> (gc) <sub>4</sub> (gt) <sub>4</sub>	Cromosoma VI
M9F/M10R	55	146-172	73	(tcta) <sub>6</sub>	Cromosoma VII
M11F/M12R	53	122-188	73	(gt/gc) (gt) <sub>8</sub>	Cromosoma XII

Con los iniciadores reportados por Ashkenazi *et al.*, (2000) (M3 al M6), las reacciones de PCR se conformaron como sigue: en un volumen final de 25 µl, conteniendo 50 ng de DNA (2 µl), 0.5 µM de cada primer (2 µl), 2 mM de MgCl<sub>2</sub> (1 µl), 200 µM de dNTP's (2 µl), solución amortiguadora 1X (2.5 µl) y 2.5 U de la enzima Taq DNA Polimerasa (0.5 µl).

Las PCR se realizaron en el termociclador Px2 Thermal Cyler bajo las siguientes condiciones: 1 ciclo de 2 min a 94 °C, 35 ciclos; desnaturalización 1 min a 94 °C,

alineación 2 min a 58 °C, polimerización 1 min 30 seg a 72 °C, y una extensión final de 10 min a 72 °C. Las condiciones anteriormente indicadas se utilizaron con los pares de iniciadores M3R/M4F y M5R/M6F. Los productos de las reacciones de PCR se fraccionaron en geles de agarosa al 2 % y se tiñeron con bromuro de etidio para ser fotografiados y su posterior análisis.

### **Análisis estadístico**

Para la evaluación del grado de tolerancia de los genotipos evaluados en el ciclo 2006, se utilizó la técnica de análisis de componentes principales (ACP) y un análisis de conglomerados (AC) utilizando el programa de Statistica ver. 6.0 (2005), con el fin de reducir la dimensionalidad de los datos y establecer las relaciones entre las variables y agrupar a individuos en grupos que son diferentes entre sí y dentro de cada grupo los individuos que lo conforman son semejantes entre sí (Manly, 1986; Jhonson y Wichern, 1988). Para saber si los grupos formados son o no diferentes entre sí, se utilizó la prueba de  $T^2$  (Jhonson y Wichern, 1988).

Los datos de la actividad de la peroxidasa (POX), de los diez genotipos seleccionados por su tolerancia al síndrome de la punta morada, fueron analizados mediante un diseño completamente al azar con tres repeticiones y para la prueba de comparación múltiple de medias se utilizó la de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), mediante la aplicación del paquete estadístico SAS ver. 9.0 (SAS Institute, 2002). Además, se utilizó la técnica de análisis de componentes principales (ACP) y un análisis de conglomerados (AC) utilizando el programa de Statistica ver. 6.0

(2005), para establecer las relaciones entre las variables agronómicas y de daño del síndrome de la punta morada con la actividad de la peroxidasa (POX).

Para la evaluación de la Interacción Genotipo Ambiente, el diseño experimental utilizado en cada ambiente fue el de bloques completos al azar y para la evaluación del comportamiento a través de ambientes, el rendimiento total y comercial se analizó, como bloques al azar combinado sobre ambientes, para determinar la existencia de la interacción genotipo x ambiente (IGA) y obtener así información sobre los ambientes de prueba y genotipos. Se consideró a los genotipos como un efecto fijo y a los ambientes como efecto aleatorio.

De acuerdo a lo anterior el modelo es el siguiente

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + R_j(A_i) + G_k + A_i G_k + E_{ihk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Valor observado del k-ésimo genotipo en la j-ésima repetición anidada en el i-ésimo ambiente.

$\mu$  = Efecto de la media general.

$A_i$  = Efecto del i-ésimo ambiente.

$R_j(A_i)$  = Efecto de la j-ésima repetición anidada en el i-ésimo ambiente.

$G_k$  = Efecto del k-ésimo genotipo.

$A_i G_k$  = Efecto de la interacción del i-ésimo ambiente en el k-ésimo genotipo.

$E_{ihk}$  = Efecto del error experimental.

Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con lo descrito por Steel y Torrie (1989).

- Una vez confirmada la existencia de IGA, ésta se analizó mediante el método propuesto por Zobel *et al.*, (1988) de Análisis de los efectos principales aditivos y las interacciones multiplicativas (AMMI), que funciona bajo el modelo siguiente:

$$y_{ij} = \mu + g_i + e_j + \sum_{k=1}^n \lambda_k \alpha_{ik} \gamma_{jk} + R_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Rendimiento del i-ésimo genotipo en el j-ésimo ambiente.

$\mu$  = Media general.

$g_i$  = Media de j-ésimo genotipo menos la media general.

$e_j$  = Media del i-ésimo ambiente menos la media general.

$\lambda_k$  = Raíz cuadrada del eigenvalor del k-ésimo eje del análisis de componentes principales (ACP) k.

$\alpha_{ik} \gamma_{jk}$  = Calificaciones del ACP para el k-ésimo eje del i-ésimo genotipo y el j-ésimo ambiente, respectivamente.

$R_{ij}$  = Residual del modelo.

Las calificaciones del ACP para los ambientes y genotipos se expresan como unidades del eigenvector correspondiente por la raíz cuadrada del eigenvalor

(Zobel *et al.*, 1988). La suma de cuadrados de la IGA es subdividida dentro de los ejes del ACP, donde el eje K posee  $g + e - 1 - 2k$  grados de libertad, donde  $g$  y  $e$  son los números de genotipos y ambientes, respectivamente. En el modelo normalmente se retiene sólo el primero o los dos primeros componentes y los restantes se envían al residual. Los genotipos o ambientes con grandes calificaciones en el ACP (sean positivo o negativo), tienen interacciones altas, mientras que aquellos con calificaciones cercanas a cero en el ACP tienen interacciones pequeñas y se consideran estables. Según el tipo de signo, se realiza una descripción más amplia de los genotipos y ambientes. En la investigación se utilizó el programa propuesto por Vargas y Crossa (2000), mediante la aplicación del paquete estadístico SAS ver. 9.0 (SAS Institute, 2002). Los datos agronómicos y de calidad industrial, así como los coeficientes del primer eje del AMMI para los genotipos, a través de los ambientes de prueba, se sometieron al análisis de conglomerados, mediante la metodología de Ward (1963), que de acuerdo con lo descrito por Johnson y Wichern (1988) es un método jerárquico, de amplia aceptación para agrupar genotipos similares, cuya representación gráfica de las distancias genéticas obtenidas se realiza mediante la "euclidiana".

En el análisis de Secuencia Simple Repetidas (SSR) o Microsatélites, los geles se analizaron y las bandas monomórficas y polimórficas se contabilizaron. Se asumió que bandas del mismo peso molecular en diferentes individuos son similares. La presencia de una banda fue indicado por un uno (1) y la ausencia como cero (0). Las relaciones genéticas entre genotipos se calcularon por el método de similaridad genética propuesto por Nei y Li (1979), usando el paquete de software

S-Plus Versión 4.0. La matriz de distancias generada se utilizó para producir un dendrograma por medio del Método de Promedio Aritmético de Grupos de pares no Ponderados (UPGMA). Se usó el método de Felsenstein (1985) para obtener el intervalo de confianza para los grupos formados en cada nodo del dendrograma, para lo cual se realizaron 1000 repeticiones de muestreo con reemplazo de los datos originales. Los intervalos de confianza Felsenstein (1985), se refieren al porcentaje de veces que cada nodo del dendrograma es repetido en las 1000 muestras de muestreo con reemplazo, lo que a su vez indica lo robusto de los grupos formados en cada nodo. Un porcentaje cercano a 100% sugiere que el grupo refleja la estructura de la población y que el error de muestreo es mínimo, mientras que bajos porcentajes (menos del 30 %) sugieren que puede existir variación entre los genotipos de algún nodo en particular, cada vez que realiza un análisis, por lo que es necesario aumentar el tamaño de muestra.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **IV.1 Evaluación de germoplasma de papa contra el síndrome de la punta morada bajo condiciones de campo sin aplicación de insecticidas.**

De los 214 genotipos evaluados, solamente un 46.7% produjo tubérculos mientras que el resto murió sin llegar a producir, presentando los síntomas característicos del síndrome de punta morada (decoloración, color rojizo y enrollamiento de hojas y finalmente muerte de la planta). Esto fue detectado por el Análisis de Componente Principales (ACP), que como se aprecia en el Cuadro 4.1, explicó un 76.84% de la varianza total con los primeros tres componentes principales. El primer componente contuvo 40.59% de dicha varianza, reportando asociación positiva entre todas las variables estudiadas, resaltando características como días a inicio de primeros síntomas y días a muerte, producción por planta y número de tubérculos por planta con valores superiores a 0.7, por lo que se puede llamar “Componente de producción o tolerancia”, ya que tiende a separar los genotipos productores (los que producen y tardan más en enfermarse) de los no productores (Figura 4.2). El componente dos explicó la asociación negativa entre las variables días a inicio de primeros síntomas (ISM), días a muerte (DMP) y cobertura (COB) que presentaron valores superiores a -0.5 con el número de tubérculos por planta (NT), porcentaje de manchado de tubérculos (MIT) y brote de hilo (BH) que

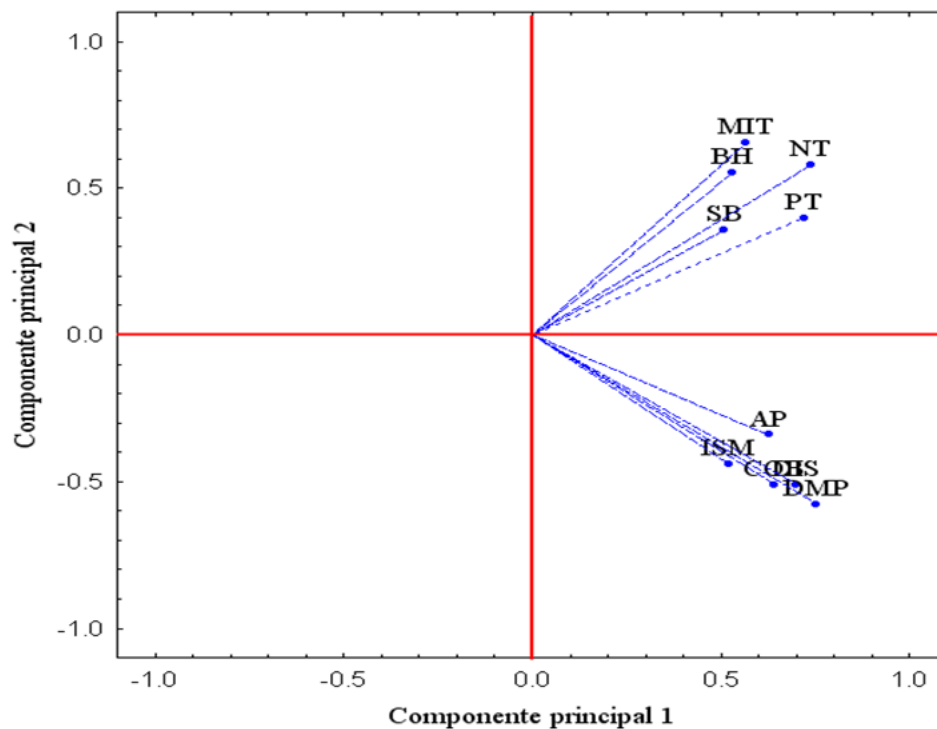


presentaron asociación positiva entre ellos con valores superiores a 0.5. Estos valores en las características agronómicas y de tubérculos, son síntomas de alta susceptibilidad al síndrome de la punta morada (Maramorosch, 1988; Salazar, 1995; Cadena 1996; Flores *et al.*, 2004), debido a lo cual este componente puede denominarse de “Susceptibilidad al síndrome de la punta morada” ya que tiende a agrupar variables asociadas a los síntomas de punta morada (Figura 4.1).

Cuadro 4.1 Coeficientes de correlación de cada variable con los tres componentes principales.

Variables	Componente	Componente	Componente
	1	2	3
Días a inicio de síntomas (DIS).	<b>0.701</b>	<b>-0.511</b>	0.073
Días a muerte de planta (DMP).	<b>0.754</b>	<b>-0.576</b>	-0.041
Intervalo de inicio a marchitez (ISM).	0.519	-0.439	-0.201
Altura de planta (AP).	0.628	-0.341	0.103
Cobertura (COB).	0.641	<b>-0.511</b>	-0.177
Producción total por planta (PT).	<b>0.719</b>	0.398	0.331
Número de tubérculos por planta (NT).	<b>0.738</b>	<b>0.580</b>	0.108
Porcentaje de manchado de tubérculo (MIT).	0.567	<b>0.655</b>	-0.324
Brote de hilo (BH).	0.530	<b>0.554</b>	<b>-0.615</b>
Sin brote (SB).	0.510	0.359	<b>0.637</b>
Varianza Explicada por Eigenvalor (%)	40.59	25.25	11.00
Varianza Acumulada %	40.59	65.84	76.84

Para el componente tres los valores significativos pero opuestos fueron, para características de brotación de tubérculo (brote de hilo (BH) -0.615 y sin brote (SB) 0.637), por lo que este componente que incide en la calidad de tubérculo-semilla puede denominarse “Componente de viabilidad de semilla” (Cadena-Hinojosa *et al.*, 2003).

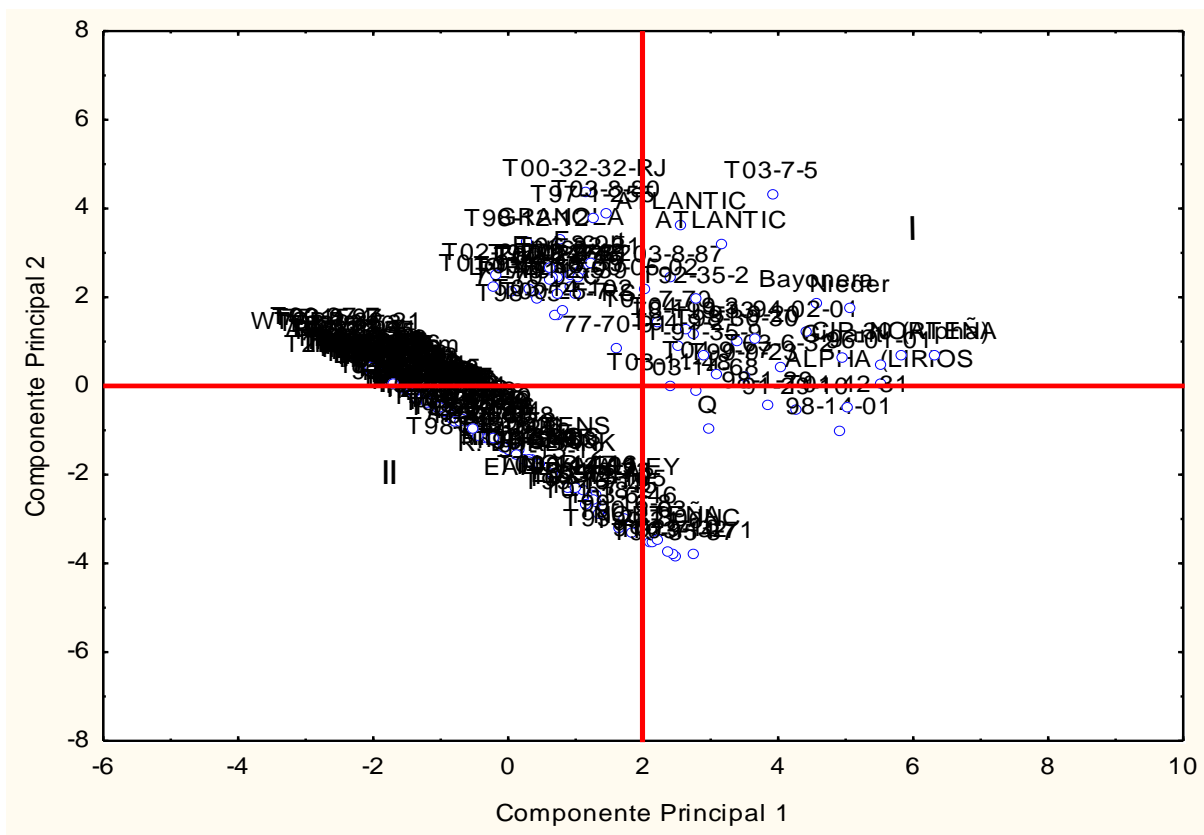


**Figura 4.1. Distribución de las variables en los dos primeros componentes.**

Estos síntomas, son característicos del daño por el virus PLRV independiente y en asociación con el virus PVY con el cual presenta más síntomas severos y fitoplasmas (Bokx, 1980), siendo de las principales enfermedades que favorecen la degeneración acelerada de la semilla y que actualmente los fitoplasmas se han reportado peligrosos en las zonas productoras de papa comercial o como semilla,

debido a que pueden pasar desapercibidos, al estar presentes en tubérculos-semillas con brotación normal (Martínez-Soriano *et al.*, 1999).

En la Figura 4.1, se aprecia lo anteriormente expresado para los componentes que explicaron la mayor cantidad de variación, sugiriendo una clasificación preliminar de los genotipos evaluados, de tal forma que al graficar los genotipos en el plano de los dos primeros componentes, se confirma lo antes asentado, así la línea trazada en el punto cero del primer componente de la Figura 4.2, separa a los genotipos productores (derecha de la línea) y no productores a la izquierda.



inicio y muerte así como intervalo de inicio a muerte, de aquellos genotipos más altos, de mayor cobertura, tardíos, menos productores y con menor número de tubérculos.

Para confirmar las clasificaciones anteriores, se procedió a realizar un análisis de conglomerados mediante la metodología de Ward (1963), la cual identificó hasta tres grupos cuyos valores medios y número de integrantes aparecen en el Cuadro 4.2. Al comparar los grupos se detectó alta significancia entre la mayoría de las variables y solo para altura de planta entre el grupo I y II, no existió diferencia.

El grupo 1 estuvo conformado por 114 genotipos, y se caracterizaron principalmente por no presentar producción y sus variables agronómicas obtuvieron los valores más bajos debido posiblemente a la susceptibilidad mostrada al síndrome de punta morada. Los genotipos que conformaron el grupo dos (53), fueron los de mayor tolerancia al síndrome, al presentar la mayor media de producción por planta y que, de inicio de síntomas a marchitez presentaron 17 días. En este grupo probablemente se presentó la más rápida translocación de fotosintatos al llenado de tubérculo antes de que el floema fuera afectado posiblemente por hipertrofia, hiperplasia y proliferación o necrosis de células y acumulación anormal de callosa en las paredes (Ploaie, 1981) o por la tasa de translocación del virus o fitoplasma, que depende del ritmo de multiplicación y para la cual se ha reportado que difieren las variedades (Bokx, 1980).

El grupo tres sobresale por presentar más tarde los primeros síntomas, así como el intervalo más amplio a marchitez, sugiriendo un lento desarrollo de la enfermedad o presencia de características que las hacen poco atractivas para los vectores, sin embargo el mayor intervalo de inicio de síntomas a marchitez apoya

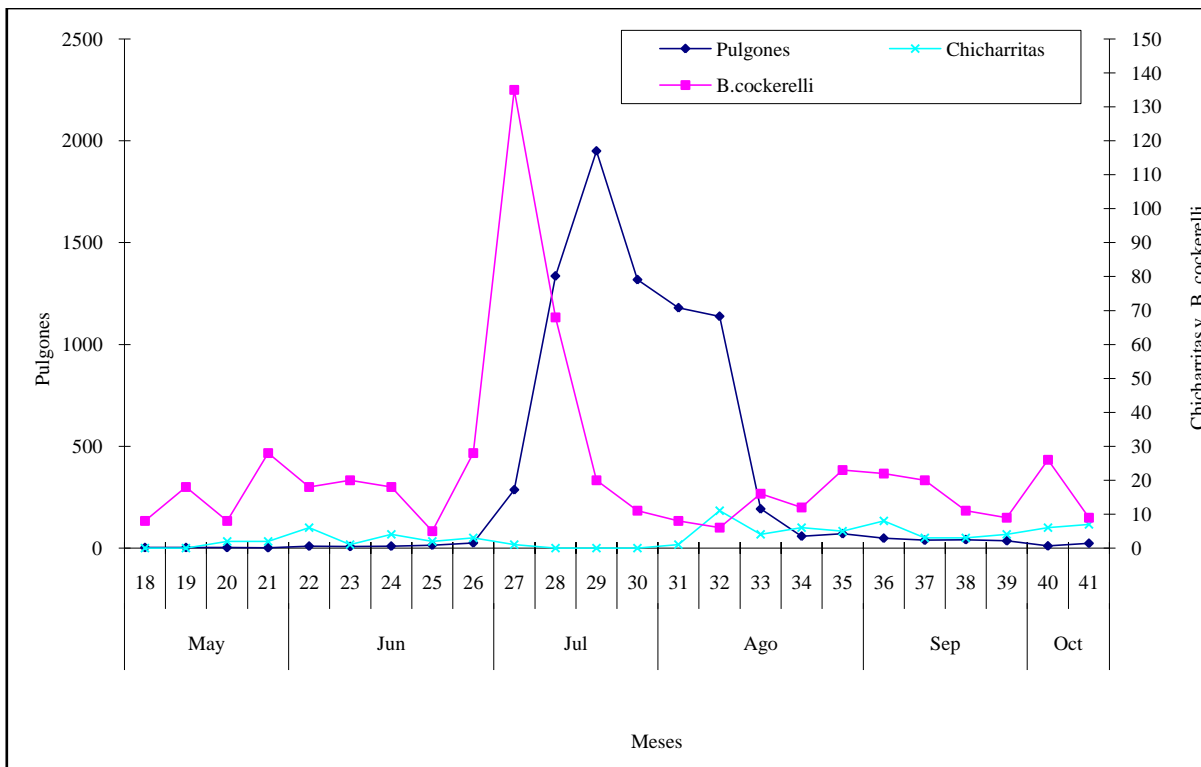
la primera suposición. La media de producción de este grupo fue muy baja (6.531 g/planta). Esta producción pudo ser debida a la reducción en la translocación de los hidratos de carbono a partir del follaje a los tubérculos y que da como resultado la acumulación de almidón en las hojas, abultamiento del tallo en los lugares de inserción de las hojas y formación de tubérculos aéreos (Ames, 1980; Maramorosch, 1998a).

Cuadro 4.2 Número de individuos, medias de características agronómicas y de tubérculos en los grupos formados por diferentes genotipos de papa, sin aplicación de insecticidas.

	Gpo 1	Gpo 2	Gpo 3
N° de individuos	(114)	(53)	(47)
Días a inicio de síntomas (DIS).	<b>34.061</b>	<b>42.717</b>	<b>56.191</b>
Días a muerte de planta (DMP).	<b>49.105</b>	<b>59.755</b>	<b>79.425</b>
Intervalo de inicio a marchitez (ISM).	<b>15.044</b>	<b>16.906</b>	<b>23.085</b>
Altura de planta (AP).	<b>30.123</b>	<b>40.585</b>	45.319
Cobertura (COB).	<b>22.447</b>	<b>35.925</b>	<b>53.489</b>
Producción total por planta (PT).	<b>0.000</b>	<b>49.774</b>	<b>6.531</b>
Número de tubérculos por planta (NT).	<b>0.000</b>	<b>9.151</b>	<b>1.064</b>
Porcentaje de manchado de tubérculo (MIT).	<b>0.000</b>	<b>87.698</b>	<b>8.894</b>
Brote de hilo (BH).	<b>0.000</b>	<b>63.962</b>	<b>10.638</b>
Sin brote (SB).	<b>0.000</b>	<b>36.038</b>	<b>0.000</b>

Los valores bajos de producción por planta que se obtuvieron en este estudio fueron debidos a la presencia de altas poblaciones de vectores y consecuente transmisión de la enfermedad, siendo los de mayor población los pulgones a través del ciclo, en relación a la paratrioza y chicharrita desde la emergencia de las plantas (Figura 4.3) y a que no se realizaron aplicaciones de insecticidas para su control. Es por ello que los productores, indiscriminadamente, tienden a realizar frecuentes aplicaciones de insecticidas con el fin de lograr producción comercial.

La sintomatología en planta y tubérculo, puede ser causada por los virus y fitoplasmas (Bokx, 1980; Martínez-Soriano *et al.*, 1999), así como por la bacteria *Xilella fastidiosa*. Esta última también reportada como inductora de los síntomas característicos del síndrome de la punta morada (Secor *et al.*, 2006). Es posible que también estuviera presente la bacteria *Candidatus Liberibacter* species, la cual es única por que causa enfermedades en Solanáceas tales como tomate y papa y es transmitida por el psylido *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hansen *et al.*, 2008) el cual estuvo presente. Lo anterior hace difícil dilucidar la importancia de cada una de ellas, ya que en las muestras que se analizaron, se encontraron virus PLRV y PVY, fitoplasma y la bacteria *Xilella fastidiosa*, que se asume adquirieron por vía de los vectores mencionados, dado que se utilizó semilla sana (minituberculos provenientes de invernadero), justificando de paso el uso de algún método para el control de vectores que sea más amigable para el ambiente. Para la bacteria *Candidatus Liberibacter* species no se realizó análisis, sin embargo la presencia de su principal vector (*Bactericera cockerelli* Sulc) nos hace suponer su presencia.

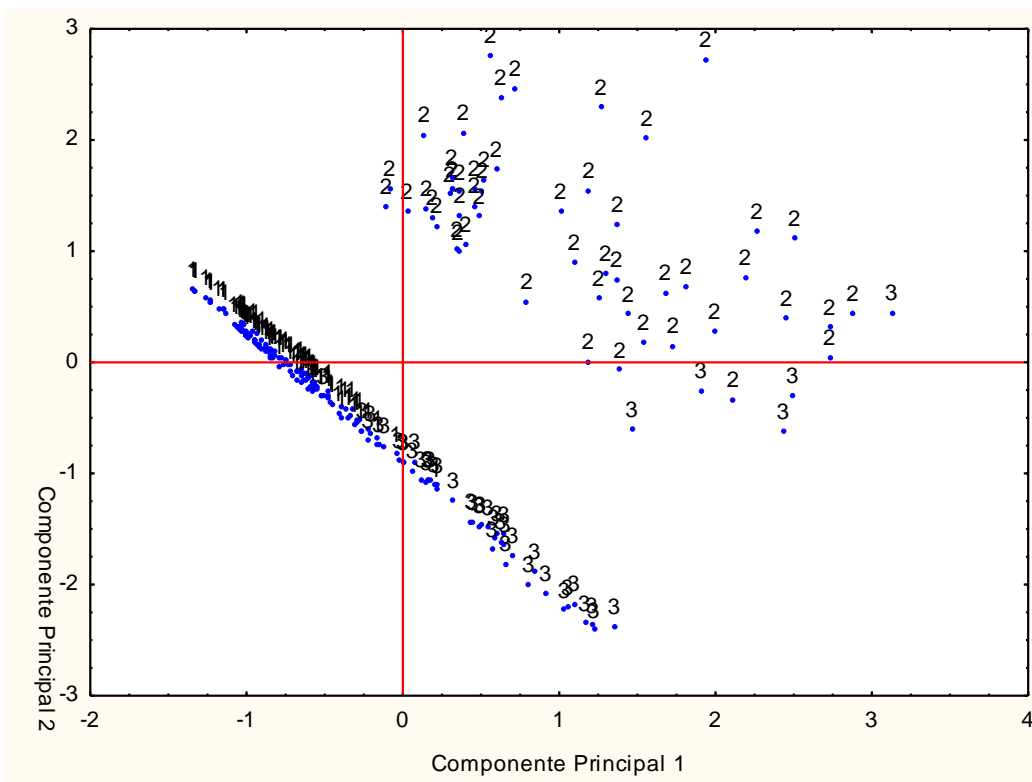


**Figura 4.3 Monitoreo de insectos vectores a través del ciclo (P-V 2006), en la localidad de Emiliano Zapata municipio de Arteaga, Coahuila**

Dado lo complejo del problema del síndrome de la punta morada por el gran número de agentes causales, es importante seleccionar aquellos genotipos menos susceptibles y utilizar el método más adecuado para controlar la enfermedad. De acuerdo a esto, el método de mejoramiento múltiple propuesto por Mendoza (1997), sería de gran utilidad, ya que cumple tres puntos básicos: 1) La preservación de una amplia diversidad genética; 2) El aumento de la frecuencia de genes deseables; y 3) El estímulo de la recombinación de atributos deseables. Después de algunos ciclos de este mejoramiento de poblaciones, las probabilidades de seleccionar clones individuales con varias resistencias a condiciones bióticas y abióticas adversas, aumentan significativamente si se

compara con la selección clonal, esquema tradicional de mejoramiento de papa (Estrada, 1999).

En la Figura 4.4, se observa un claro agrupamiento de aquellos genotipos que lograron producir (grupo 2), así como de aquellos que lograron baja (grupo 3) y nula producción (grupo 1). Con base en esto el componente uno, separó los genotipos con y sin producción (lado positivo producción y todas las variables positivas y lado izquierdo todas las negativas).



**Figura 4.4 Agrupamiento de los genotipos, con base en los dos primeros componentes.**

De acuerdo a estos resultados, el grupo dos es el de mayor importancia para iniciar un programa de mejoramiento, al tener una mayor velocidad de translocación o una mayor resistencia a la afectación del floema, comparándolo



con el grupo 1 en que es nula la producción é inicio de síntomas y muerte de planta es más temprana y con el grupo 3, que a pesar de mostrar el inicio de síntomas y muerte más tardía, su producción fue baja, siendo necesario estudios más precisos para determinar las causas de su comportamiento.

En el Cuadro 4.3, aparecen los genotipos del grupo 2 que superaron la media de producción por planta de dicho grupo, donde se observa que las principales variedades comerciales (Alpha, Atlantic y Gigant) quedaron incluidas, al igual que las nuevas variedades liberadas por el INIFAP (Nieder y Bayonera) y clones promisorios del mismo Instituto.

Cuadro 4.3 Producción por planta de los genotipos que superan la media del grupo 2.

Genotipo	Producción (g)	Genotipo	Producción (g)	Genotipo	Producción (g)
T98-30-30	52	T03-6-32	76	Bayonera	145
T02-2-37	52	91-29-10	95	T-03-7-5	149
T03-13-12	55	98-14-01	95	Atlantic	150
T92-35-2	60	Atlantic (CIP)	125	Alpha	152
T00-32- 32RJ	62	Norteña	135	96-01-01	165
T97-1-255	62	94-02-01	135	CIP-30 (Alpha)	165
T03-6-46	72	Nieder	138	Gigant	170

Los genotipos Alpha, Gigant, 91-29-10 y CIP-30, son relevantes ya que no presentaron manchado interno de tubérculo y los clones 94-02-01, 98-14-01 y 96-01-01 fueron tolerantes para este síntoma con 25, 18 y 25% respectivamente. Para los cultivares, Alpha y Gigant existen reportes de resistencia al manchado (Cadena, 1996; Cazáres *et al.*, 2003). Estos genotipos al igual que el clon 91-29-10 pudieran ser utilizados como progenitores en un programa de mejoramiento por resistencia al manchado. Dado lo complejo del problema del síndrome de la punta morada por el gran número de agentes causales, los genotipos antes enunciados son una opción para incrementar la tolerancia a la enfermedad, sugiriéndose que sea una acción complementaria a otras medidas que coadyuven en el control del síndrome.

#### **IV.2 Caracterización, por actividad de la peroxidasa (POX) de genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada y su relación con las características de campo.**

El análisis de varianza (Cuadro A.1) detectó diferencia altamente significativa ( $p \leq 0.01$ ), entre los genotipos caracterizados por su actividad enzimática de la peroxidasa (POX). La mayor actividad POX (Tukey  $\leq 0.05$ ), la presentó el clon 98-14-01, seguido por los genotipos Alpha, Norteña y 96-01-01 que fueron estadísticamente similares (Figura 4.5). Mora (2007), reporta a la variedad Alpha, como un genotipo con tendencia a presentar mayor actividad enzimática en las enzimas catalasa, ascorbato de peroxidasa y peroxidasa, así como mayor contenido de peróxido ( $H_2O_2$ ). Los genotipos con actividad intermedia fueron Gigant, 91-10-1, 94-02-01, 91-29-10, Atlantic y Bayonera fueron estadísticamente similares. Estas últimas dos variedades fueron las que presentaron las más bajas

actividades POX. El clon 98-14-01 supera ampliamente a ambas en alrededor del 50% de actividad POX.

Al analizar la actividad POX junto con las variables de campo, se explicó un 79.03 % de la varianza total con los primeros tres componentes (Cuadro 4.4). El componente 1 contuvo 33.68 % de la varianza total y las variables que más contribuyeron a la variación fueron actividad POX, inicio de síntomas, días a marchitez, intervalo de inicio a marchitez y altura, que mostraron una relación positiva entre si y negativa con el CP1, en tanto tubérculos sin brote mostró una asociación positiva con dicho componente.

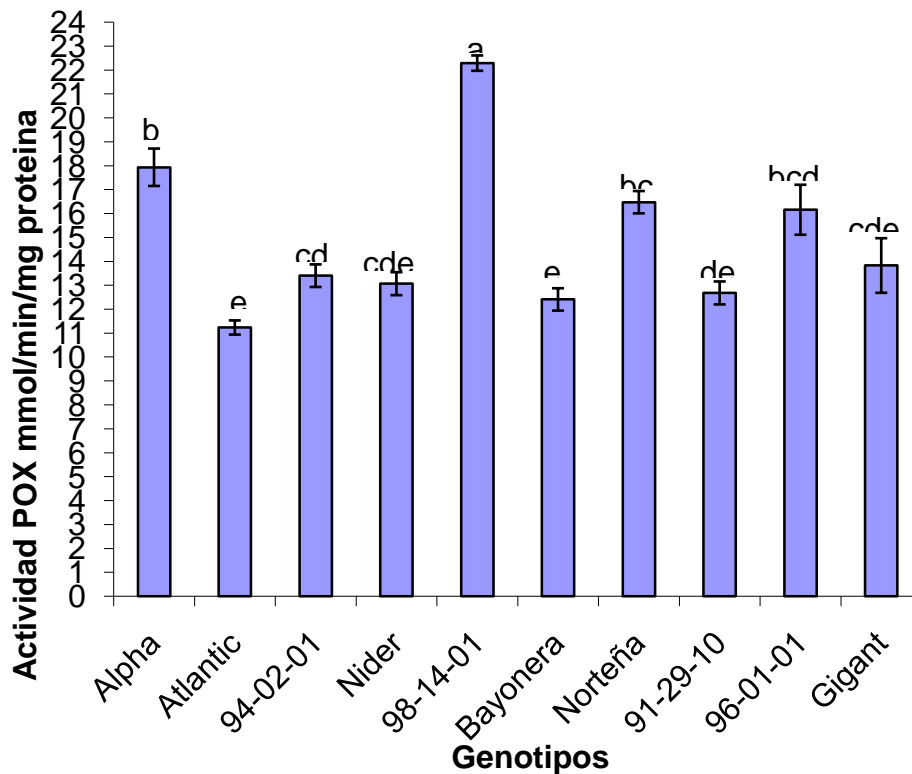


Figura 4.5. Actividad POX en diferentes genotipos de papa.

Esta relación, pudo estar dada por la acción de la peroxidasa (POX) que les confiere resistencia al inicio de primeros síntomas, días a marchitez, intervalo de inicio a marchitez, mayor altura de planta ó por los procesos necesarios en el crecimiento, diferenciación y desarrollo de la planta que pudo asociarse con la construcción de la pared celular, lignificación y suberización, como respuesta a los patógenos (Gaspar *et al.*, 1982; Alba *et al.*, 2000). Para este componente solamente por ciento de manchado de tubérculo y sin brote mostraron signo positivo; por lo que tiende a separar genotipos que tuvieron una relación positiva de alta actividad POX con inicio de síntomas, marchitez, intervalo entre el inicio y marchitez, altura, cobertura y brote de hilo, y baja relación con por ciento de manchado de tubérculo y sin brote. El componente 2 explicó un 24.91 % de la varianza total y las variables que más contribuyeron a la variación fueron producción por planta, número de tubérculos por planta y tubérculos sin brote, con signo positivo, indicando que estuvieron genotipos productivos con menor cobertura e incremento de tubérculos sin brote y/o disminución de tubérculos con brote de hilo.

El componente 3 contuvo un 20.43 % de la varianza y estuvo definido por las variables número de tubérculos por planta, por ciento de manchado, brote de hilo e intervalo de inicio a marchitez con signo negativo pero con relación positiva entre sí y una relación negativa con cobertura y sin brote que presentaron signo positivo. Esto indica que los genotipos con mayor cobertura presentaron menor número de tubérculos por planta y por ende más bajos valores en características indeseables

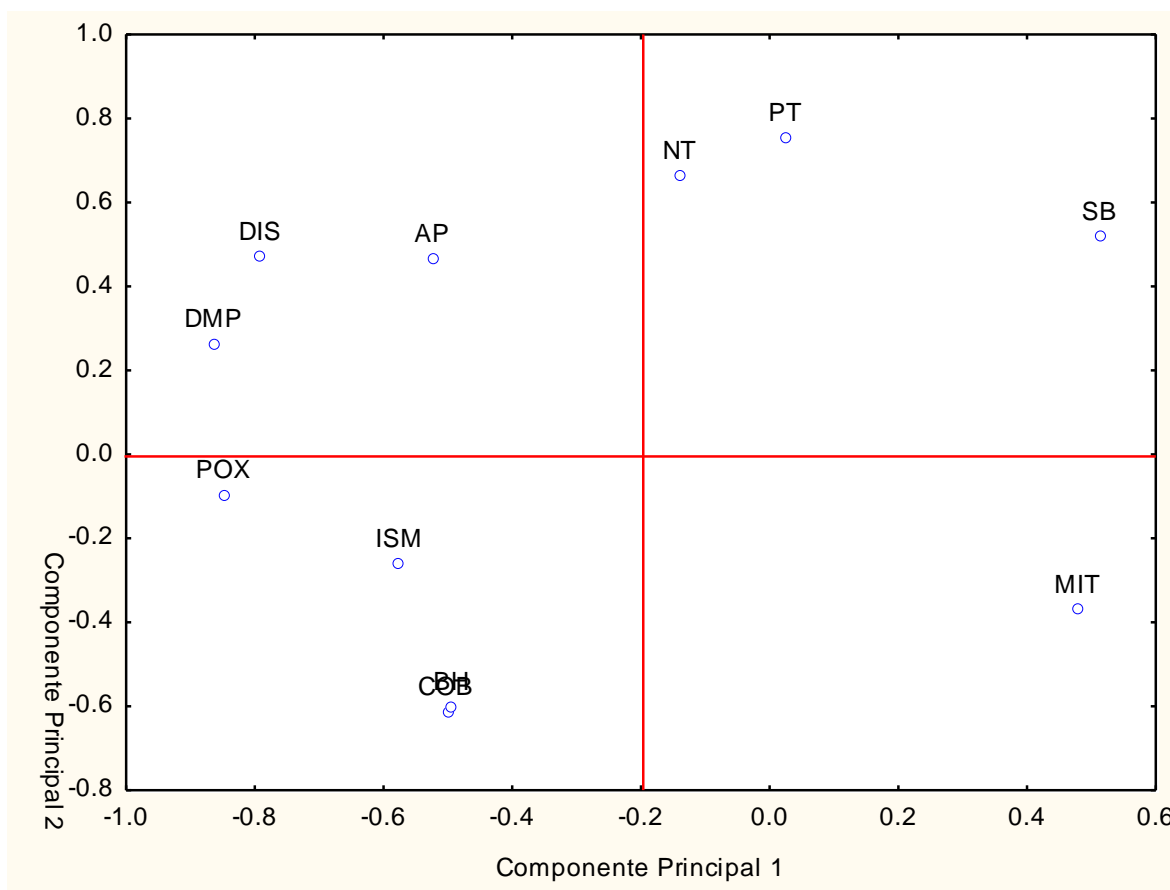
de tubérculos (porciento de manchado y brote de hilo) é intervalo más corto de inicio de primeros síntomas a marchitez.

Cuadro 4.4 Coeficientes de correlación de cada variable con los tres componentes principales.

<b>Variables</b>	<b>Componente 1</b>	<b>Componente 2</b>	<b>Componente 3</b>
Actividad POX	<b>-0.848</b>	-0.096	0.130
Inicio de síntomas	<b>-0.792</b>	0.472	0.228
Días a muerte	<b>-0.864</b>	0.264	-0.032
Intervalo de inicio a muerte	<b>-0.575</b>	-0.260	<b>-0.526</b>
Altura	<b>-0.524</b>	0.467	0.160
Cobertura	-0.497	<b>-0.612</b>	<b>0.568</b>
Producción por planta	0.026	<b>0.755</b>	-0.466
Número de tubérculos por planta	-0.138	<b>0.665</b>	<b>-0.630</b>
Porciento de manchado de tubérculo	0.480	-0.370	<b>-0.603</b>
Brote de hilo	-0.495	<b>-0.599</b>	<b>-0.523</b>
Sin brote	<b>0.512</b>	<b>0.518</b>	<b>0.548</b>
Varianza Explicada por Eigenvalor %	33.68	24.91	20.43
Varianza Acumulada %	33.68	58.59	79.03

La Figura 4.6 presenta la distribución de las variables en los dos primeros componentes. En el componente 1, nos indica una relación negativa entre la mayor actividad POX, altura (AP), días a inicio de síntomas (DIS), días a muerte

de planta (DMP), intervalo de inicio de síntomas a muerte (ISM), brote de hilo (BH) y cobertura (COB) con la producción y número de tubérculos por planta. Esta nula relación puede ser debida a que los genotipos presentaron mayor crecimiento y diferenciación de las células como respuesta a los virus, (Riedle-Bauer, 2000) y fitoplasmas, favoreciendo el incremento vegetativo posiblemente por la afectación del floema por hipertrofia, hiperplasia y proliferación o necrosis de células y acumulación anormal de callosa en las paredes (Ploiae, 1980) e inhibiendo la traslocación de los fotosintatos a la formación de tubérculos.

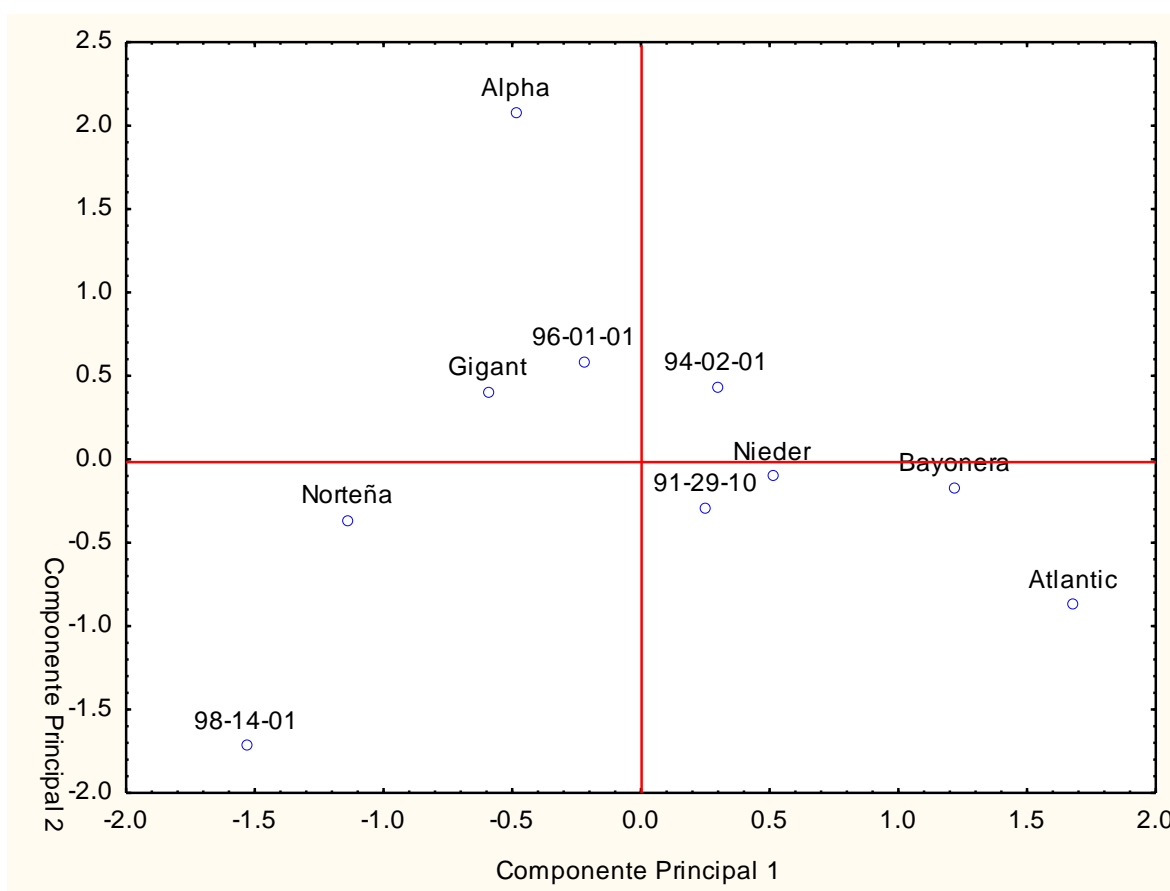


**Figura 4.6. Relación entre variables con base en los dos primeros componentes principales.**

Por lo anterior, y considerando que las peroxidases participan en la construcción de la pared celular, lignificación y suberización (Gaspar *et al.*, 1982; Alba *et al.*, 2000) al reaccionar con el daño severo de los virus y fitoplasmas, pudo haber existido un sinergismo y favorecer el crecimiento vegetativo. La actividad de la peroxidasa es importante en inducir resistencia a enfermedades como *Phytophthora infestans* y *Erwinia carotovora*, enfermedades de pudrición suave (Wu *et al.*, 1995). El componente 2 separa a los materiales en base a su producción y número de tubérculos por planta de aquellos con mayor cobertura y brote de hilo.

En la figura 4.7 se observa una clara separación de los genotipos al graficarlos con los dos primeros componentes. El primer grupo, conformado por los genotipos Alpha, Gigant y 96-01-01, está ubicado en el cuadrante superior izquierdo y se caracterizan por una mayor AP, DIS, DMP, menor COB, POX, ISM, Y BH con el menor MIT, característica importante para la industria y consumo, por lo que este grupo de genotipos son recomendables para su siembra en el Noreste de México, debido a que presentaron mayor tolerancia al síndrome de la punta morada principal enfermedad en las zonas productoras del país (Rubio *et al.*, 2006), al obtener los más altos rendimientos y haber presentado más tardío el inicio de síntomas y muerte de planta. El segundo grupo ubicado en el cuadrante inferior izquierdo lo formaron los genotipos Norteña y 98-14-01 y presentaron mayor actividad POX, ISM, BH y más frondosos (COB). La relación positiva entre mayor actividad POX con cobertura e intervalo de inicio de síntomas a marchitez, puede ser una respuesta de los genotipos al daño si consideramos que las enzimas de

peroxidasas participan en el crecimiento, en procesos de diferenciación y desarrollo, en la construcción de la pared celular, así como en la lignificación y suberización, como respuesta a los patógenos (Gaspar *et al.*, 1982; Alba *et al.*, 2000). Sin embargo, no fueron los más rendidores, pero presentan menos MIT. El grupo 3 se ubica en el cuadrante inferior derecho y se caracteriza principalmente por mayor porcentaje de manchado (Bayonera, Atlantic, Nieder y 91-29-10).



**Figura 4.7 Distribución de los genotipos con base en los primeros dos componentes principales.**

De este grupo la Variedad Atlantic es la que presenta la más baja actividad POX así como el tipo de planta más compacto (menor altura y cobertura), lo cual lo



hace indeseable para ser utilizado por los productores ya que el destino de la producción es la industria de hojuela (Hernández *et al.*, 2000).

El cuarto grupo se caracterizó por el mayor NT, PT, y SB con menos MIT, POX, COB, ISM, BH, AP, DIS, y que en principio sugieren que el clon 94-02-01 sería una alternativa adecuada para la producción o que presentó escape a la enfermedad.

#### **IV.3. Estabilidad de características agronómicas de genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada en diferentes localidades.**

Se encontró diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ), entre ambientes, genotipos y la interacción genotipo x ambiente para todas las variables agronómicas (altura, número de tallos, días a floración, producción total) (Cuadro 4.5) y el rendimiento comercial (Cuadro 4.6), esta última variable mereció un análisis aparte debido a que en la localidad de Emiliano Zapata no hubo producción comercial.. De acuerdo a la prueba de medias (Cuadro A 2), en la localidad de Navidad, N.L. se presentó la mayor altura de planta (67.70 cm) y en Emiliano Zapata la más baja. En número de tallos por planta no hubo diferencia más que para la localidad de Mochis, Sin. presentando un promedio 3 y 4 en las localidades restantes. En lo referente a días a floración, la localidad de Emiliano Zapata fue donde los genotipos se comportaron más precoces, probablemente a causa de la presión de los insectos vectores sobre las plantas, al acelerar su metabolismo y a una posible respuesta a sobrevivir al daño.

Cuadro 4.5. Cuadrados medios y significancia para diferentes variables agronómicas evaluadas en nueve genotipos de papa en seis ambientes, así como sus componentes principales.

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grado de libertad</b>	<b>Altura</b>	<b>Tallos</b>	<b>Días a flor</b>	<b>Rend. total</b>
Ambiente	5	935.46**	1.74**	806.17**	4517.80**
Repeticiones/ambiente	12	27.14	0.18	3.15	4.99
Genotipos	8	2321.80**	2.70**	130.20**	66.90**
Genotipos x ambiente	40	92.37**	0.97**	15.56**	30.26**
CP 1	12	87.54**	3.14**	52.89**	139.22**
CP 2	10	18.52**	2.29**	29.40**	50.00**
Residual	18	13.16	2.27	51.36	37.39
Error experimental	96	19.94	0.41	2.13	5.72
Total	161	29186.55	112.25	5936.86	24943.27

\*\*Significancia a 0.01 de probabilidad.

Considerando que altura y número de tallos por planta son reportados componentes del rendimiento (Borrego *et al.*, 1999), se observan los efectos en el mismo al comparar las localidades en las que se tuvo buen control de insectos vectores. En producción total y comercial, se presentaron cuatro grupos bien diferenciados, siendo las localidades del Noroeste las de mayor producción, seguida de la localidad de Dr. Arroyo que fue estadísticamente igual a los Mochis, Sin. para ambas producciones. Las localidades de Emiliano Zapata y Navidad, N.L. presentaron el menor rendimiento total (2.402 y 18.781 t ha<sup>-1</sup> respectivamente).

En estas localidades estuvieron presentes los insectos vectores desde la emergencia (Figuras 4.8 y 4.9), y solo en la localidad de Navidad N. L. se inició el control de los mismos a los 15 días después de la emergencia y aplicando cada tres días, mientras que en Emiliano Zapata nunca se realizaron aplicaciones.

Cuadro 4.6. Cuadrados medios y significancia para rendimiento comercial en nueve genotipos de papa en cinco ambientes y sus componentes principales.

Fuente de variación	G.L.	Rend. comercial
Ambientes	4	1344.734**
Repeticiones/ambiente	10	4.397628
Genotipos	8	59.162**
Genotipos x ambiente	32	29.322**
CP 1	11	2.61414**
CP 2	9	1.90872**
Residual	12	1.894
Error experimental	80	5.631157
Total	134	7284.997983

\*\*Significativo al 0.01 de probabilidad.

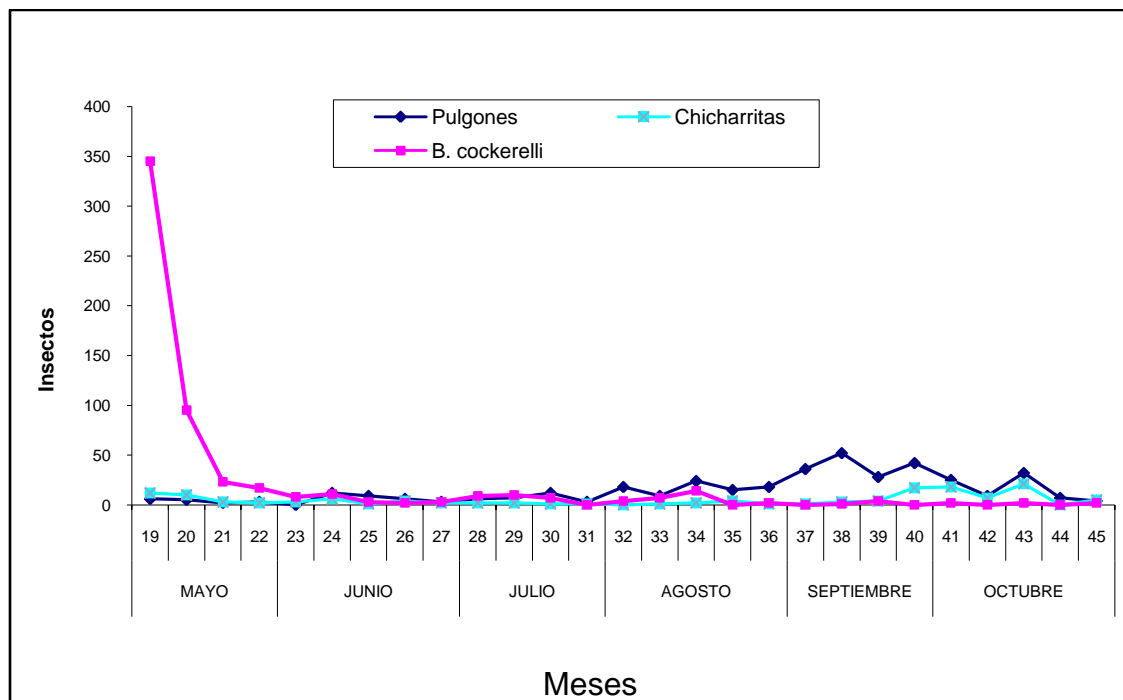
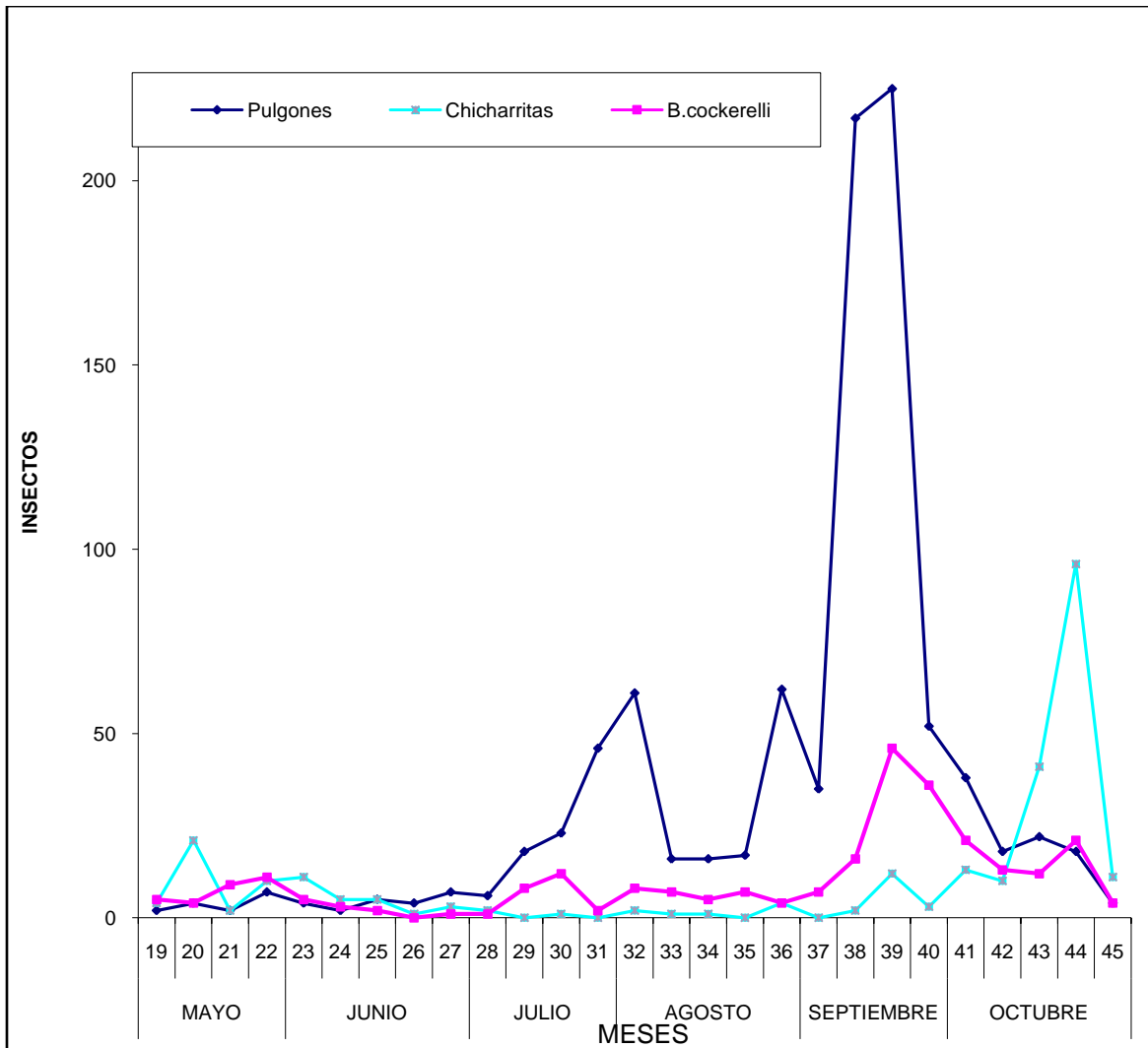


Figura 4.8. Monitoreo de insectos vectores a través del ciclo (P-V 2007), en la localidad de Emiliano Zapata municipio de Arteaga, Coahuila.

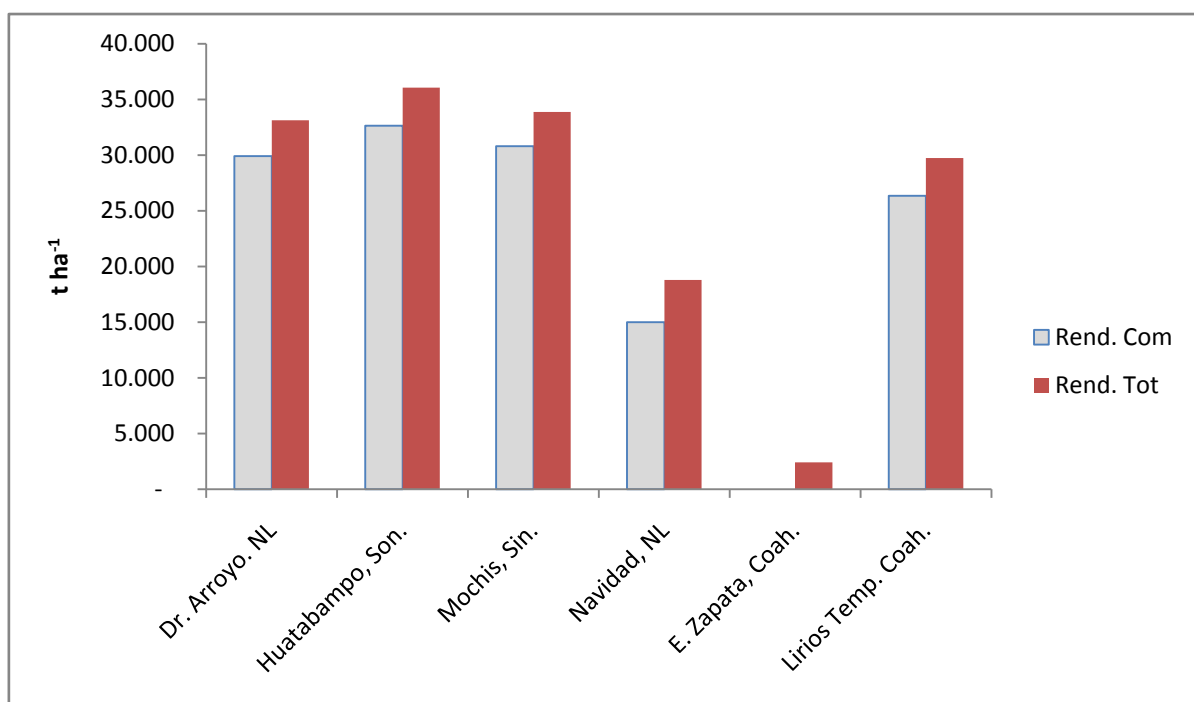


**Figura 4.9. Monitoreo de insectos vectores a través del ciclo (P-V 2007), en la localidad de Navidad, N. L.**

Por lo anterior, en Emiliano Zapata no se tuvo producción comercial (Figura 4.10), debido a que los tubérculos presentaron un diámetro inferior al aceptado por el comercio (>30mm).

Estas bajas producciones fueron debidas a los insectos vectores por ser transmisores de virus (Salazar, 1995) y fitoplasmas (Maramorosch, 1988). En la

región del pacifico en el Noroeste de México, el problema de insectos vectores todavía es eficientemente controlado con aplicaciones semanales de insecticidas (Bayer, 2005), mientras en el Noreste, que comprende Coahuila y Nuevo León, es donde se realizan aplicaciones a intervalos cortos (cada dos o tres días), a través del ciclo del cultivo debido a la alta presión de insectos vectores (Parga *et al.*, 2008b).



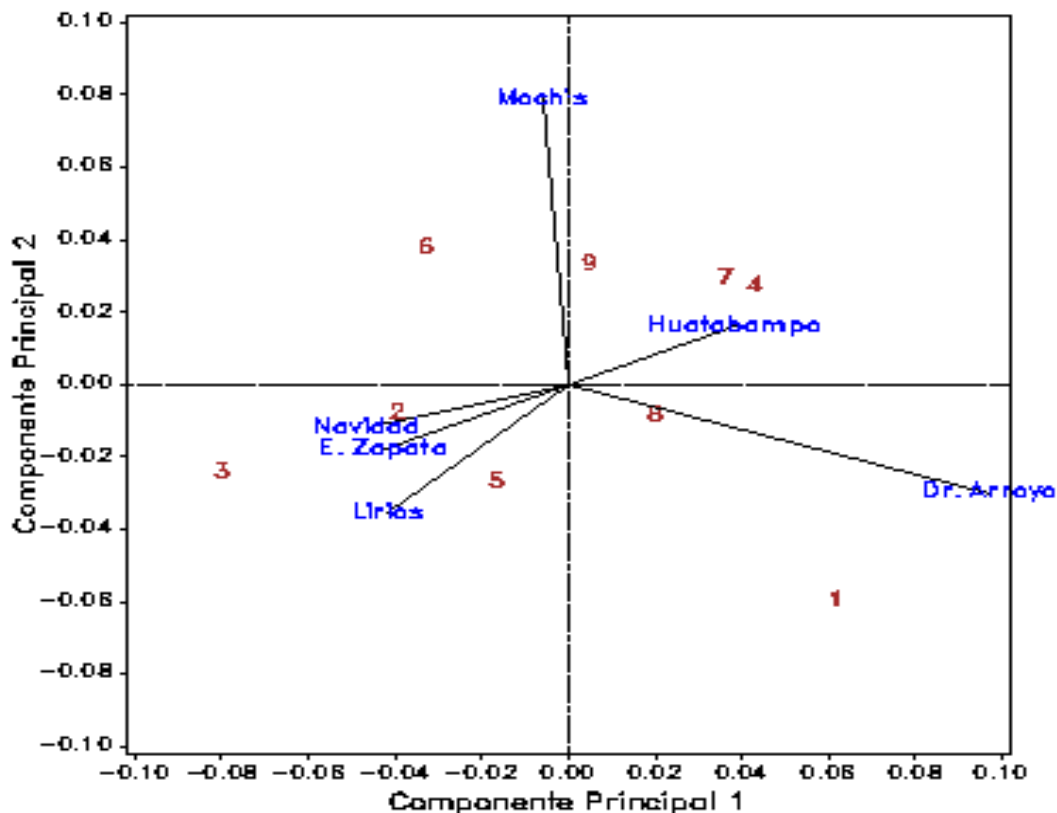
**Figura 4.10. Media de producción total y comercial (t ha<sup>-1</sup>) de papa de nueve genotipos de papa en seis localidades.**

El genotipo 94-02-01 fue el más sobresaliente para las variables altura y número de tallos con promedios de 73.11 cm y 4.7 tallos (Cuadro A 3). El clon 98-14-01 y la variedad Gigant presentaron el porte más bajo y en número de tallos por planta a

excepción de la variedad Alpha que tuvo 3 tallos los demás genotipos observaron 4 tallos en promedio. En la variable de días a floración cabe mencionar que la variedad Gigant no presentó floración a través de los ambientes. La variedad con mayor precocidad a inicio de floración fue Atlantic con un promedio de 40 días de emergencia a floración. Los genotipos más tardíos fueron 96-01-01, 94-02-01 y Norteña. Esta variable (inicio de floración), está relacionada con el inicio de la tuberización, que es un indicador de precocidad en papa (Anónimo, 1986).

La variedad Norteña presentó superioridad tanto en producción total como comercial a través de los ambientes de evaluación. Las variedades Alpha y Atlantic mostraron estadísticamente las más bajas producciones ( $Tukey \leq 0.05$ ). Estos resultados coinciden en los reportados por Parga *et al.*, (2005a) para dichas variedades que obtuvieron las más bajas producciones comerciales en relación a clones avanzados generados por el INIFAP.

El método AMMI, reportó significancias, para los dos primeros ejes o componentes principales (CP), en todas las variables agronómicas. Los cuales explicaron más del 70% de la variación.



**Figura 4.11. Distribución de genotipos y ambientes para el rendimiento total y los primeros dos componentes.**

En la figura 4.11, se observa para el rendimiento total que los ambientes Dr. Arroyo y Mochis mostraron mayor poder discriminatorio para esta variable por presentar los vectores de mayor longitud.

Cabe mencionar que su poder discriminatorio es opuesto al presentar ángulo superior a los  $90^\circ$  (Crossa *et al.*, 1990). Entre ambas localidades esta Huatabampo que puede ser una localidad representativa de las dos al presentar un ángulo menor de  $90^\circ$  dando resultados más confiables. Dicha figura nos muestra que Navidad, E. Zapata y Lirios presentan una tendencia similar al agrupamiento, indicando que poseen el mismo poder de discriminación. Como representativo de este grupo se recomendaría la localidad de E. Zapata en la evaluación de

tolerancia a insectos vectores. De acuerdo a esto, las localidades no representan un mega ambiente, por lo que se identifican tres ambientes opuestos en la discriminación, siendo estos: 1) Dr. Arroyo, 2) Mochis y 3) el agrupamiento de E. Zapata, Navidad y Lirios. Estos ambientes están probablemente agrupados por la presión de insectos vectores y la eficiencia de control (Cuadro 3.3).

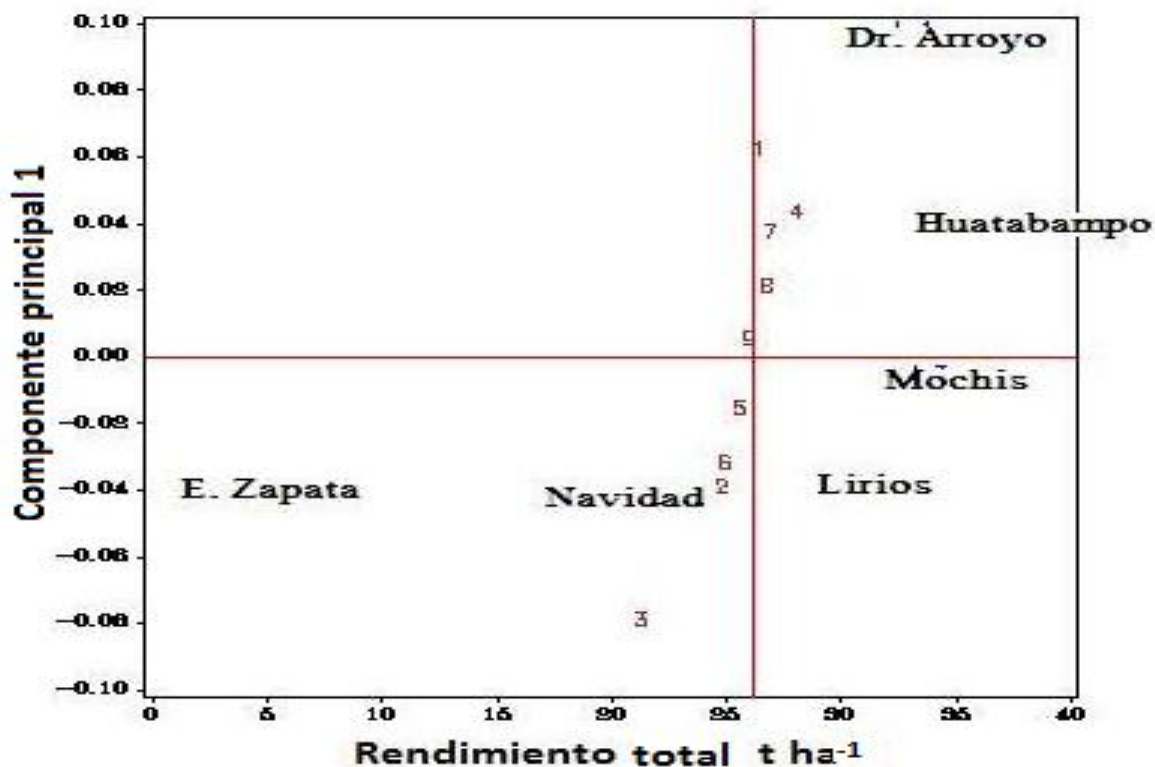
Los tres ambientes presentaron interacciones cruzadas, originando cada uno de ellos una clasificación diferente de los genotipos. Para Huatabampo, los genotipos Norteña (4) y 94-02-01 (7) se asocian bien, en Dr. Arroyo los genotipos Gigant (1) y 98-14-01(8) presentaron la mejor adaptación. Los genotipos Alpha (2), Atlantic (3) y Bayonera (5) están mejor adaptados a ambientes en los que se tienen, alta presencia y deficiente control de insectos vectores al expresar mayor rendimiento total en las localidades agrupadas con interacciones negativas. Por último en la localidad de Los Mochis los genotipos 96-01-01(9) y Nieder (6) presentan mejor adaptación.

En la figura 4.12, se observa que al graficar los genotipos y ambientes en el plano obtenido para el rendimiento total y el CP1, el genotipo 96-01-01(9) expresó la menor interacción, al ubicarse más cerca de la línea que cruza el punto cero del CP1. En la misma figura se distinguen dos grupos de genotipos integrados con base en su rendimiento y estabilidad, así el primer grupo lo forman los genotipos Gigant (1), Norteña (4), 94-02-01 (7), 98-14-01(8) y 96-01-01(9) con rendimiento total por encima de la media general ( $25.667t\ ha^{-1}$ ) e interacciones positivas. Conforme a la interpretación AMMI, se consideran como inestables por presentar coeficientes de CP1 altos y positivos. El segundo grupo lo conforman los genotipos Bayonera (5), Nieder (6) y Alpha (1); que muestran medias de



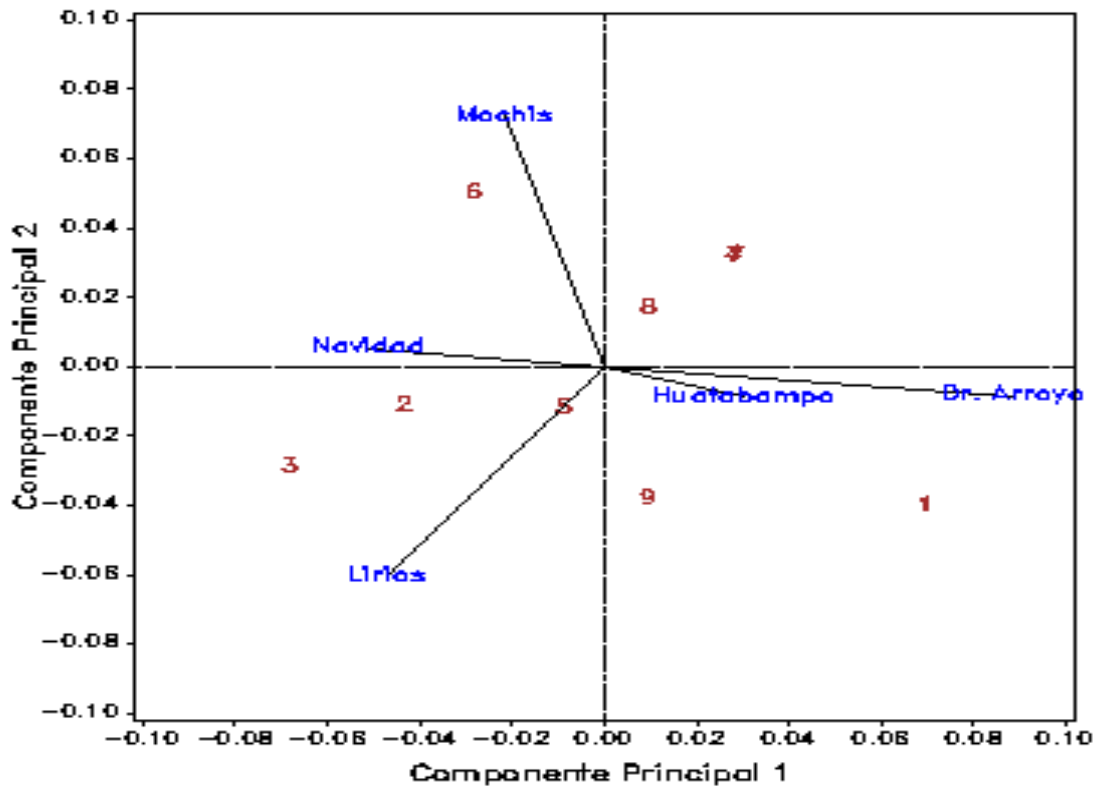
producción total a través de los ambientes por debajo de la media general (intersección de las dos líneas) y con interacciones negativas, catalogando a la variedad Atlantic (3) como la menos estable. Los genotipos más deseables fueron; 96-01-01(9), Bayonera (5) y 98-14-01(8). La variedad Bayonera ha sido reportada también como estable en ambientes del Noreste (Parga *et al.*, 2005).

Con relación a los ambientes, la figura 4.12 muestra tres grupos: El primero incluye Dr. Arroyo y Huatabampo con interacciones positivas y alta producción promedio por lo que se catalogan como ambientes deseables para la producción de papa. Mochis con interacciones pequeñas y negativas, mientras Lirios de mayor magnitud. Las localidades de Dr Arroyo, Huatabampo y Mochis tienen en común que están ubicadas a altitudes menores de 2000 msnm bajo riego y Lirios a 2800 msnm bajo condiciones de temporal. El segundo grupo lo conforman las localidades Navidad y E. Zapata, y clasificadas como inestables con coeficientes altos y negativos. Estas localidades tienen en común la alta incidencia de insectos vectores.



**Figura 4.12** Distribución de genotipos y ambientes con base al rendimiento total y el primer componente.

En lo referente a la producción comercial el análisis de la interacción genotipo x ambiente se hizo solo con cinco localidades, debido a que la localidad de E. Zapata, no presentó rendimiento comercial (Figura 4.10). En la Figura 4.13 se observa que la localidad de Dr. Arroyo al igual que para rendimiento total presenta el mayor poder discriminatorio.

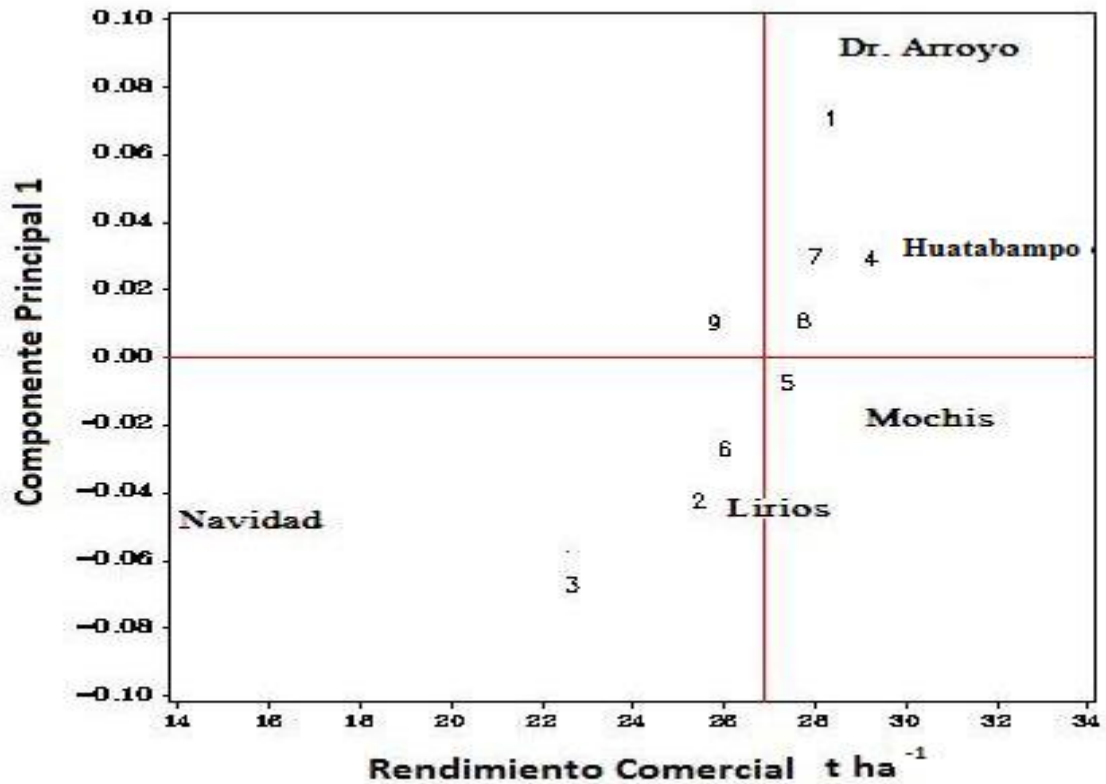


**Figura 4.13. Distribución de genotipos y ambientes para el rendimiento comercial y los primeros dos componentes.**

Para las localidades de Mochis y los Lirios, se observa similar longitud de sus vectores aunque opuestos en su poder discriminario al presentar ángulo superior a los  $90^\circ$ . Navidad puede ser una localidad representativa de las dos al presentar un ángulo menor de  $90^\circ$  dando resultados más confiables. En esta figura se detectan al igual que para el rendimiento total tres ambientes contrastantes: 1) Dr. Arroyo y Huatabampo, 2) Lirios y 3) Mochis.

De nueva cuenta, para esta variable los ambientes presentaron interacción cruzada, originando cada una de ellos una clasificación diferente de los genotipos. Los genotipos Gigant (1) y 96-01-01(9) tuvieron mejor comportamiento en las localidades de Dr. Arroyo y Huatabampo. Para la localidad de los Lirios, la

variedad Bayonera (5) fue la de mejor adaptación. El genotipo Atlantic (3) se adapta a las localidades de Navidad y los Lirios, al estar intermedio su posición en ambas localidades. El genotipo Alpha (2) expresó mejor su potencial comercial en la localidad de Navidad. Para los Mochis al igual que para el rendimiento total el genotipo Nieder presentó el mayor rendimiento comercial. Se puede decir que los genotipos 98-14-01(8), Norteña (4) y 94-02-01 (7) presentan adaptación a las localidades de Dr. Arroyo, Huatabampo y Mochis al quedar intermedios entre los vectores de dichas localidades. De acuerdo a esto, los genotipos pudieron expresar su potencial ya que son de madurez tardía y en estas localidades se tienen menor presión de vectores o con mayor eficiencia de control de los mismos. En lo referente a la media de rendimiento comercial a través de ambientes y considerando el CP1 (Figura 4.14), se definen tres grupos de genotipos. El grupo 1 está conformado por los genotipos Gigant (1), Norteña (4) y 94-02-01 (7) considerándose como inestables por presentar coeficientes del CP1 altos y positivos siendo Gigant (1) el más inestable de este grupo. El grupo dos incluye a los genotipos Bayonera (5), 98-14-01(8) y 96-01-01(9) que son los que presentan los coeficientes de CP1 cercanos al cero y que se consideran como estables. El grupo tres consiste de los genotipos Alpha (2), Atlantic (3) y Nieder (6), que conforme a la interpretación AMMI, se consideran como inestables por presentar coeficientes de CP1 altos y negativos, que muestran medias de rendimientos a través de ambientes por debajo de la media general. Atlantic (3) fue el más inestable por su mayor interacción negativa con la media más baja a través de los ambientes.



**Figura 4.14 Distribución de genotipos y ambientes con base al rendimiento comercial y el primer componente.**

Con respecto a los ambientes se definen dos grupos por su rendimiento comercial. El primer grupo lo conforman Dr. Arroyo, Huatabampo y Mochis, clasificados como inestables por tener coeficientes para el eje 1 de CP altos y positivos (para Dr. Arroyo y Huatabampo) y negativo (Mochis). Las tres localidades tienen en común menor incidencia de insectos vectores o mejor control de los mismos. El segundo grupo lo conforman Navidad y Lirios, clasificadas como inestables por sus coeficientes de CP1 altos y negativos. La baja producción que presenta Navidad fue por la alta incidencia de insectos vectores a la emergencia, mientras que en los Lirios fue por las condiciones de temporal que prevalece en esta localidad.

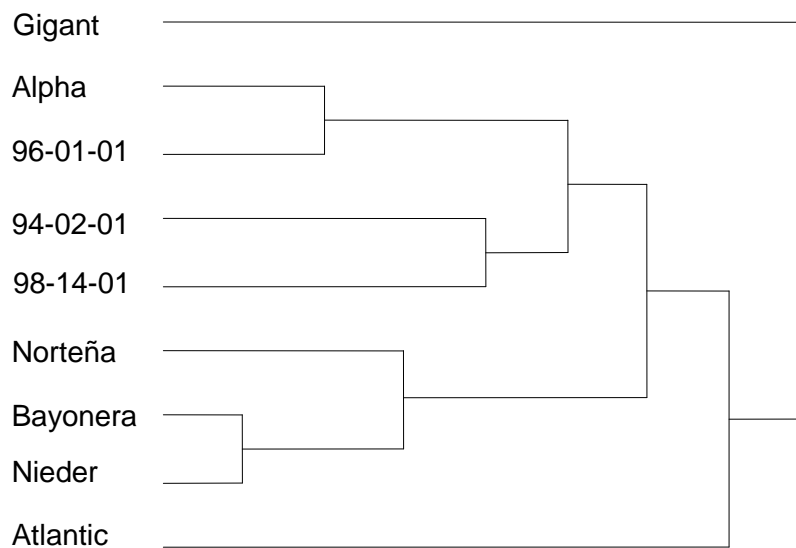
Los genotipos registraron un mismo patrón para ambas producciones en sus interacciones, por lo que los genotipos Gigant (1), Norteña (4) y 94-02-01 (7), se adaptan mejor a las localidades de Dr Arroyo y Huatabampo. Las interacciones de los genotipos Bayonera (5), 98-14-01(8) y 96-01-01(9) son las más bajas por lo tanto se consideran estables al mostrar interacciones menores de 10 (Salmerón *et al.*, 1996; Crossa *et al.*, 1990). Los genotipos Alpha (2), Atlantic (3) y Nieder (6) presentan mejor adaptación a los ambientes Navidad y Lirios.

Tomando en cuenta los datos de las localidades (Cuadro 3.3) en la conformación de los grupos, el factor que más incide son los insectos vectores y su control. De acuerdo a esto las localidades de Emiliano Zapata y Navidad N. L. son adecuadas para seleccionar a tolerancias o resistencias a virus y fitoplasmas por su alta incidencia de insectos vectores. Para ambas producciones a través de las localidades los genotipos Bayonera (5), 98-14-01(8) y 96-01-01 (9) son los más estables. Las variedades Alpha (2) y Atlantic (3) presentan menos rendimiento total y comercial en relación a la media y con interacciones grandes y negativas. La variedad Gigant (1), presentó interacciones grandes y positivas superando a las medias de rendimiento, por lo que es buena opción para ambientes más tecnificados y con bajas poblaciones o buen control de insectos vectores.

Se considera que hay un parentesco cercano entre todos los cultivares norteamericanos así como entre los europeos, ya que no se ha hecho un esfuerzo técnico importante encaminado a ampliar su base genética. Es conocido que cuando se usan estos cultivares en el mejoramiento genético la progenie resultante tendrá algún grado de endogamia debido al parentesco entre sus progenitores, lo que puede reducir su rendimiento y estabilidad (Estrada, 1999);

esta situación ha ocasionado una fuerte dependencia hacia el uso de agroquímicos, debido a la baja resistencia a las enfermedades y a la falta de adaptación de los cultivares a las condiciones adversas (Spiertz et al., 1996).

Para las características de altura de planta (Figura A1), días a flor (Figura A2) y número de tallos (Figura A3) los genotipos evaluados mostraron diferente respuesta a la interacción. Para altura de planta la variedad Norteña y el clon 94-02-01, fueron los más estables, mientras que para días a floración la variedad Atlantic es la que menos interacciona con el ambiente y en número de tallos que aunque, es una característica intrínseca del genotipo por el tamaño de tubérculo-semilla que se utilice se detectaron los clones 98-14-01(8) y 96-01-01(9) como los más estables.



**Figura 4.15. Agrupamiento de genotipos de papa con base en las características agronómicas, de calidad y de daño por punta morada.**

El análisis de conglomerados aplicado a las características agronómicas, calidad industrial y a características relacionadas con el síndrome de la punta morada en esta investigación en papa, resultó ser una herramienta útil ya que agrupó a aquellos genotipos parecidos entre sí en base a las características evaluadas (Cuadro A3 y A4); mostrando cuatro grupos de interés (Figura 4.15).

En el cuadro 4.7 se presentan cuatro grupos. El grupo I está integrado solo por la variedad Gigant, con un rendimiento medio de 26.431 y 28.330 t ha<sup>-1</sup> total y comercial respectivamente. Como característica sobresaliente de este cultivar es su resistencia al manchado de la pulpa (0%), coincidiendo con reportes (Cadena, 1996), que indican dicha cualidad, además de no presentar floración (Cuadro A 3). El grupo II, lo conforman los genotipos Alpha, 94-02-01, 96-01-01 y 98-14-01 y el grupo III incluye a las variedades Norteña, Nieder y Bayonera. Al comparar las características agronómicas y de calidad entre ambos grupos, no se detecta diferencia y las características que los hacen diferentes es el grado de susceptibilidad en planta y tubérculo al síndrome de la punta morada. Los genotipos que conformaron este grupo II presentaron mayor resistencia al síndrome de la punta morada con un 47,34 y 29% menos plantas con daño en relación a los grupos I, III y IV respectivamente y un 150 y 140 % más de tubérculos sin síntomas de manchado en relación a los grupos III y IV. A excepción de la variedad Alpha que es de Holanda, los demás genotipos son de México (INIFAP), y tienen como característica principal resistencia (Norteña, 98-14-01, 96-01-01y 94-02-01) o buen grado de tolerancia (Nieder y Bayonera) al tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*). Alpha es una variedad rústica (NIVAP, 2007) y por lo mismo fue la principal variedad en México desde 1955 que



inicio el cultivo (Delgado, 1958), hasta mediado de la década de los 90 en que se introdujeron cultivares precoces y con características deseables para la industria pero altamente susceptible al tizón tardío y a las condiciones adversas de México (Parga *et al.*, 2007).

Cuadro 4.7. Valores promedio por grupo de características agronómicas, de calidad y daño del síndrome de la punta morada.

Características	Grupos de genotipos			
	I	II	III	IV
	(1)	(4)	(3)	(1)
Altura (cm)	46.944	64.459	62.907	44.444
Número de tallos	3.667	4.042	3.778	4.222
Días a flor	-	46.708	45.648	40.111
Rendimiento total t ha <sup>-1</sup>	26.431	26.125	26.249	21.322
Rendimiento comercial t ha <sup>-1</sup>	28.330	27.199	27.570	22.659
Contenido de sólidos (%)	17.8	21.235	19.360	19.980
Calidad de hojuela (%)	48	81.650	79.600	83.800
Plantas con síndrome de PMP (%)	49	33.400	44.867	43.000
Tubérculos manchados (%)	0.0	16.500	41.278	39.667

Delgado (1958), reporta que la base de mejoramiento de papa por resistencia al tizón tardío en Europa fueron las especies silvestres de México ya que presentan alto grado de resistencia al patógeno, posiblemente debido a lo anterior, Alpha al ser de las primeras variedades comerciales tenga cierto rasgos con el germoplasma mexicano (rusticidad). La relación tan estrecha de las características

entre el germoplasma mexicano se debe a que provienen de cruces de *Solanum tuberosum* con la especie silvestre *S. demissum*, utilizada principalmente en la obtención de germoplasma resistente al tizón tardío (Niedehauser, 1993).

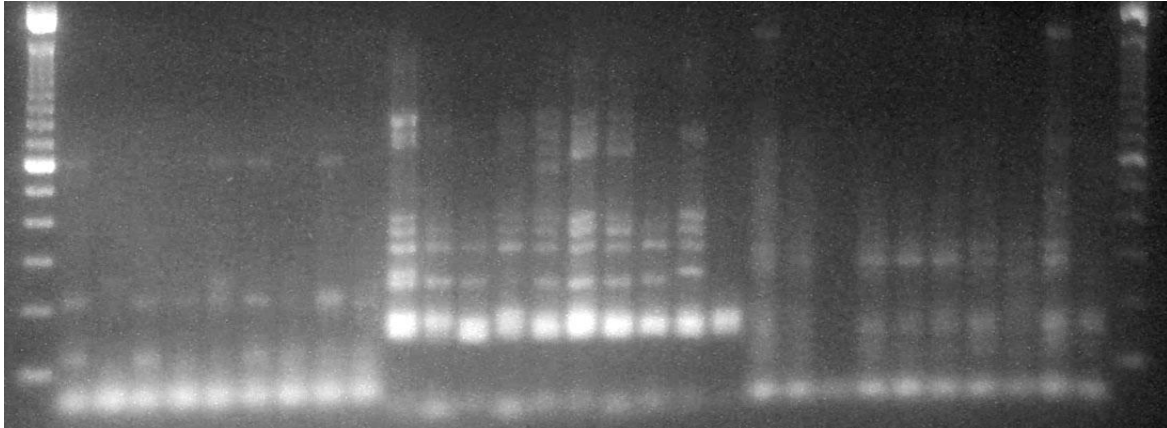
El grupo IV lo formó únicamente la variedad Atlantic, con un rendimiento medio de 21.322 y 22.659 t ha<sup>-1</sup> total y comercial respectivamente e inferiores a los tres grupos anteriores, además de tener un porte compacto y ser más precoz a la floración.

De acuerdo a los resultados el grupo I conformado únicamente por la variedad Gigant fue el mejor al obtener el más alto rendimiento y cero manchado de pulpa.

#### **IV.4 Caracterización molecular de los 10 genotipos seleccionados por tolerancia al síndrome de la punta morada.**

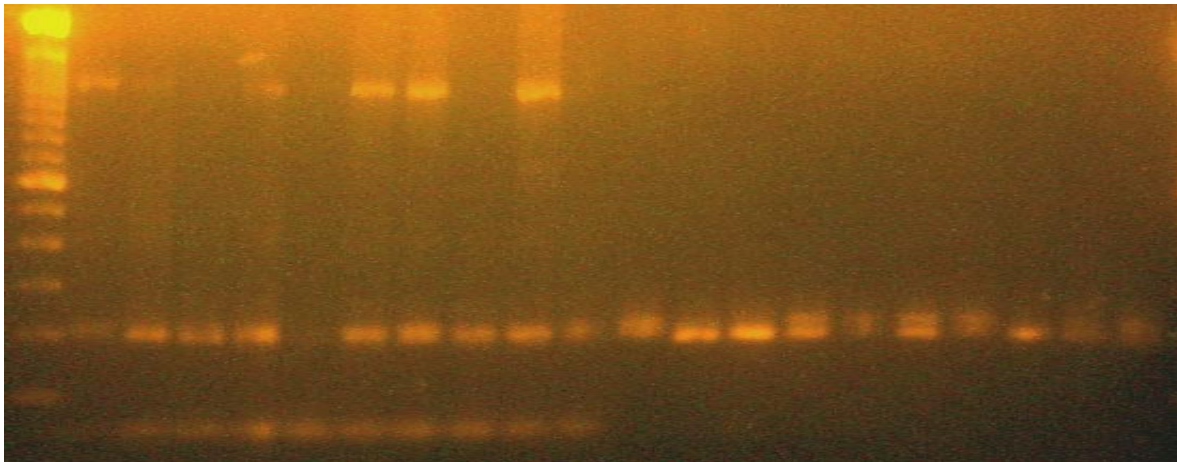
Los 10 genotipos seleccionados por su tolerancia al síndrome de la punta morada, pudieron ser diferenciados mediante la técnica de SSR ó Microsatélites a pesar de la estrecha relación genética que existe entre algunos de los materiales como es el caso de los clones 94-02-01 y 98-14-01 (Figura 4.16 y 4.17). Se amplificaron un total de 28 fragmentos (17.9 en promedio), el 78.57% fueron polimórficos y el 21.43% fueron monomórficos. El tamaño de los fragmentos amplificados fue de 70 a 1200 pares de bases, aunque se observaron fragmentos de mayor y menor peso molecular, estos no fueron incluidos para el cálculo de las relaciones genéticas entre los diferentes genotipos. Además del alto nivel de polimorfismo observado con la técnica de SSR y los iniciadores utilizados, se puede adicionar que esta técnica es reproducible, de bajo costo y alta confiabilidad (Mora-Herrera *et al.*, 2008).

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 M



**Figura 4.16. Amplificación mediante la técnica de SSR utilizando diferentes iniciadores y DNA de 10 genotipos de papa.** Carriles M: Marcador de Peso Molecular Ladder 100. Carriles 1-9: Norteña, Alpha, Atlantic, 960101, 940201, 981401, 91-29-10, Bayonera, y Nieder, con los iniciadores M7F/M8R. Carriles 10-19: Norteña, Gigant, Alpha, Atlantic, 960101, 940201, 981401, 91-29-10, Bayonera y Nieder, con los iniciadores M9F/M10R. Carriles 20-29: Norteña, Gigant, Alpha, Atlantic, 960101, 940201, 981401, 91-29-10, Bayonera y Nieder, con los iniciadores M11F/M12R.

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

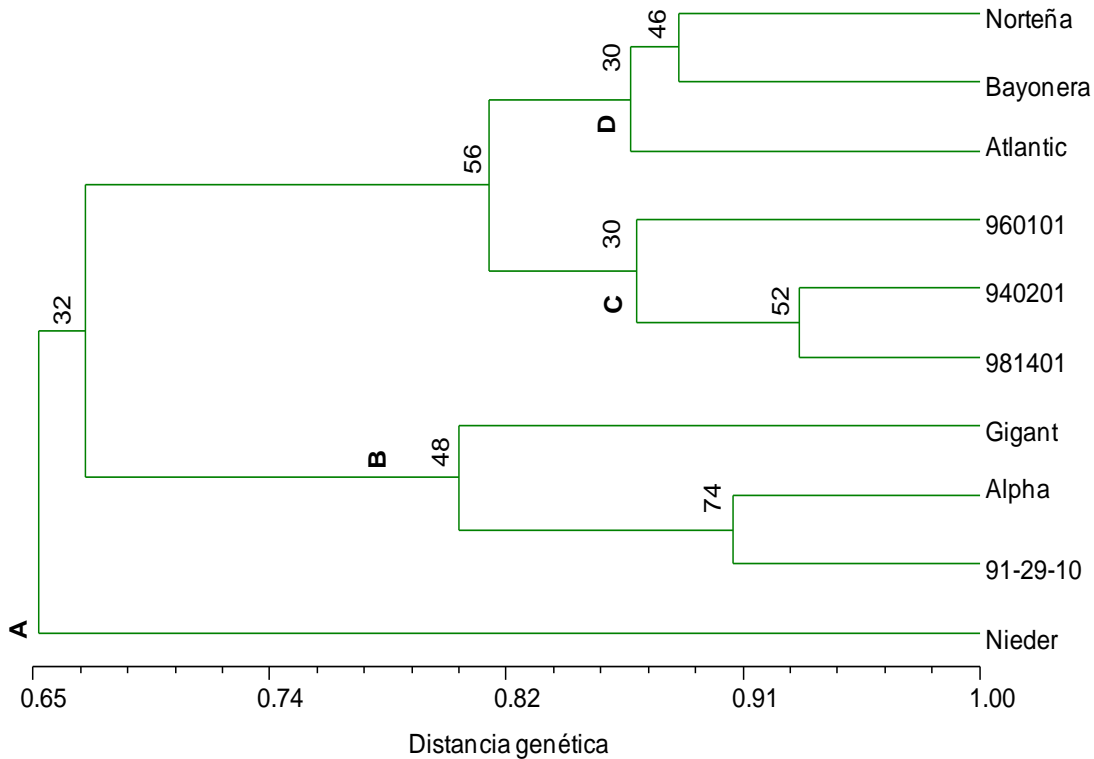


**Figura 4.17. Amplificación mediante la técnica de SSR utilizando diferentes iniciadores y DNA de 10 genotipos de papa.** Carril M: Marcador de Peso Molecular Ladder 100. Carriles 1-10: Norteña, Alpha, Atlantic, 960101, 940201, 981401, 91-29-10, Bayonera y Nieder, con los iniciadores M3F/M4R. Carriles 11-20: Norteña, Gigant, Alpha, Atlantic, 960101, 940201, 981401, 91-29-10, Bayonera y Nieder, con los iniciadores M9F/M10R.

Con base en lo anterior, podemos inferir que los marcadores utilizados serían de gran interés en la caracterización molecular de los diferentes genotipos de papa que se cultiven en México, así como de los clones promisorios que generen los programas de papa del INIFAP, con el objeto de seleccionar materiales de interés particular, así como salvaguardar la identidad y propiedad de los mismos.

En el dendrograma generado se observan 4 grupos principales, la variedad Nieder (Grupo A), fue genéticamente la más contrastante del resto de los materiales y formo un grupo aparte (Figura 4.18). La divergencia de esta variedad con el resto de los genotipos evaluados puede deberse a que es el producto de la cruce de Murca que es una variedad mexicana con Nook Sack, este último tiene como progenitor a la variedad Kennebec y un clon introducido (A501-13) (Barclay, 1997), que ha mostrado alta variabilidad genética.

El grupo B, está conformado por las variedades Gigant, Alpha y el clon 91-29-10, observándose mayor distancia genética entre Gigant en relación a Alpha y el clon 91-29-10, estos dos últimos genotipos forman un subgrupo dentro del grupo B. La mayor similitud genética observada entre Alpha y el clon 91-29-10 en relación a la variedad Gigant se explica porque la variedad Alpha es progenitor del clon 91-29-10, estos resultados coinciden con lo reportado por Estrada (1999). Los clones 94-02-01, 96-01-01 y 98-14-01, del programa de papa del Campo Experimental Toluca del INIFAP constituyeron el grupo C. La conformación de este grupo sugiere que los genotipos en él contenido poseen mayor proporción de germoplasma mexicano usado en la hibridación (Cuadro 3.1).



**Figura 4.18. Distancias genéticas entre diferentes genotipos de papa, calculadas por el método de similitud genética propuesto por Nei y Li (1979).**

El parecido entre los clones de este grupo se deben a que en sus cruzas se utilizaron genotipos mexicanos, que provienen de cruzas de *Solanum tuberosum* con *Solanum demissum*, utilizada principalmente en la obtención de germoplasma resistente al tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* (Niederhauser, 1993).

El grupo D está conformado por las variedades Norteña, Atlántic y Bayonera. Estas variedades tienen parentesco genético, ya que en todas ellas participan como progenitores clones de origen norteamericano (Parga *et al.*, 1999; Parga *et al.*, 2007; Anónimo, 1987). Las variedades Norteña y Bayonera tienen mayor similitud genética entre ellas en relación a la variedad Atlantic y constituyen un subgrupo del grupo D. Una característica sobresaliente en el germoplasma norteamericano y

europeo es su parentesco tan cercano, ya que no se ha hecho un esfuerzo técnico importante encaminado a ampliar su base genética. Es conocido que cuando se usan estos genotipos en el mejoramiento genético la progenie resultante tendrá algún grado de endogamia debido al parentesco entre sus progenitores (Estrada, 1999). Referente a lo anterior, los clones mexicanos presentan alto grado de parecido sin embargo, estos han sido desarrollados utilizando germoplasma con resistencia a tizón tardío con mayor variabilidad en sus progenitores, que les permite mayor adaptación.

El intervalo de confianza para los grupos formados en cada nodo del dendrograma, se calculó mediante 1000 repeticiones de muestreo con reemplazo de los datos originales (método de Felsenstein, 1985). Los valores obtenidos en los diferentes nodos formados fluctuaron de un 30 hasta un 74%, estos valores indican lo robusto de los grupos formados para cada nodo, refleja la estructura de la población y se deduce que el error de muestreo es mínimo. La distancia genética observada entre todos los materiales incluidos en este estudio fluctuó del 11 al 35%, lo que indica que existe gran variabilidad genética, misma que puede ser aprovechada en programas de mejoramiento genético orientado a la búsqueda de variedades comerciales resistentes o tolerantes al síndrome de punta morada.

## V. CONCLUSIONES

El síndrome de la punta morada sigue siendo un grave problema en la producción de papa en el Noreste de México, tanto por las pérdidas que ocasiona en producción como en calidad, debido a lo cual los productores tienden a realizar frecuentes aplicaciones para obtener producción comercial.

En la evaluación del germoplasma bajo condiciones de campo sin control químico de insectos vectores, las diferencias detectadas entre los genotipos indican la variabilidad genética presente. Dentro de los grupos generados, el grupo 2 conformado por 53 genotipos resultó el más tolerante, seleccionando en este grupo los genotipos Gigant, Alpha Norteña, Bayonera, Nieder, Atlantic, 91-2910, 98-14-01, 94-02-01 y 96-01-01, por su producción y tolerar el manchado del tubérculo cuando no se controlan vectores por medios químicos.

Existió variabilidad entre los genotipos caracterizados por su actividad enzimática de la peroxidasa (POX). La mayor actividad POX la presentaron el clon 98-14-01, seguido por los genotipos Alpha, Norteña y 96-01-01. Además, se detectó una relación, que pudo estar dada por la acción de la peroxidasa (POX) con el inicio de primeros síntomas, días a muerte, intervalo de inicio a muerte, mayor altura y

cobertura. Sin embargo, presentan asociación negativa con la producción por planta.

Los genotipos más estables en producción comercial y total, fueron; 96-01-01, Bayonera y 98-14-01. Las localidades de Emiliano Zapata y Navidad N. L., son adecuadas para seleccionar a tolerancias o resistencias a virus y fitoplasmas por su alta incidencia de insectos vectores.

De acuerdo a la relación genética entre los genotipos, la variedad Nieder fue la más divergente y puede utilizarse en cruzamientos para ampliar la variabilidad por tolerancia al síndrome.

Es urgente trabajar en el manejo integrado de vectores e iniciar el mejoramiento de poblaciones de papa por resistencia múltiple, como la alternativa más viable y económica para una producción sustentable de papa.



## VI. BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G. N. 1996. Fitopatología. 2da. Edición. Editorial Limusa. México. 838 p.
- Akkaya, M. S., Bhagwat, A. A. and Cregan, P.B. 1992. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics* 132:1131-1139.
- Alba, C. M., Milrad, F. S. and Tigier H.A. 2000. Phenoloxidase of peach (*Prunus persica*) endocarp: Its relationship with peroxidases and lignifications. *Physiol. Plant.* 109:382-385.
- Allen R. D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Physiol. Plant.* 107: 1047-1054.
- Almeyda, L. I. H., Sánchez S. J. A. y Garzón, T. J. A. 2004. Detección molecular de fitoplasmas en papa. *In: XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. Buenavista, Saltillo, Coahuila.* p. 4-13.
- Almeyda, L., I. H. Rubio C., O. A. y Zavala Q., T. E. 1999. Determinación de la implicación de fitoplasmas con la expresión sintomática de la punta morada de la papa (*Solanum tuberosum*). IV Simposio de Ciencia y Tecnología. Desarrollo Agropecuario. SEP-CONACYT. Monterrey, N.L., México. 45 p.
- Almeyda-León, I. H., O. Rubio, M. A. Cadena-Hinojosa, M. Díaz, T. E. Zavala, M. A. Rocha y A. Díaz. 1999. Implementación de técnicas moleculares para la detección del agente causal de la punta morada de la papa en plantas e insectos vectores. Proyecto de investigación, Laboratorio de Patología Molecular-Monterrey. INIFAP, Informes de avances. 19 p.
- Almeyda- León, I. H., M. A. Rocha-Peña, J. Piña-Razo and J. P. Martínez-Soriano. 2001. The use of polymerase chain reaction and molecular hybridization for detection of phytoplasmas in diferente plant species in Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 19:1-9
- Álvarez, T. M. C. y Espinosa, B. F.. 2003. Jasmonatos y Salicilatos: Hormonas clave en las reacciones de defensa de las plantas y de comunicación en el ecosistema. *La Ecofisiología Vegetal: Una Ciencia en Síntesis.* Ed Paraninfo S. A. pp. 633-724.

- Ames, de I. T. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa. The American Phytopathological Society. S. Paul, Minnesota, EUA. 166p.
- Anderson M.D., Prasad, T. K. and Stewart, C. R. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiology*. 109:1247-1257.
- Anónimo, 1986. Integrated pest management for potatoes in the Western United State. University of agriculture, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 3316. pp 11-15.
- Anónimo, 1987. Atlantic Canada Potato Guide. Atlantic Provinces Agricultural Services Co-Ordinating Committee. Publication 1300/87. 46p.
- Arslan, A., P. M. Bessey., K. Matsuda and N. F. Oebker. 1985. Physiological effects of psyllid (*Paratrioza cockerelli*) on potato. *American Potato Journal* 62:9-22.
- Ashkenazi, V., E. Chani, U. Lavi, D. Levy, J. Hillel and R. E. Veilleux. 2000. Development of microsatellite markers in potato and their use in phylogenetic and fingerprinting analysis. *Genome*. 44:50-62.
- Asscherman, E., J. A. Bokx, H. Brinkman, C. B. Bus, P. H. Hostman, C. P. Meijers, A. Mulder, K. Scholte, L. J. Turkensteen, R. Wustman and D. E. Van der Zaag. 1996. Potato disease. NIVAA (Netherlands Potatoe Consultive Institute). Deen Haag, Holland. p.52.
- Avise, C. J. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, New York...
- Baird, E., S. Cooper-Bland, R. Waugh, M. De Maine and W. Powell. 1992. Molecular characterization of inter-specific and intra-specific somatic hybrids of potato using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Molecular General Genetics*. 233:469-475.
- Banttari, E. 1993. Virus, viroides and micoplasmas disease. *Potato Production and Pest Management in North Dakota and Minnesota*, NASU. Extension Service. pp. 70–71.
- Barclay, M. G. 1997. Variedades de Papa en Canadá. Departamento de Agricultura y Desarrollo Rural de la Provincia de Brunswick. p83.
- Bayer, 2005. La paratrioza o pulgón saltador del tomate y la papa. Boletín técnico. Bayer de México, S.A. de C.V. México, D.F. 24p
- Bayer, 2008. Manual del tizón tardío (*Phytophthora infestans*). Información Técnica. Bayer de México, S. A. de C. V. 45p.

- Bidochka, M. J., M. A. McDonald, R. J. St. Leger and D. W. Roberts. 1994. Differentiation of species and strains of entomopathogenic fungi by random amplification of polymorphic DNA (RAPD). *Current Genetics*. 25:107-113.
- Blood, H. L., B. L. Richards and F. B. Wann. 1993. Studies of psyllid yellows of tomato. *Phytopathology* 23:930-936.
- Bokx, J. A. 1980. Viruses of potatoes and seed-potato production. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, the Netherlands. 291p.
- Bolwell, G. P. and P. Wojtaszek. 1997. Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defense – a broad perspective. *Physiol. Molec. Plant Pathol.* 51:347-366.
- Borrego, E. F., Fernández, B.J M., López B. A., Parga, T. V. M., Murillo, S. M. y Carvajal, A. A. 1999. Correlación y componentes principales de variación en variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Agronomía Mesoamericana*. Vol 10:1-7.
- Borrego, E. F., López B. A., Fernández, B.J M., Murillo, S. M., Rodríguez, S.A., Reyes, A. y Martínez, J. M. 2001. Evaluación agronómica de tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) *Agronomía Mesoamericana*. Vol 12(1):49-56.
- Bolwell GP and Wojtaszek P. 1997. Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defense a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 51:347-366.
- Bowler, C., M. Van Montagu and D. Inze. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 83-116.
- Brown, C.R., Salazar, L., Ochoa, C. and Chuquillanqui. 1984. Strain-specific immunity to PVX-hb is controlled by a single dominant gene. Abstract. 9<sup>th</sup> EAPR Triennial Conference. Interlaken, Zwitterland.
- Cadena, H. M. A. 1974. Estudios sobre la “Punta Morada” de la Papa. Tesis de Maestría. Centro de Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Chapingo, Edo. De México. 70 p.
- Cadena, H. M. A. 1999. Potato purple top in Mexico: Effects of plant spacing and insecticide application. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 17:91-95.
- Cadena, H. M. A., y A. J. Galindo. 1985. Reducción de la incidencia de la “Punta Morada” de la Papa por medio de fechas de siembra, genotipos de planta y aplicación de insecticidas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 3:100-104.
- Cadena-Hinojosa M. A., Guzmán- Plazola, R., Díaz-Valasis M., Zavala-Quintana., E. T., Magaña-Torres, O. S., Almeyda-León. I. H., López-Delgado, H., Rivera-Peña, A. y Rubio-Covarrubias, O. 2003. Distribución, incidencia, y severidad del pardeamiento y la brotación anormal en los tubérculos de

- papa en Valles Altos y Sierras de los estados de México, Tlaxcala y el Distrito Federal, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21(3):248-259.
- Cadena-Hinojosa, M. A. 1987. Efecto de genotipos de plantas, aplicaciones de antibióticos e insecticidas en el control de la "Punta Morada de la Papa". *Agricultura Técnica en México.* 13:3-13.
- Cadena. Hinojosa, M. A. 1993. La punta morada de la papa en México: Incidencia y búsqueda de resistencia. *Agrociencia.* 4:247-256.
- Cadena. H. M. A. 1996. La punta morada de papa en México: II Efecto de cubiertas flotantes, cultivares y productos químicos. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 14:20-24.
- Cárdenas, S. E., P.G. Valdovinos, H.M.A. Cadena y B.E. Estañol. 1992. Detección de organismos tipo micoplasmas en plantas de papa con los síntomas de "punta morada". *Memorias del XXI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología.* Cuernavaca, Morelos, México. 62 p.
- Carrasco, A., J. I. Ruiz de G y E. Ritter. 1998. Caracterización morfológica, cariotípica y molecular de tres somaclones de *Solanum tuberosum* L. obtenidos mediante cultivo de protoplastos. *Invest. Agr. Prod. Veg.* 13(3):385-391.
- Carter, R. D. 1950. Toxicity of *Paratrioza cockerelli* to certain solanaceous, Ph.D. Dissertation. University of California Berkeley. California, USA. 128 p.
- Cázares, M. I. G., de la Jara, A. F., Rodríguez, D. A. M. y Cadena, H. M. A. 2003. Comparación de patrones electroforéticos de proteínas e isoenzimas en tubérculos sanos y con síntomas de punta morada de siete variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología.* 21:102-108.
- Chávez, A. J. L. y P. E. López. 1990. Apuntes de mejoramiento genético de plantas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp.18-19.
- CIP. 1988. Informe Anual del Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 226p.
- Clare, B., Weber, D. J. and Stahmann, M. A. 1978. Peroxidase and resistance to ceratocystis in sweet potato increased by volatile materials. *Science* 153:62-63.
- Claridades-Agropecuarias, 2008. Gestión de las plagas y enfermedades de la papa. ASERCA. México, D. F.
- Cornelius, P. L. 1993. Statistical test and retention of term in additive main effects and multiplicative interactions model. *Crop Sci.* 33:1186-1193.
- Coutiño, E. B. y V. A. Vidal. 2003. Estabilidad del rendimiento de grano de híbridos de maíz usando mejores predictores lineales insesgados. *Agrociencia* 37:605-616.

- Cranshaw, W. S. 1993. Annotated bibliography of potato/tomato psyllid, *Paratrioza cockerelli* Sulc. (Homoptera: Psyllidae). Colorado State University, Fort Collins. Agricultural Experiment Station. USA. 52 p. (Bulletin TB93-5).
- Cranshaw, W. S. 1994. The Potato (Tomato) Psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) as a pest of potatoes. pp. 83-84. In: G.W. Szender, L.M., Powelson, R.K. Jansson, And K.V. Raman (eds.). Advances in Potato Pest Biology and Management. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 626 p.
- Cranshaw, W. S. 2002. Manejo del psílido de la papa/tomate el cultivo de la papa. Memorias del XI Congreso Nacional de Productores de Papa. Septiembre 26-28, 2002. León, Guanajuato, México. pp. 46-51.
- Crossa, J. H. G., Jr. Gauch and R. W. Zobel. 1990. Additive main effects and multiplicative interaction analysis of two international maize cultivar trials. *Crop Sci.* 30:493-500.
- Cruz, M. R. 1992. Generalización de modelos para el análisis de la interacción genotipo-ambiente. *Rev. Fitotec. Mex.* 15(2) 149-158.
- Daniels, L.B. 1954. The nature of the toxicogenic condition resulting from the feeding of tomato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc). Ph. D. Dissertation. Univ. Minnesota. 119pp.
- Davis, H. V. 1998. Physiological mechanisms associated with the development of internal necrotic disorders of potato. *Amer. J. of Potato Res.* 75:37-44.
- Delgado, S. S. 1958. Estudio sobre selecciones de papa resistentes al tizón tardío, *Phytophthora infestans* (Mont.) DBy., en el Valle de Toluca, Estado de México. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Agricultura "Antonio Narro." Buenavista, Saltillo, Coah. 95p.
- Doi, M., M. Teranaka, K. Yora, and H. Asuyama. 1967. Mycoplasma or PLT group like organisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches broom, aster yellows, or paulownia witches broom. *Annals of the Phytopathological Society of Japan.* 33:259-266.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:530p.
- Ebdon, J. S., A. M. Petrovic and R. W. Zobel. 1998. Stability of evapotranspiration rates in Kentucky Blue grass cultivars across low and high evaporative environments. *Crop Sci.* 6:36-40.
- Eberhart, S. A. and W. A. Russell. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.* 6:36-40.

- Ecale, C. L. and E. A. Backus. 1995. Mechanical and salivary aspects of potato leafhopper probing in alfalfa stems. *Entomol Exp Appl* 77: 121-132.
- Elstner, E. F. and Oswald, W. 1994. Mechanism of oxygen activation during plant stress. *Proc. Roy. Soc. Edin.* 102B:131-154.
- Estrada, R. N. 1983. Taxonomía, genética y mejoramiento de la papa. Apuntes de curso de germoplasma. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú.
- Estrada, R. N. 1999. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Ed. Centro de Información para el desarrollo. Centro Internacional de la Papa. Libro Técnico. La Paz Bolivia.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution.* 39:783-791.
- FIRA. 2008. Fidecomiso Instituidos en Relación con la Agricultura. Memoria de cálculo de la estimación de costos de producción de una hectárea de papa comercial bajo condiciones de riego por bombeo para Coahuila – Nuevo León.
- Flanders, K. L., E. B. Radcliffe, J. G. Hawkes and F. Lauer. 1993. Association of insect resistance in wild potatoes with geographical factors and morphological and chemical defense mechanism. Summary. *Am. Potato J.* pp. 810.
- Flores, O. A., N. I. A. Alemán y Z. M. I. Notario. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Flores, T. L. M. 2005. Virus del enrollamiento de la hoja de papa, y su detección en el síndrome de la punta morada. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Saltillo, Coahuila. México. 58 p.
- Foyer C. H., H. Lopez-Delgado, J. F. Dat and I. M. Scott. 1997. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiol. Plant.* 100: 241-254.
- Foyer, C. H., P. Descourvières and K. J. Kunert. 1994. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ.* 17: 507-523.
- Fuentes del Valle, O., P. O. García y G. A. Mercado. 1960. Control de plagas y del amarillamiento de la papa con Thimet al 10% granulado en la región de Navidad, Nuevo León. II Congreso Nacional de Entomología y Fitopatología. Escuela Nacional de Agricultura Chapingo. Chapingo, Edo. de México. pp. 199-205.
- García, D. M. E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ª ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 4a. ed. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geografía. México, D. F. 217 p.
- García, S. J. y E. S. Olivares. 2001. Diagnóstico nutricional para el cultivo de papa en Coahuila y Nuevo León. Memoria del IX Congreso Nacional del Soc. Mexicana. De Ciencias Hortícolas. Oaxtepec, Mor. 81 p.
- García-Quijano, J. R. 1996. Etiología y transmisión del obscurecimiento del tubérculo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) para industria. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 65 p.
- Garza, L. J. C. 1999. Control de la marchitez de la planta y necrosis interna del tubérculo en papa en Coahuila y Nuevo León. Folleto Técnico No. 1. Campo Experimental Saltillo-CIRNE-INIFAP.
- Garzón, T. J. A., F. A. Becerra, A. Marín, A. C. Mejía y M. F. Byerly. 1992. Manejo integrado de la enfermedad "permanente del tomate" en El Bajío. *In*: Urias M., C.; Rodríguez M., R. y Alejandre A., T. (eds.). Áfidos como vectores de virus en México. Contribución a la Ecología y Control de Áfidos en México. Colegio de Postgraduados, Centro de Fitopatología. Montecillos, Estado de México. pp. 116-128.
- Garzón, T. J. A., M. R. Bujanos, F. S. Velarde, J. A. Marín, T. V. M. Parga, G. M. C. Aviles, L. I. H. Almeyda, S. A. J. Sánchez, C. J. L. Martínez y C. J. A. Garzón. 2004. *Bactericera (Paratrioza) cockerelli* Sulc., vector de fitoplasmas en México. *In*: Flores O., A.; Gallegos M., G. y García M., O. (eds.). Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp. 64-83.
- Gaspar, T. Nel, C. P., Torpe, T. and Eppin, H. G. 1982. Peroxidases 1970-1980, a Survey of their Biochemical and Physiological Roles in Higher Plants. Université de Geneve – Centre de Botanique, pp. 24-126.
- Ghislain, M., F. Rodríguez, F. Villamón, J. Núñez, R. Waugh and M. Bonierbale. 2000. Establishment of microsatellite assays for potato genetic identification. CIP Program Report. 1999-2000. pp 167-174.
- Godshalk, B. E. And Timothy, H. D. 1988. Factor and principal component analysis as alternatives to index selection. *Theor. App. Genet.* 76: 352-360.
- Goolsby, J. A. Bextine, J. E. Munyaneza, M. Sétamou, J. Adamczyk, and Bester, G. 2007. Seasonal abundance of sharpshooters, leafhoppers, and psyllids associated with potatoes affected by zebra chip disorder. *Subtrop. Plant Sci.* 59: 15-23.

- Gould, W. A. and S. Plimpton. 1985. Quality evaluation of processing. Ohio Agricultural Research and Development. pp. 1-24. (Bulletin # 1172).
- Guigon, L. C. 1994. Epidemiología de las enfermedades de la papa causadas por Hongos Fitopatógenos del suelo en el Sur de Coahuila y Nuevo León. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista Saltillo, Coahuila, México. 103 p.
- Gullner, G., Fodor, J. and Kiraly, Z. 1995. Induction of glutathione S-transferase activity in tobacco by tobacco necrosis virus infection and by salicylic acid . Pest. Sci. 45:290-291.
- Gutiérrez, G. P. 1994. Análisis estadístico multivariado. Curso de la Facultad de ingeniería. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.
- Hansen, A. K., Trumble, J. T., Stouthamer, R. And Paine, T. D. 2008. New Huanglongbing (HBL) *Candidatus* species, *C. Liberibacter psyllauros*, found to infect tomato and potato is vectored by the psyllid *Bactericerca cockerelli* (Sulc). Appl. Environ. Microbiol. In press.
- Harrison, N. A. 2005. Phytoplasm taxonomy. Página web: <http://www.uniud.it/phytoplasm/pap/harr1810.html> (consultado 20 de abril de 2007).
- Henfling, J. W. 1987. El tizón tardío de la papa: *Phytophthora infestans*. Boletín de Información Técnica No. 4. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú.
- Hernández, H. H. 2001. Asociación de los hongos *Fusarium oxisporum* Schecht y *Verticillium dahliae* Kleb. en los síntomas de la punta morada de la papa en el sur de Coahuila y Nuevo León. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Saltillo, Coahuila. México. 103 p.
- Hernández, J. S., Díaz, H. C., Rubio, C. O. y Flores, G. F. X. 2000. La industria de Papa en México: Un Diagnóstico de la Situación Actual. Departamento de Ciencias Sociales. Documento de Trabajo No.200-2. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú.39p.
- Herrera, M. M. E., H. A. López D., E. Moctezuma V., R. Martínez G., A. López L. V. J. Magallanez G. 2008. Aplicación de secuencias repetidas inter simples polimórficas (ISSR) para la identificación de genotipos de clones avanzados de papa. Cartel. XII Congreso Nacional de Papa. 27-29 Nov Los Mochis, Sinaloa, México
- Hillis, D. M. and J. J. Wienws. 2000. Molecules versus morphology in systematics. In: J.J. Wiens (ed.). Phylogenetic analysis of morphological data. Smithsonian Institution Press. Washington. pp. 1-19.
- Hillis, D. M., B. K. Mable, A. Larson, S. K. Davis y E. A. Zimmer. 1996. Nucleic Acids IV: sequencing and cloning. In: Hills D.M., C. Moritz, B.K. Mable.



- Molecular Systematics. Sinauer Associates Inc. Massachusetts. pp. 321-378.
- Hirumi, H and K. Maramorosch. 1968. Mycoplasma like bodies in the salivary glands of insect vectors carrying the aster yellow Agent. *Journal of Virology*. 3:82-84.
- Horsfall, J. G. 1979. Latrogenic disease: mechanism of action. In plant diseases. Eds. Hosrfall, J.G.; Cowling, E.B. New York, Academic Press. pp. 343-355.
- Horton, D. 1987. Production, marketing, and programs for developing countries. Westriew Press (Boulder). IT Publications (London).pp 93-109.
- Hosaka, K., M. Mori and K. Ogawa. 1994. Genetic relationships of Japanese potato cultivars assessed by RAPD analysis. *Am Potato J*. 71:535-546.
- Hull, R. 2002. Mathews Plant Virology. Fourth edition. Academic Press.
- Hunter, W. B and E. A. Backus. 1989. Mesophyll-feeding by the potato leafhopper, *Empoasca fabae* (Homoptera: *Cicadellidae*): results from electronic monitoring and thin-layer chromatography. *Environ Entomol*. 18:465-472.
- Iporra, G., V. Alvarez, N. E. N. Fernández. 1998. Como reconocer y evitar la planta morada en el cultivo de la papa. Ficha Técnica No 9. Programa de Investigación de la Papa. Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria.
- ITESM. 2003. Informe del Foro Cadena Agroalimentaria de Papa (Alta Tecnología). Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey Campus Saltillo. Saltillo, Coah. México.
- Jebara A, Jebara M, Liman F and Aouani ME. 2005. Changes en ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Journal of Plant Physiology*. 162:929-936.
- Jensen, A., P. Hamm, J. Crosslin, J. Munyaneza, A. Schreiber and K. Pike. 2004. Research and extension for washington potato industrry. *Potato progress*. Published by Washington State Potato Commision. Vol IV. Number 3.
- Jhonson R. A. and Wichern, D. W. 1988. Applied multivariate statistical analysis. 2<sup>nd</sup> ed. Englewood Cliffs, NJ, USA: Prentice-Hall;1988.
- Jia, W., J. Zhang and J. Liang. 2001. Initiation and regulation of water deficit-induced abscisic acid accumulation in maize leaves and roots: cellular volume and water relations. *J. Exp. Bot*. 52:295-300.
- Kawchuk, L. M., D. R. Lynch, J. Thomas, B. Penner, D. Sillito and F. Kulcsar. 1996. Characterization of the *Solanum tuberosum* simple sequence repeats and application to potato cultivar identification. *Am Potato J*. 73:325-335.

- Kim, J. H., H. Young., H. Y. Kim and Y. P. Lim. 1998. Estimation of Genetic Variation and Relationship in potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivars Using AFLP Markers. *Am J of Potato Res.* 75:107-112.
- Kranz, J. 1988. The methodology of comparative epidemiology. In: *Experimental techniques in plant disease epidemiology*. Springer, Berlin. pp. 279-289.
- Kunkel, L. O. 1926. Studies on aster yellows. *American Journal of Botany.* 13:646-705.
- Lagnauoi, A. and E. B. Radcliffe. 1998. Potato fungicide interfere with entomopathogenic fungi impacting population dynamics of green peach aphid. *Am J. Potato Research.* 75:19-15.
- Leach, J. G. 1939. Further experiments on the cause of "purple top wilt" of potatoes. *Phytopathology* 29:14 (Abstract).
- Leach, J. G. and C. F. Bishop. 1944. Further studies on the natura and cause of purple top wilt of potatoes. *Phytopathology* 34: 1006-1007.
- Levine A., R. Tenhaken, R. Dixon and C. Lamb. 1994. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79: 583-593.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. *Physiological Ecology*. T.T. Kozlowski. Ed. New York, Academic Press. 607 p.
- Leyva, L. N. E., Ochoa, S. J. C., Leal, K. D. S. Y Martínez, S. J. P. 2002. Multiple phytoplasmas associated with potato diseases in Mexico. *Can. J. Microbiol.* 48:1062-1068.
- Leyva-López, N.E., J. C. Ochoa-Sánchez, D. S. Leal-Klevezas and J. P. Martínez Soriano. 2002. Multiple phytoplasmas associated with potato disease in México. *Canadian Journal of Microbiology* 48: 1062-1068.
- Lodhi, M. A., M. J Daly, G. N. Ye, N. F. Weeden and B. I. Reisch. 1995. A molecular marker based linkage map of *Vitis*. *Genome* 38:786-794.
- López Flores, C. I. 2002. Estudios sobre le psílido de la papa (*Paratrioza cockerelli*) en la ración del Bajío. *Memorias del XI Congreso Nacional de Productores de Papa*. Septiembre 26-28, 2002f. León, Guanajuato, México. pp. 98-109.
- Lopez-Delgado, H., J. F. Dat, Ch. F. Foyer and I. M. Scott. 1998. Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Experimental Botany.* 49: 321, 713-720.
- Malamud, O. S., I. T. Ames and H. Torres. 1997. Potato disease management in Latin America. *Advances in Potato Pest. Biology and Management*. APS press. pp 616-626.

- Manly, B. F. J. 1986. Multivariate statistical methods: A primer. Ed. Chapman and Hall. London. 160p.
- Maramorosch, K. 1988. Potato purple top wilt. Entomology Department, Cook College, Rutgers-The State University. New Jersey USA. 456 p.
- Maramorosch, K. 1998a. Current status of potato purple top wilt. *Inter. J. Trop. Plant Dis.* 16:61-72.
- Maramorosch, K. 1998b. Potato purple top wilt. Memorias del 2<sup>o</sup> Simposio Internacional de la Papa. Toluca, Edo. de México. pp. 21-31.
- Maramorosch, K., E. Shikata and R. Granados. 1968. Structures resembling mycoplasma in disease plants vectors. Transactions of the New York Academy of Sciences 30:841-855.
- Maramorosch, K. and S. P Raychaudari. 1998. Mycoplasma Diseases of Crops Basic and Applied Aspects. Ed. Springer-Verlag. USA. 456 p.
- Martínez, S. J. P. y A. D. E. Martínez. 1999. Introducción a la fitopatología molecular. Soc. Mex. de Fitopatología. Primera edición.
- Martínez-Soriano, J.P., Leyva-López, N.E., Zavala-Soto, M.E., Beres, M., y Leal-Klevezas, D.S. 1999. Detección molecular del agente causal de la "bola de hilo" de la papa en semillas infectadas y asintomáticas. *Biología Aplicada* 16:93.
- Mehdy, M. C. 1994. Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiol.* 105:467-472.
- Mendoza, H. A. 1980. Development of lowland tropic populations. In: utilization of the genetic resources of the potato III. The International Potato Center. Lima Perú. pp. 40-55.
- Mendoza, H. A. 1989. Development of potatoes with multiple resistance to biotic and abiotic stresses. The International Potato Center Approach. pp. 627-642.
- Mendoza, H. A. 1997. Development of potatoes with multiple resistance to biotic and abiotic stresses. *Advances in Potato Pest. Biology and Management.* APS press. pp 627-642.
- Mendoza, H. and P. R. Rowe. 1977. Strategy for potato population breeding for adaptation to the lowland tropics. *Am Potato J. Summary.* pp 54.
- Michelmore, R. W. and S. H. Hulbert. 1987. Molecular markers for genetic analysis of phytopathogenic fungi. *Ann. Rev. Phytopath.* 25:383-404.

- Milbourne, D., R. Meyer, J. E. Bradshaw, E. Baird, N. Bonar, J. Provan, W. Powell and R. Waugh. 1997. Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. *Mol. Breed.* 3:127-136.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalysilic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal Chem.* 31:426-428.
- Moctezuma, G. R. 2005. Hongos de suelo y su asociación con el síndrome de la punta morada en papa en Coahuila y Nuevo León. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista Saltillo, Coahuila, México. 63 p.
- Mora, H. M. E. 2007. "Estrés oxidativo, respuesta antioxidante y tolerancia a baja temperatura en microplantas de papa *Solanum tuberosum* L." Tesis Doctoral. Posgrado en Ciencias Biológicas. UNAM.
- Mora-Herrera, M. E., López-Delgado, H. A., Moctezuma-Valadez, E., Martínez-Gutiérrez, R., López-López, A. y Magallanes-González, V. M. 2008. Aplicación de secuencias repetidas inter simples polimórficas (ISSR) para la identificación de genotipos de clones avanzados de papa. XII Cong. Nal. De Papa. Los Mochis, Sin. México. 76p.
- Mulder, A. and L. J. Turkensteen. 2005. Potato diseases. Aardappelwereld B. V. & NIVAP. Holland.
- Munyaneza, J. E. 2005. Purple top disease and beet leafhopper transmitted virescence agent (BITVA) phytoplasma in potatoes of the Pacific Northwest of the United States. *In: Haverkort, A. J. and Struik, P. C. (eds.). Potato in progress, science meets practice. Proceedings of the Potato Congress. Emmeloord, The Netherlands. pp. 211-220.*
- Murashige T and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiologia Plantarum.* 15:473- 497.
- Nei, M. and W. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 76:5269-5273.
- Niedehauser, J. S. 1993. International cooperation in potato research and Development. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31:1-21.
- NIVAP.2007. Netherlands catalogue of potato varieties. NIVAP-HOLLAND. Netherlands Potato Consultative Foundation.
- Notario, Z. M. I. 2006. Fitoplasmas y hongos fitopatógenos asociados a punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis de Licenciatura en Producción Agrícola. UAAAN. Saltillo, Coahuila. México.
- Okuda, S., J. P. Prince, R. E. Davis, E. L. Dally, I. M. Lee, B. Morgen and S. Kato. 1997. Two groups of phytoplasmas from Japan distinguished on the basis of amplification and restriction analysis of 16S rDNA. *Plant Dis.* 81:301-305.

- Parga, T. V.M., Fernández, E. J. y Sánchez, V. I. 1999. Norteña: Variedad de papa con tolerancia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*) y excelente rendimiento. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Saltillo. Folleto técnico Núm. 3. Coahuila, México. 6p.
- Parga. 2000. Devoran a la Papa: Plaga y Altos costos. Nota periodística publicada el 23 de octubre del 2000 en el periódico la PALABRA. Saltillo Coah. México.
- Parga, T. V. M., Zamora, V. V. M., González, V. V. M., García, G. S. J. y Villavicencio, G. E. E. 2005a. Interacción Genotipo Ambiente en Clones de Papa Bajo Riego en el Noreste de México. Agricultura Técnica en México. Vol. 31 Núm.1:55-64.
- Parga, T. V. M., Garcia, G. S. J., Villavicencio, G. E. E., Sánchez, S. J. A., Contreras, de la R. F. J., Arellano, G. M. A., Covarrubias, R. J. M., Rubio, C. O. A. y Fernández E. J. 2005b. Tecnología para producir papa en Coahuila y Nuevo León. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Saltillo. Folleto Técnico Núm. 5. Coahuila, México. 164p.
- Parga, T. V. M., Covarrubias, R. J. M., Almeyda, L. I. H., Zamora, V. V M., Villavicencio, G. E. E., Rivera P. A. y Rocha, R. R. 2007. Nieder, Bayonera y Enrica, Variedades de Papa para Consumo en Fresco e Industria. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Saltillo. Folleto Técnico Núm. 28. Coahuila, México. 34p.
- Parga, T. V. M. 2008a. Mejoramiento genético por resistencia a punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Detección, Diagnóstico y Manejo de la Enfermedad Punta Morada de la Papa. Ed. Parnaso. Málaga-España. pp. 49-56.
- Parga, T. V. M., Zamora, V. V M., Covarrubias, R. J. M., Borrego, E. F., López, B. A. y Almeyda, L. I. H. 2008b. Programa de mejoramiento genético por resistencia múltiple al síndrome de la punta morada de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Memoria del XII Congreso Nacional de Papa. Mochis, Sinaloa, México. 78 p.
- Peeters, J. P. and J. A., Martinelli. 1989. Hierarchical cluster analysis as a tool to manage variation in germplasm collections. Theor. Appl. Genet. 78: 42-48.
- Peloquin, S.J. and Hougas, R.H. 1959. Decapitation and genetic markers as related to haploidy in *Solanum tuberosum*. European Potato J. 2(3):176-183.
- PICTIPAPA, 1997. El tizón tardío de la papa. Folleto técnico, Metepec, Estado de México, México.
- Pletsch, D. J. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc.), its biology and control. Montana Agricultural Experiment Station Bulletin 446. 95 p.
- Ploaie, P. G. 1981. Plant diseases and vectors ecology and epidemiology. Maramorosch, K and Harris, K. F. (Eds.). Academic Press. New York, USA. 368 p.

- PROINPA. 1997. Como reconocer y evitar la planta morada en el cultivo de papa. Ficha técnica # 9. Fitopatología. Instituto Boliviano de Tecnología Agropecuaria. Programa de investigación de la papa.
- Provan, J., W. Powell and R. Waugh. 1996. Microsatellite analysis of relationships within cultivated potato (*Solanum tuberosum*). *Theor Appl Genet* 92:1078-1084.
- Radcliffe, E. B. and K. B. Johnson. 1994. Biology and management of leafhoppers on potato. In: GW Zehnder, ML Powelson, Rk Janson, and KV Raman (eds), *Advances in Potato Pest Biology and Management*. APS Press, St. Paul, MN. pp 71-82.
- Ramos, V. O., A. A. Sánchez, O. A. Flores y L. H. I. Almeyda. 2003. Detección de agentes bióticos asociados al síndrome de la enfermedad de punta morada de la papa. *Memorias del Congreso Internacional Panamerican Conference on Plant Diseases*. South Padre Island, Texas. U.S.A. p.32.
- Richards, B. L. 1931. Further studies with psyllid yellows of the potato. *Phytopathology* 21:103 (Abstract).
- Riedle-Bauer, M. 2000. Role of reactive oxygen and antioxidant enzymes in systemic virus infections of plants. *J. Phytopathology*. 148:297-302.
- Rivera, P. A. 2008. Generación de variedades de papa en México. XII Cong. Nacional de Papa. Los Mochis, Sinaloa, México. Pp. 45-48.
- Robinson, A. R. 1987. Manejo del hospedante en patosistemas agrícolas. Colegio de Postgraduados. Instituto de Fitosanidad. Montecillo, México.
- Robinson, A. R. 2000. Retorno a la resistencia. Colegio de Postgraduados. Instituto de Fitosanidad. Montecillo.
- Ross, H. 1986. Potato breeding-problems and perspectives. *Advances in plant breeding*. Supplement 13, *Journal of plant breeding*, pp. 11-18.
- Rousselle, P., Y. Robert y J. C. Crosnier. 1999. La patata. Ediciones Mundi Prensa. México. 30 p.
- Rubio, C. O. A., Almeyda, L. I. H., Ireta, M. J., Sánchez, S. J. A., Fernández, S. R., Borbón, S. J. T., Díaz, H. C., Garzón, T. A., Rocha, R. R. y Cadena, H. M. A. 2006. Distribución de la punta morada y *Bactericera cockerelli* en las principales zonas productoras de papa en México. *Agricultura Técnica en México*. Vol. 32 Núm. 2:201-211.
- Rubio, C. O. A. 1998. Manejo Integrado de la nutrición del cultivo de la papa. *Memorias del 2° Simposium Internacional de la Papa*. Toluca, México.

- Salazar, L. F. 1995. Los virus de la papa y su control. Centro Internacional de la Papa. (CIP), Lima, Perú. 226p.
- Salmerón, Z. J.J., Cabañas. B. C., Chávez, Ch. J. y Valenzuela, V. M. 1996. Agrupación de ambientes de temporal y genotipos de avena con el modelo AMMI. *Rev Fitotec Mex.* 19:151-162.
- Sanderson, M. J. and M. J. Donoghue. 1989. Patterns in levels of homoplasy. *Evolution* 44:1671-1684.
- Santiago, C. V. 2004. Epidemiología de la punta morada de la papa en la región sur de Coahuila y Nuevo León, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- SAS Institute Inc. 2002. SAS/STAT User's Guide. Versión 9.0. SAS Institute Inc., Cary, N.C.
- Scott, G y L. Maldonado. 1998. Congreso nacional de productores de papa. Toluca, México.
- Secor, G., J. Munyaneza e I. Ming-Lee. 2006. Una nueva enfermedad tipo punta morada causando pérdidas en el cultivo de la papa en Norte América. Memorias del XXII Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa. Toluca, México. P. P7.
- Self, R. L. and H. M. Darling. 1953. Purple top disease of the potato in Wisconsin. *Research Bulletin* 184. University of Wisconsin. Madison, USA. 24 p.
- Shorter, R., Byth, D. E. y Muntgomery, V. E. 1977. Genotype x environment interactions and environmental adaptation. II Assessment of environmental contributions. *Aust. J. Agric. Res.* 28:233-235.
- Sifuentes, J. A. 1997. Plagas de algunas hortalizas en México. Folleto de divulgación No. 53 INIFAP-SARH. México.
- Spiertz, J. M. J., A. Havercot and P. M. Verelken. 1996. Environmentally safe and consumer-friendly potato production in the Netherlands. Development of ecologically sound production systems. *Potato Res.* 39: 371-378.
- Srivastava, M. K. and Dwivedi, U. N. 1998. Salicylic acid modulates glutathione metabolism in pea seedlings. *Journal of Plant physiology.* 153(3-4):409-414.
- Statistica. 2005. Statistica (data analysis software system). Version 6.0. Statsoft Inc. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)
- Steel, R. G. y Torrie, J. 1989. Bioestadística, principios y procedimientos. Trad. de la 2a. ed. en inglés por Ricardo Martínez B., Universidad Nacional de Colombia. Mc Graw-Hill. México, D.F. México. p. 156-157.

- Summermatter, K., L. Sticher and J. P. Métraux. 1995. Systemic responses in *Arabidopsis thaliana* infected and challenged with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiol* 108: 1379-1385.
- Tenhaken, R., A. Levine, L. F. Brisson, R. A. Dixon and C. Lamb. 1995. Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance. *Proc. Natl. acad. sci. USA* 92: 4158-4163.
- Thorton, E. R. and B. J. Sieczka. 1987. Commercial potato production in North America. *Potato Association of America Handbook. The American Potato Journal. Volume 57.*
- Trewavas, A. J. 2000. Signal perception and transduction. En BB Buchanan, W Grisseem, R. Jones, eds, *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* American Society of plant physiologists, Rockville, USA.
- Valdez, E. M. y G. Kahl. 2000. Huellas de ADN en genomas de plantas (Teoría y protocolos de laboratorio) Mundi-Prensa y Universidad Autónoma de Chapingo.
- Vallad, G. E. and R. M. Goodman. 2004. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. *Crop Sci.* 44:1920-1934.
- Vargas, H. M. y J. Crossa. 2000. El análisis AMMI y la gráfica del biplot en SAS. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Unidad de Biometría. México, D.F., México. [En línea] Disponible en: <http://www.cimmyt.cgiar.org/biometrics>. (Revisado: 11/11/2004).
- Walker, M. E. 1980. Métodos multivariados para el análisis de datos. Seminarios técnicos. Vol 5 No 3.pp 45.
- Wallis, R. L. 1955. Ecological studies on the potato psyllid as a pest of potatoes. U.S. Department of Agriculture Technical Bulletin 1107:25p.
- Wang, G., T. S. Whittman, C. M. Berg and D. E. Berg. 1993. RAPD (arbitrary primer) PCR is more sensitive than multilocus enzyme electrophoresis for distinguishing related bacterial strains. *Nucleic Acids Research.* 21:5930-5933.
- Ward, J. H. Jr. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J. Am. Stat. Assoc.* 58:236-244.
- Weintraub, G. P. and L. Bealand. 2005. Insect vectors of phytoplasmas. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 91-111.
- Wissar, R. y R. Ortiz. 1987. Mejoramiento de papa en el Centro Internacional de la Papa por adaptación a climas cálidos tropicales. Lima, Perú. 26 p. (Doc. de Tecnología Especializada No. 22).



- Wu, G., V. J. Shortt, E. G. Lawrence, E. B. Levine, K. C. Fitzsimmons and D. M. Shah. 1995. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-generating glucose oxidase in transgenic potato plants. *Plant cell* 7: 1357-1368.
- Yan, W., L. A. Hunt, Q. Sheng and Z. Szlavnic. 2000. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Sci.* 40:597-605.
- Yang, X. and C. F. Quiros. 1995. Construction of a genetic linkage map in celery using DNA based markers. *Genome.* 38:36-44.
- Youkin, S. G. 1943. Purple top wilt caused by the Aster Yellows Virus. *American Potato Journal* 20:117-183.
- Zavala Quintana, T. E. 2002. Experiencias en el Valle de Toluca sobre Punta Morada. *Memorias del XI congreso Nacional de Productores de Papa.* Septiembre 26-28. 2002. León, Guanajuato, México. pp.81-97.
- Zavala Quintana, T.E. y Cadena Hinojosa, M.A. 1998. Punta Morada de la Papa. *Resúmenes, Tecnología de Cultivo de Papa, CONPAPA, INIFAP, Toluca Edo. de México.* pp.17-19.
- Zobel, R. W., M. J. Wright and H. G. Jr. Gauch. 1988. Statistical analysis of a yield trial. *Agron. J.* 80:388-393.

## **VII. APENDICE**

Cuadro A. 1 Análisis de varianza de la actividad enzimática de la peroxidasa en diez genotipos de papa.

Fuente de variación	G. L.	C. M.
Repeticiones	2	0.072
Tratamientos	9	33.041**
Error	19	
Total	29	

CV = 8.22%

Cuadro A. 2 Comparaciones de media para características agronómicas en seis ambientes de evaluación.

Ambientes	Altura (cm)	Tallos/planta	Días a flor	Rendimiento total (t ha <sup>-1</sup> )	Rendimiento com (t ha <sup>-1</sup> )
Dr. Arroyo. NL.	63.74 b	3.96ab	50.74a	33.13b	29.93b
Huatabampo, Son.	58.67 c	4.04 a	49.44b	36.07a	32.64a
Mochis, Sin.	54.82 d	3.48 b	48.67 b	33.88b	30.79b
Navidad, NL.	67.70 a	4.26 a	42.30 d	18.78d	15.00d
E. Zapata, Coah.	51.74 d	3.96 ab	36.33 e	2.40e	0.000
Lirios, Coah.	61.93 bc	3.92 ab	43.85 c	29.74c	26.36c

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

Cuadro A.3 Comparaciones de medias para características agronómicas en nueve genotipos de papa de seis ambientes de evaluación.

Genotipos	Altura (cm)	Tallos/planta	Días a flor	Rend tot (t ha <sup>-1</sup> )	Rend * com (t ha <sup>-1</sup> )
1.- Gigant	46.94 e	3.67 bc	-	26.43 ab	28.33 ab
2.- Alpha	70.00 ab	3.44 c	46.67 bc	24.84 b	25.45 c
3.- Atlantic	44.44 e	4.22ab	40.11f	21.32 c	22.66 d
4.- Norteña	67.00 bc	3.78 bc	47.44ab	28.16 a	29.27 a
5.- Bayonera	63.11 dc	3.78 bc	45.33dc	25.59 b	27.39 abc
6.- Nieder	58.61d	3.78 bc	44.17 de	24.99 b	26.05 abc
7.- 94-02-01	73.11 a	4.72 a	47.11b	26.93 ab	28.01 abc
8.- 98-14-01	45.67 e	4.33 ab	44.11 de	26.77 ab	28.13 abc
9.- 96-01-01	69.06 ab	3.67 bc	48.94 a	25.97 ab	27.20abc

\*Rendimiento medio de cinco ambientes (los genotipos no obtuvieron producción comercial en la localidad de E. Zapata).

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

Cuadro A.4 Valores promedio de características de calidad y daño por el síndrome de la punta morada en nueve en genotipos de papa.

Genotipos	Sólidos (%)	Calidad hojuela (%)	Plantas/Punta Morada (%)	Tub/Manchado (%)
1.- Gigant	17.80	48.00	49.00	0.00
2.- Alpha	21.60	77.00	36.40	0.00
3.- Atlantic	19.98	83.80	43.00	39.67
4.- Norteña	19.12	79.60	53.00	41.67
5.- Bayonera	19.68	82.00	40.00	39.67
6.- Nieder	19.28	77.20	41.60	42.50
7.- 94-02-01	20.40	81.60	37.00	25.50
8.- 98-14-01	21.08	86.00	30.40	4.17
9.- 96-01-01	21.86	82.00	29.80	36.33

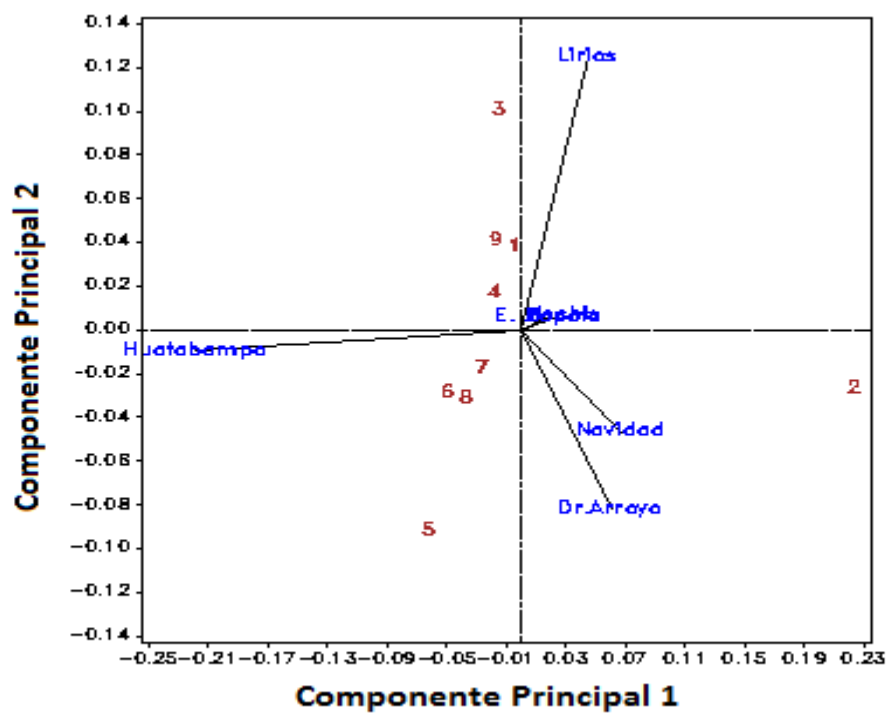


Figura A.1 Distribución de las variable altura en los dos primeros componentes.

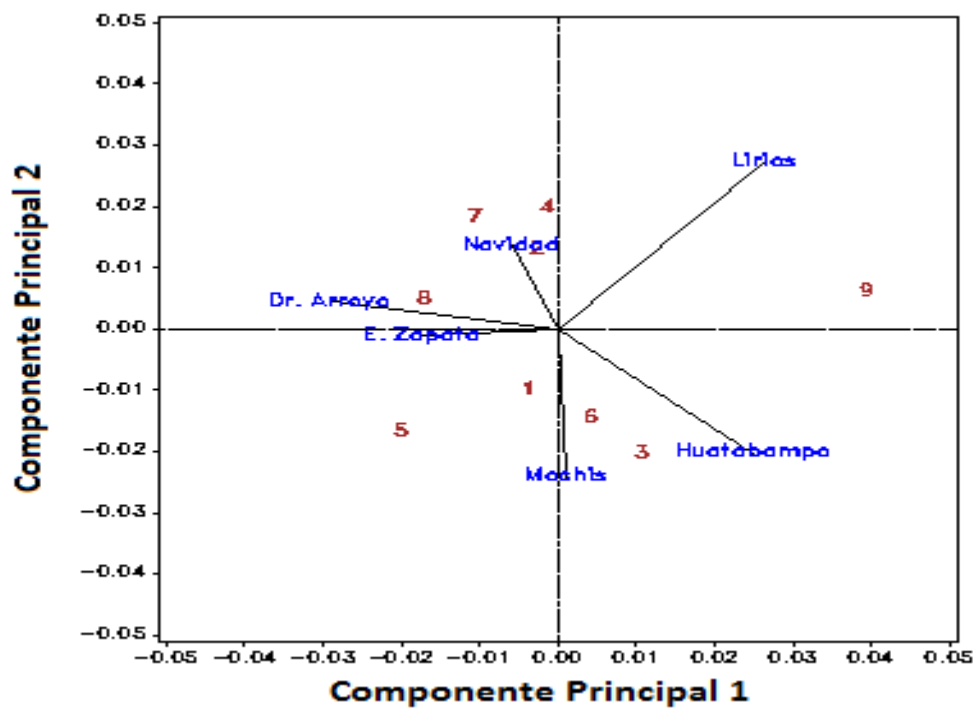


Figura A.2. Distribución de las variable tallos en los dos primeros componentes.

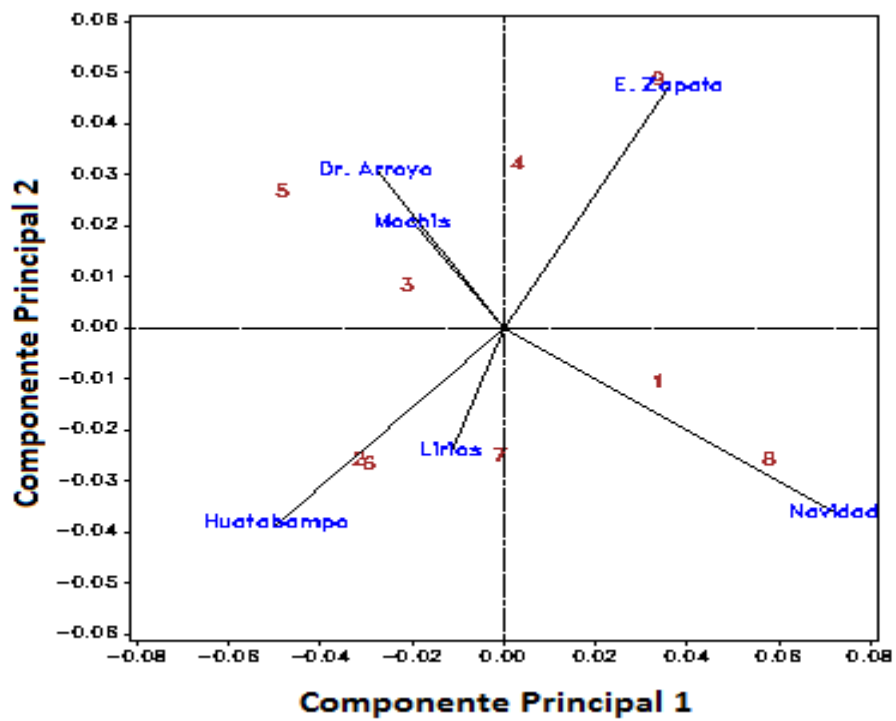


Figura A.3 Distribución de la variable días a flor en los dos primeros componentes.

