

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Identificación de Haplotipos de *Bactericera cockerelli* y *Candidatus Liberibacter solanacearum* en México

Por:

**REYES LÓPEZ ORDOÑEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila, México

Mayo del 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Identificación de Haplotipos de *Bactericera cockerelli* y *Candidatus Liberibacter solanacearum* en México

Por:

**REYES LÓPEZ ORDOÑEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Ernesto Cerna Chávez  
Asesor Principal Interno



Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza  
Asesor Principal Externo



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes  
Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Mayo del 2018

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi **ALMA TERRA MATER** por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de formarme profesionalmente tanto como persona y como Ingeniero, a pesar de eso haber conocido muchos amigos y haber compartido muchos momentos inolvidables fuera y dentro de tus aulas y pues solo me queda decir “Nunca te acabes Narrito”.

A la Dra. **Yolanda Rodríguez Pagaza** por contribuir en mi desarrollo profesional, por su enorme paciencia, su gran amistad, por su gran apoyo por revisar el presente trabajo y más que nada por compartirme sus conocimientos y solo me queda decir “Gracias Dra. Dios lo Bendiga Siempre a Usted y a su Familia”

Al **Dr. Ernesto Cerna Chávez**. Por su disponibilidad y al proporcionar algunas sugerencias al presente trabajo.

A la **Dra. Yisa Ma. Ochoa Fuentes**. Por su disponibilidad e interés al revisar el presente trabajo.

Al **Maestro Luis Rodríguez Gutiérrez**. Por su valiosa amistad, de haber estado en las buenas y en las malas durante mi carrera y por haber contribuido a terminar mi carrera profesional.

**A mis Profesores del Departamento de Parasitología**. Que Día con Día nos proveían sus conocimientos y experiencias durante 5 Años.

## **DEDICATORIAS**

A mi **Dios Jehová** por darme la VIDA y estarme abriendo sus puertas tanto en las buenas como en las malas dándome una hermosa familia llena de bendiciones, a ti mi Dios por darme la oportunidad de cumplir mi sueño de terminar una carrera profesional.

### **A MIS PADRES**

*Cristino López Gómez, Rosario Ordoñez Roblero*

Gracias por haberme regalado la Vida y ser una persona de bien, A ustedes padres que estuvieron en las buenas y en las malas durante mi vida, siempre me impulsaron para llegar a tener mi carrera profesional, especialmente a ti madre “Chayito” que desde que te fuiste al cielo en compañía de Dios todavía recibimos día a día tus bendiciones, me enseñastes la Humildad y Sencillez, a ti padre por invertir tu tiempo en mí y ser una de tus preocupaciones, solo me queda decir “DIOS siempre me los bendiga”.

### **A MI ESPOSA**

*Sandra Isabel González Guillen*

Gracias por estar con migo en todo momento demostrarme que en la vida todo se puede, iniciando este proyecto de Vida a mi lado, demostrándome ser una excelente mujer y una excelente esposa, Gracias por regalarme momentos muy bonitos a tu lado , por enseñarme a no rendirme en los peores momentos, y a pesar de los obstáculos que hemos pasado me has enseñado a sacarlo a flote ante todo, a pesar de eso me regalaste a un hermoso hijo que siempre será el lazo de una buena relación.

### **A MI HIJO**

*Roberto Gael López González*

Que ha sido uno de mis motivos a seguir adelante, a pesar de eso me ha enseñado a que no existen imposibles en la vida.

## **A MIS HERMANOS**

Trinidad López Ordoñez

A pesar de ser más que un hermano eres una excelente persona, por tu valioso apoyo para que yo lograra terminar mi carrera profesional, por tu paciencia y confianza, Gracias hermano “Dios te bendiga siempre a ti a tu hermosa familia”.  
Huber, Cristino, Gabriel. A ustedes por apoyo moral y por su valiosa amistad como hermanos.

## **A MIS HERMANAS**

Manuela, Belladoni, Reina, Edilma, Antonia

Gracias a Ustedes por estar apoyándome a inicios y a términos de la carrera recibiendo siempre sus apoyos “Las quiero mucho”.

## **A MIS SOBRINOS**

Edwin, Rosario, yadiel, Ingrid, Karen, Eduardo, Karla, Cristian, Yaquelin, Yovani, Diego, Yordi, Osman, Alan, Ariana, Nayeli, Sandra.

Por haberme regalado buenos momentos como Tio y a pesar de eso ser la alegría de la Familia López Ordoñez.

## **A MIS CUÑADOS**

Juan Carlos, Vitalino.

Por sus amistades, consejos, sugerencias y por ser excelentes personas, Gracias a ti Vitalino que fuiste el Motor para que siguiera estudiando en una excelente Universidad como lo es la Narro.

## **A MIS AMIGOS DE LA CARRERA**

Federico “José”, Elena, Ivonne, Uriel, Alejandro

Por sus amistades y por haber compartidos buenos momentos dentro y fuera del aula.

## INDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	III
<b>DEDICATORIAS</b>	IV
<b>INDICE DE CONTENIDO</b>	VI
<b>INDICE DE CUADROS</b>	VIII
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	IX
<b>RESUMEN</b>	XI
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
Justificación	3
Objetivo	3
Hipótesis	3
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	4
<b>Solanáceas</b>	4
Origen	4
Distribución	5
Importancia de la familia Solanácea	5
Principales Plagas y enfermedades de las solanáceas	6
<b><i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i></b>	8
Origen y distribución	8
Ubicación taxonómica	9
Biología	9
Haplotipos presentes de <i>Candidatus Liberibacter Solanacearum</i>	10
<b><i>Bactericera cockerelli</i></b>	11
Origen y distribución	11
Importancia	12
Ubicación taxonómica	12

Biología -----	13
Daños en Solanáceas causadas por <i>Bactericera cockerelli</i> -----	14
Directos -----	14
Indirectos -----	14
Transmisión de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> -----	15
Generalidades de los Haplotipos -----	15
Variabilidad genética en poblaciones de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	16
Haplotipos presentes de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	17
<b>MATERIALES Y METODOS</b> -----	19
Obtención de muestras de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	19
Obtención de Muestras de Tejido Vegetal -----	20
Extracción de ADN de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	20
Extracción de ADN de material vegetal -----	21
PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) -----	22
Determinación de haplotipos mediante comparación de secuencias. -----	23
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> -----	24
Muestras de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	24
Muestras de material vegetal-----	25
Determinación de haplotipos de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	25
Ubicación geográfica del haplotipo Central de <i>Bactericera cockerelli</i> en México-----	27
Determinación de haplotipos de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> -----	29
Ubicación geográfica de los haplotipos de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> en México -----	34
<b>CONCLUSIONES</b> -----	37
<b>LITERATURA CITADA</b> -----	38

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	pág.
1. Principales solanáceas de interés comercial producidas en México (SIAP, 2017).-----	6
2. Municipios y estados de colecta de insectos de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	19
3. Municipios y estados de colecta del material vegetal -----	20
4. Primers usados para determinar los haplotipos de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> (CLsol) y de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	22
5. Lugares de recolecta, estado del insecto colectado y cultivo asociado-----	24
6. Lugares de recolecta y cultivos con síntomas de CLsol colectados-----	25
7. Lista de municipios y estados donde se colectaron insectos de <i>B. cockerelli</i> -----	27
8. Muestras positivas a <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> -----	29
9. Haplotipos de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> encontrados en México---	34



## INDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Distribución de haplotipos "A" y "B" de " <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> " en América del Norte y Central.-----	11
2. Ciclo biológico de <i>Bactericera cockerelli</i> -----	13
3. Distribución geográfica de tres haplotipos de triozidos en los Estados Unidos Central y Occidental.-----	18
4. Distribución geográfica del haplotipo Central en triozidos en México-----	18
5. Resultado de la secuenciación obtenida de la muestra de Culiacán, Sinaloa-----	25
6. Alineamiento y comparación de la muestra obtenida a partir de triozidos procedentes de Culiacán, Sinaloa-----	26
7. Ubicación geográfica del haplotipo central de <i>Bactericera cockerelli</i> en México.----	28
8. Resultados de secuenciación obtenida de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> ---	30
9. Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de follaje de tomate y colectada en San Luis Potosí ----	31
10. Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de follaje de tomate y colectada en San Luis Potosí-----	31
11. Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de Adulto de <i>Bactericera cockerelli</i> y colectada en el Marques, Querétaro -----	32

12. Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de Adulto de *Bactericera cockerelli* y colectada en Texcoco, Estado de México -----32

13. Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de Adulto de *Bactericera cockerelli* y colectada en San Luis Potosí-----33

14. Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de Adulto de *Bactericera cockerelli* colectada en Invernaderos en Saltillo-33

15. Ubicación geográfica del haplotipo A Y B de *Candidatus Liberibacter solanacearum*-  
-----34

## RESUMEN

Cultivos de la familia Solanaceae están siendo seriamente afectados por el complejo *Bactericera cockerelli* Sullc, (Homoptera:Triozidae) y *Candidatus Liberibacter solanacearum*, causante de la enfermedad conocida como “zebra chip” en papa y permanente del tomate en *Solanum lycopersicum*. estudios recientes se han identificado tres haplotipos genéticamente distintos de *B. cockerelli* en los Estados Unidos, que se correlacionan con las regiones geográficas Central, Noroeste y Occidental. Para el caso de la bacteria se han identificado 5 haplotipos diferentes (A, B, C, D y E) a nivel mundial. Sin embargo, poco se sabe sobre los haplotipos de los triozidos y de CLsol que se encuentran presentes en México, por lo que este trabajo tuvo como objetivo identificar haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y de su vector *Bactericera cockerelli* para saber su distribución en la República Mexicana, para lo cual se realizaron muestreos de insectos y plantas de tomate con presuntos síntomas de la enfermedad en 15 y 10 estados de la República Mexicana respectivamente. Los resultados mostraron que se encuentra presente el haplotipo Central de *B. cockerelli* en los estados de Querétaro, Estado de México, San Luis Potosí y Nuevo León, coincidiendo con lo ya reportado en la bibliografía, así como en los estados de Tamaulipas, Sonora, Sinaloa, Michoacán, Tlaxcala y Oaxaca siendo estos nuevos reportes. Los haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* encontrados fueron el A en muestras de follaje de tomate proveniente de los estados San Luis Potosí y Edo de México y B en muestras de adultos de *Bactericera cockerelli* provenientes de los estados de Querétaro y San Luis Potosí, siendo estos reportes también nueva información para México.

**Palabras claves:** Triozidos, *Bactericera cockerelli*, *Candidatus Liberibacter solanacearum*, Haplotipos.

## INTRODUCCIÓN

Las hortalizas de la familia Solanaceae principalmente tomate y papa son considerados unos de los cultivos hortícolas más consumidos y de los más producidos a nivel de Centro América. Estos cultivos están siendo seriamente afectados por el triozido de la papa conocida como paratrioza, *Bactericera cockerelli* Sulc, (Homoptera:Psyllidae), que es el vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* causante de la enfermedad conocida como “zebra chip” en papa y punta morada en tomate (Hansen *et al.*, 2008).

CLsol es una bacteria Gram-negativa causa daños del 70 al 90% a cultivos difusos de las familias botánicas Solanaceae (papa, tomate, pimiento, berenjena y tomatillo) y Apiaceae (zanahoria y apio) (EPPO 2013). Se ha descrito en varios países de América Central y América del Norte, Nueva Zelanda, Europa del Norte y Central, y también en la Región del Mediterráneo (Islas Canarias, España, Francia, Marruecos) (EPPO, 2013; Loiseau *et al.*, 2014). Esta bacteria es transmitida por propagación vegetativa por varias especies de triozidos (Munyanenza 2012), como *Bactericera cockerelli* Sulc en tomate / papa (Munyanenza *et al.*, 2008) y *Trioza apicalis* Förster en zanahorias en Finlandia (Munyanenza *et al.*, 2010a, 2010b) de ahí surgen nuevas investigaciones sobre la distribución de los distintos haplotipos.

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

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

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

En México y Centroamérica, el triozido de la papa y la enfermedad de zebra chip han sido identificados en el Este de México, Guatemala, Honduras y Nicaragua (Secor y Rivera, 2004., Munyaneza *et al.*, 2007, Rehman *et al.*, 2010, Bextine *et al.*, 2012, Munyaneza 2012). Sin embargo, poco se sabe sobre la identidad de los haplotipos de los triozidos que se producen en estas regiones.

Por lo que este trabajo tuvo como objetivo identificar haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y de su vector *Bactericera cockerelli* para saber su distribución en la República Mexicana.

### **Justificación**

La determinación de los diferentes haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y de *Bactericera cockerelli* ayudará a conocer la distribución y diversidad de ambos organismos, sentando las bases para conocer la coevolución bacteria-vector.

### **Objetivo**

- Identificar los haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y *Bactericera cockerelli* presentes en México.

### **Objetivos específicos**

- Recolectar material vegetal de diferentes cultivos de solanáceas en al menos 10 estados de México con síntomas de infección con *Candidatus Liberibacter solanacearum*.
- Recolectar ejemplares de *Bactericera cockerelli* en al menos 15 estados de México para identificar los haplotipos presentes de este insecto.
- Detectar la presencia de CLsol en las muestras de tejido vegetal y los insectos colectados para identificar los haplotipos presentes en el territorio Nacional.
- Elaborar un mapa del país reportando las zonas muestreadas, los cultivos relacionados y los haplotipos encontrados de ambos organismos.

### **Hipótesis**

Se identificará la presencia de al menos dos de los haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y *Bactericera cockerelli* ya reportados en la bibliografía.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Solanáceas

Las solanáceas son una familia de plantas herbáceas o leñosas con las hojas alternas, simples y sin estipulas pertenecen al orden solanales de las dicotiledóneas (magnoliopsida), Es un grupo muy grande; consta de alrededor de 90 géneros y 1,500 especies (Orozco y col., 2008), Es de distribución cosmopolita; sin embargo, se encuentra con mayor frecuencia en regiones tropicales, subtropicales y zonas templadas; en un intervalo altitudinal de 0 a 3 000 msnm,(D'Arcy, 1991). Tiene gran variedad de formas vegetativas y reproductivas, por lo que tiene la capacidad de colonizar distintos tipos de habitats. Se caracteriza por presentar flores hermafroditas y actinomorfas, en general pentámeras y con gran variación en tamaño; ovario súpero, esencialmente bilocular y fruto generalmente en forma de una baya o cápsula (Nee, 1986). Incluye especies de gran importancia económica: alimenticia como la papa, (*Solanum tuberosum* L.), el tomate (jitomate) (*Solanum lycopersicum*), el chile (*Capsicum* L.), el tomate verde (*Physalis ixocarpa* Brot) y la berenjena (*Solanum melongena*) (Nee, 1986).

### Origen

De su origen sudamericano, algunas especies de la familia Solanaceae arribaron a Mesoamérica como plantas espontáneas durante la época prehispánica por medios naturales. Algunos botánicos, especialistas en esta familia, opinan que todos los miembros se desarrollaron de un ancestro común en el pasado remoto, probablemente en América del Sur (Heiser, 1969; Hunziker, 1979). No obstante su origen americano, algunas especies de la familia llegaron a Europa y Asia antes del contacto entre los dos mundos a fines del siglo XV (Hunziker, 1979; D'Arcy 1991).

## **Distribución**

Familia cosmopolita que se halla ampliamente distribuida en las regiones tropicales y templadas. Existen en todos los continentes, pero se hallan concentradas en Australia y América Central y Sur, de donde son endémicos por lo menos 40 géneros. La gran abundancia de esta familia en América del Sur ha dado lugar a la hipótesis, de que pudo originarse en este continente (Toledo y Ordóñez, 1993). Debido a su ubicación geográfica, compleja historia geológica y combinación de condiciones climáticas, México es el tercer país con mayor diversidad biológica del mundo (Toledo y Ordóñez, 1993). Se conoce poco la diversidad y distribución de varias familias que habitan en el territorio nacional; entre ellas Solanaceae, debido probablemente a la complejidad morfológica del grupo, al número de especies que contiene y a la diversidad de hábitats que coloniza, aunado a que los trabajos taxonómicos y los reportes de diversidad que se han generado en diversos estados de la República no son suficientes para tener una visión general en torno a la riqueza y distribución que presenta la familia Solanaceae en México (Sierra *et al.*, 2015).

## **Importancia de la familia Solanácea**

Es una de las familias económicamente más importantes a nivel mundial y México es reconocido como uno de sus centros de diversificación (Sierra *et al.*, 2015). La principal importancia de la familia Solanaceae, radica en su uso como fuente de alimento, sin embargo, debido a la gran diversidad del género existe una gran oportunidad de uso como fuente de nuevos fármacos, por lo que en la actualidad existe un gran interés científico de investigación de sus propiedades farmacológicas (Torres, 2013).



En México las principales solanáceas de interés según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2018) para el cierre del 2017 son:

**Cuadro 1.** Principales solanáceas de interés comercial producidas en México (SIAP, 2017)

Producto	Superficie (ha)			Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)
	sembrada	sinistrada	cosechada	obtenida	obtenido
TOMATE ROJO (JITOMATE)	22,161	21	13,148	429,531	32.668
TOMATE VERDE	20,934	56	9,491	156,942	16.536
PAPA	26,132	-	5,895	168,808	28.637
CHILE VERDE	35,629	75	15,258	468,783	30.723

Resaltando que estos cuatro cultivos representan el 11.15% del valor de la producción anual de cultivos sembrados en el país según el SIAP (2017).

### Principales Plagas y enfermedades de las solanáceas

Un gran reto para la producción tomate, pimiento, berenjena y papa a cielo abierto y bajo sistemas protegidos es la presencia de variadas enfermedades de importancia económica que merman la producción y aumentan los gastos de inversión del cultivo. Pueden disminuir o arruinar completamente las cosechas, algunas de estas enfermedades afectan a los frutos mientras que otras destruyen el follaje (Bawden, 2017).

Entre las principales enfermedades que atacan a la familia solanácea tenemos a la Antracnosis causado por *Colletotrichum spp.*, pudriciones por *Botrytis cinérea*, *Septoria spp.*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, *cenicilla (Leveillula taurica y Oidiopsis Simula Scadia)*, Damping off por *Rhizoctonia solani*, *Phythium spp.* Y *Fusarium spp.*, infecciones bacterianas por especies de *Xanthomonas* y *Pseudomonas* (Beltran, 2014). Entre las plagas más importantes destacan la mosca blanca (*Bemisia spp.* y *Trialeurodes spp.*) que son capaces de transmitir más de 25 virus, araña roja *Tetranychus urticae* y el triozido *Bactericera cockerelli* (Beltrán, 2014), importante por los daños que causa a la planta y como transmisor de patógenos.

Se ha reportado la presencia de una bacteria vascular llamada *Candidatus Liberibacter solanacearum*, afectando cultivos de solanáceas, cuyo vector es el triozido *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). Esta bacteria ha causado pérdidas de millones de dólares en invernaderos comerciales de tomate en Nueva Zelanda (Liefiting *et al.*, 2009) y en otras hortalizas como papa, chile, tomatillo y zanahoria en varios países.

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

Las papas afectadas por zebra chip presentaban los siguientes síntomas en la parte aérea: retraso del crecimiento, clorosis, entrenudos hinchados, proliferación de yemas axilares, tubérculos aéreos, pardeamiento del sistema vascular, hoja quebradizas, y la muerte prematura de la planta (Munyaneza *et al.*, 2007b). Los síntomas de los tubérculos infectados se muestran a través de todo el tubérculo desde el extremo del tallo hasta el final del brote e incluyen lenticelas del tallo subterráneo agrandado, estolones colapsados, lesiones del anillo vascular color marrón, moteado necrótico de los tejidos internos (Munyaneza *et al.*, 2007a). Las papas que se procesan a partir de tubérculos infectados presentan vetas de color marrón oscuro intenso, de ahí el nombre Zebra chip, lo que provoca el rechazo de papas para el mercado en fresco y para fritura (Munyaneza *et al.*, 2007a).

Los cambios de color son más evidentes después de freír, pero a menudo pueden ser detectados en tubérculos frescos, En el cultivo de papa durante 2004 a

2006, las pérdidas económicas debidas a Zebra chip tanto para los productores de papa y procesadores en numerosas lugares los EE.UU. y en México.

La incidencia de ésta enfermedad se incrementó considerablemente, llegando al 100 % en algunas áreas productoras de la región Sur de Coahuila y Nuevo León, los rendimientos se redujeron hasta en un 90% y las pérdidas registradas fueron del 100 % (Flores *et al.*, 2004).

En los ciclos de cultivo primavera verano 2014 y 2016 las parcelas de chile para secado en el estado de Durango fueron severamente afectadas por una sintomatología que expresó un rango de variación muy amplio (Reveles *et al.*, 2016). Por lo general los síntomas se manifiestan como hojas deformes de color verde pálido o amarillo, con tallos acortados, caída de flores y muerte repentina de diferentes partes de la planta. (Liefting *et al.*, 2009b).

En materiales de chile tipo serrano los síntomas inducidos por la bacteria son: venas cloróticas, deformación de la lámina foliar y fruto con albinismo (Camacho *et al.*, 2011).

### ***Candidatus Liberibacter solanacearum***

#### **Origen y distribución**

Se han reportado cuatro especies del género *Liberibacter*, de las cuales tres afectan cítricos; *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. africanus* y *Ca. L. americanus* causando la enfermedad conocida como Huanglongbing (HLB, “Dragón amarillo” en español), considerada como la más importante a nivel mundial en estos cultivos (Roy y Brlansky, 2009), son transmitidas por *Diaphorina citri* y *Trioza erytreae*. La cuarta especie *Candidatus Liberibacter solanacearum* afecta plantas de la familia Solanaceae y Apiaceae y a diferencia de las tres primeras es transmitida por *Bactericera cockerelli* y no se presenta en Rutáceas (Liefting *et al.*, 2009a).

Hansen *et al.*, (2008) reportaron nuevas especies de *Ca. Liberibacter* asociadas a Solanáceas como tomate y papa; también, se indicó que el triozido *B. cockerelli* (=Paratrioza) [Sulc] es el vector que transmite la bacteria.

Esta bacteria se encuentra distribuida en Canadá (Alberta, British Columbia, Ontario, Quebec, Saskatchewan), México (Sinaloa, Michoacán, Estado de México, Guanajuato, Nuevo León, San Luis Potosí, Durango y Zacatecas), Estados Unidos (Arizona, California, Colorado, Idaho, Kansas, Minnesota, Montana, Nebraska, Nevada, Nuevo México, Dakota del Norte, Oklahoma, Dakota del Sur, Texas, Utah, Oregon, Washington y Wyoming), Guatemala, Honduras, Finlandia, España y Nueva Zelanda (Camacho-Tapia *et al.*, 2011; Crosslin *et al.*, 2013; Liefting *et al.*, 2009b; Munyaneza *et al.*, 2007a; Munyaneza *et al.*, 2010; Munyaneza *et al.*, 2012; OEPP/EPPO, 2013; Ontiveros-Guerra, 2012; Teresani *et al.*, 2014; Velásquez-Valle *et al.*, 2015).

### **Ubicación taxonómica**

Dominio Bacteria.

Phyllum Proteobacteria.

Clase Alphaproteobacteria.

Orden Rhizobiales.

Familia Phyllobacteriaceae.

Género *Candidatus liberibacter*.

Especie *Candidatus Liberibacter solanacearum*

(CAB Internacional, 2015)

### **Biología**

*Candidatus Liberibacter solanacearum* es una  $\alpha$ -proteobacteria gramnegativa no cultivable que está asociada con el tejido del floema de las plantas y tiene aproximadamente 0.2  $\mu\text{m}$  de ancho y 4  $\mu\text{m}$  de largo. Las bacterias se parecen mucho a los *Liberibacters* asociados con Huanglongbing (enverdecimiento de los cítricos), pero son sensible al calor a temperaturas superiores a 32° C.

Temperaturas por debajo de 17° C puede disminuir significativamente la infección en la papa (Munyaneza 2012; Munyaneza *et al.*, 2012).

### **Haplotipos presentes de *Candidatus Liberibacter Solanacearum***

Cinco haplotipos geográficos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* han sido descritos. Hasta ahora dos haplotipos (A y B) están asociados con enfermedades causadas por la bacteria en las papas y otras especies de solanáceas (Nelson *et al.*, 2011), mientras que los otros tres haplotipos (C, D y E) están asociados con la zanahoria (Nelson *et al.*, 2013b; Teresani *et al.*, 2014).

El haplotipo A se ha encontrado principalmente en Honduras y Guatemala, a través del oeste de México hasta Arizona, California, Washington y Oregón, y en Nueva Zelanda. El haplotipo B se conoce actualmente en el este de México y en el norte de Texas y el centro de Estados Unidos. Estos dos haplotipos muestran cierta superposición de rango en Texas, Kansas y Nebraska.

El haplotipo C se asocia con zanahoria y *Trioza apicalis* y se ha encontrado en Finlandia, Suecia y Noruega (Nelson *et al.*, 2011, 2013b).

Los haplotipos D y E se describieron recientemente a partir de zanahorias infectadas y el psílido *B. trigonica* en España, las Islas Canarias y Marruecos (Nelson *et al.*, 2013b, Tahzima *et al.*, 2014; Teresani *et al.*, 2014).

Los rangos geográficos de los haplotipos "A" y "B" en América del Norte y Central parecen separarse en dos regiones geográficas (Figura 1). El tipo "A" se ha encontrado hasta ahora desde Honduras y Guatemala en el sur, norte a través del oeste de México hasta Arizona y California, con algunas muestras encontradas en Texas, Kansas y Nebraska. El haplotipo "B" hasta ahora ha demostrado estar al este de la división montañosa en el este de México y al norte a través de Texas hasta el centro sur de Washington. Existe cierta superposición de regiones en estos dos haplotipos, especialmente en Texas, aunque este podría haber surgido a través del movimiento de material vegetal infectado para fines agrícolas (Nelson *et al.*, 2011).



**Figura 1.** Distribución de haplotipos "A" y "B" de "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" en América del Norte y Central. El haplotipo "C" es actualmente solo conocido en Finlandia (Tomado de Nelson *et al.*,2011).

### ***Bactericera cockerelli***

#### **Origen y distribución**

Este insecto fue descubierto por primera vez en Estados Unidos por Cockerell, en el estado de Colorado, y para su reconocimiento Sulc la bautizo científicamente como *Trioza cockerelli*, aunque más tarde se le cambio de nombre a *Paratrioza cockerelli* Sulc y últimamente como *Bactericera cockerelli* Sulc. Este insecto es nativo de México y sur de Estados Unidos, considerando a este insecto como altamente migratorio pasando el invierno en México y sur de USA, presentándose este en los meses de Septiembre a Octubre y de sur a norte en los meses de Mayo a Junio (Licona,2009).

En México se encuentra distribuida en 17 Estados y son zonas donde se cultivan papa, tomate y chile, principalmente. Se tiene información que en los Estados de Sinaloa, San Luís Potosí, Baja California Norte, Guanajuato, Michoacán, Estado de México, Morelos y en Coahuila, esta plaga ha presentado daños de consideración en los cultivos de papa, tomate y chile (Licona,2009).

A partir de 1970 se le considero como una plaga primaria en los cultivos de chile, jitomate y papa (Garzón, 2002). En Nueva Zelanda apareció en 2005 y se le ha catalogado como una plaga de gran importancia en diversas especies vegetales, especialmente en chile y jitomate (Teulon *et al.*, 2009). Dos años después de haber detectado a *B. cockerelli* en campos agrícolas de Nueva Zelanda se reportó la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, tal hecho sugiere que la bacteria llego con el triozido a Nueva Zelanda y que este es su vector (Liefing *et al.*, 2009).

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

### **Importancia**

López *et al.*, (2003) reportaron que en California se tuvieron pérdidas de rendimiento de papa del 20 al 50%. En la Comarca Lagunera durante 2003 se muestrearon seis predios de tomate para evaluar la densidad de triozidos y su relación con la incidencia de plantas enfermas; se encontró que a densidades bajas del insecto (alrededor de un adulto/trampa/semana) causaron altos porcentajes de plantas enfermas (alrededor del 30%).

### **Ubicación taxonómica**

Según Hodkinson (2009) incluyo a *Bactericera cockerelli* dentro de la familia Triozidae quedando como clasificación taxonómica de la siguiente manera:

Reino: Animal

Phyllum: Artrópoda

Clase: Hexápoda

Orden: Hemíptera

Suborden: Sternorrhyncha

Superfamilia: Psylloidea

Familia: Triozidae

Género: *Bactericera*

Especie: *B. cockerelli*

## Biología

La temperatura óptima de *B. cockerelli* es de 27°C en tanto que con temperaturas por debajo de 15°C o arriba de 32°C afecta su desarrollo y la supervivencia de los triozidos. La hembra puede ovipositar mas de 500 huevos en 21 días, que es lo que dura en promedio su periodo de ovoposición; puede haber de 3 a 4 generaciones por temporada (MAG, 2010) en el cultivo de papa parece haber una generación por año (Munyaneza *et al.* 2009).

El ciclo de vida de los triozidos típicamente comprende el huevo, cinco instatares ninfales, y adultos (Figura 2) con reproducción partenogenica (Hodkinson, 2009).

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

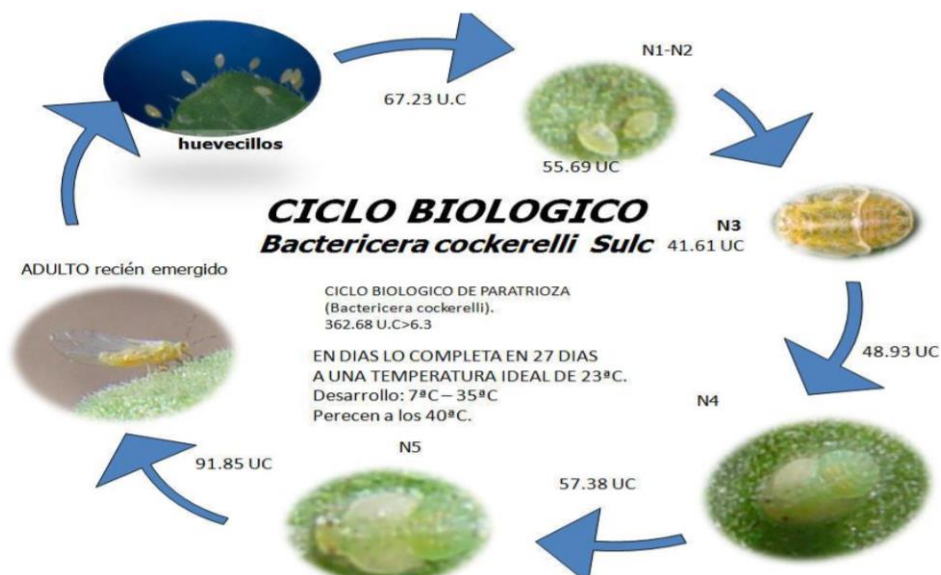


Figura 2. Ciclo biológico de *Bactericera cockerelli* (Fuente: <https://goo.gl/images/d3G1kY> )



## **Daños en Solanáceas causadas por *Bactericera cockerelli***

### **Directos**

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

### **Indirectos**

La principal enfermedad de la papa es la punta morada, originalmente descrita en Estados Unidos y transmitida por chicharritas. A una enfermedad similar en papa observada en México, se le asignó el mismo nombre y estudios moleculares del ADN concluyeron que es causada por un fitoplasma del grupo del áster yellow (Leyva-López y Col, 2002) y que a diferencia de los reportes de Estados Unidos, en México la punta morada de la papa parece ser transmitida por *B. cockerelli* y no por chicharritas (Garzón, 2002, Garzón *et al.*, 2005)

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

## **Transmisión de *Candidatus Liberibacter solanacearum***

Liefting *et al.* (2009) menciona que *B. cockerelli* es el principal vector de *Candidatus Liberibacter solanacearum*. El insecto adquiere la bacteria al alimentarse de las plantas infectadas, la cual, pasa a través de la barrera intestinal, se multiplica dentro del vector y una vez que llega a las glándulas salivales es transmitida a otra planta durante el proceso de alimentación, *Candidatus Liberibacter* es una bacteria persistente que se reproduce dentro del insecto vector y puede transmitirse de generación en generación de forma trans-ovarica (Pelz-Stelinsky *et al.*, 2010).

## **Generalidades de los Haplotipos**

El término biotipo para referirse a una población con alguna diferenciación genética o fenotípica con respecto a otra población, la cual está en el mismo rango polimórfico de lo que taxonómicamente se define como especie (Lewter *et al.*, 2006) Dentro de los biotipos se pueden encontrar diferencias a nivel molecular que generan haplotipos (Lewter *et al.*, 2006, Nagoshi *et al.*, 2007 a y b). Un “haplotipo” es definido básicamente como una única forma genética que difiere de cualquier otra forma por variaciones en las posiciones individuales (al menos en un nucleótido) en una secuencia de ADN (Templeton, 2006).

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

## Variabilidad genética en poblaciones de *Bactericera cockerelli*

Romney (1939) indicó que el triozido del tomate desarrolló grandes poblaciones migratorias de primavera en los mal llamados "sitios de cría durante el invierno" en el sur de Arizona desde enero hasta mayo en *Lycium spp.* Por lo general, los triozidos migraron a Colorado, Nebraska y otros estados del norte.

Pletsch (1947) después indicó que el origen anual de las poblaciones ocurrió mucho más lejos y migraron del Sur de Texas (cerca del Río Grande) o incluso de México que posteriormente migraron a Arizona y Nuevo México. Así, dados los brotes iniciales en 2001 en el sur de California, las poblaciones a lo largo de la costa oeste de América del Norte podrían haberse originado en Baja California (México) (posiblemente a partir de trasplantes desde México) o desde mucho más al este cerca del sur de Texas.

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

En un estudio posterior, Jackson *et al.*, (2009) demostraron mediante el uso de secuencias repetidas de marcadores (ISSR) la cercanía genética entre *B. cockerelli* de Coahuila, México y Texas, Estados Unidos, evidenciando con ello las migraciones que este insecto realiza al Norte entrando la primavera (Shufrán y Payton 2009).

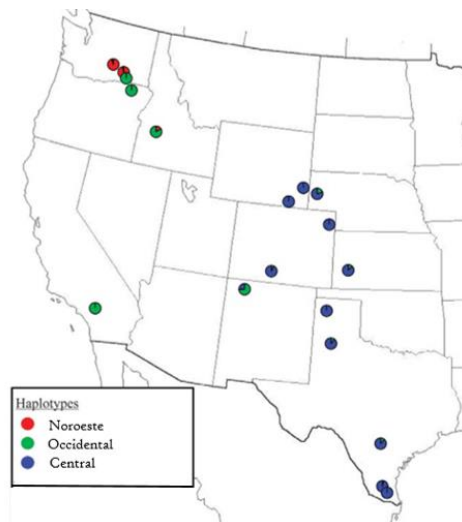
Los estudios previos de variabilidad genética en poblaciones de triozidos de papa han revelado biotipos separados dentro de *B. cockerelli* que coinciden con la separación geográfica de las poblaciones de triozidos de papa (Liu *et al.*, 2006, Jackson *et al.*, 2009). Los biotipos de insectos reflejan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

## Haplotipos presentes de *Bactericera cockerelli*

Los estudios de mapeo poblacional han identificado a tres haplotipos distintos dentro de los Estados Unidos, que están asociados con tres regiones geográficas diferentes: Central, Occidental y Noroeste.

El haplotipo Noroeste se ha encontrado solo en Idaho, Oregón y Washington (Liu *et al.*, 2006; Swisher *et al.*, 2012, 2013, datos no publicados de K. D. Swisher), El haplotipo occidental se ha encontrado desde Baja California, el sur de California y Nuevo México, hasta Idaho, Oregón y Washington y el haplotipo Central ha sido identificado en el este de México y desde Texas hasta Dakota del Norte y Wyoming (Figura 3) (Liu *et al.*, 2006, Chapman *et al.*, 2012, Swisher *et al.*, 2012, 2013).

A la fecha se han hecho estudios de mapeo del haplotipo Central en México en la que se ha ido encontrando en Toluca, Querétaro (Swisher *et al.*, 2013) y Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, S.L.P, Nayarit, Nuevo León y Durango (Figura 4)(Gomez,2017).



**Figura 3.** Distribución geográfica de tres haplotipos de trioxidos en los Estados Unidos Central y Occidental. El haplotipo Central se encontró en trioxidos recolectados en Texas, Kansas, Nebraska, Wyoming, Colorado y Nuevo México. (azul). El haplotipo occidental se encontró en trioxidos recolectados en Nuevo México, California, Oregón, Washington y Idaho.(verde), mientras que el haplotipo Noroeste se encontró en trioxidos recolectados en Washington e Idaho (rojo) (Tomado de Swisher *et al.*, 2012).



**Figura 4.** Distribución geográfica del haplotipo Central en trioxidos en México cada uno de los cuales se resalta su ubicación marcados con un globo (Tomado de Gómez, 2017).

## MATERIALES Y METODOS

### Obtención de muestras de *Bactericera cockerelli*

Se recolectaron tanto adultos como ninfas de *Bactericera cockerelli* de 15 estados de la República Mexicana (cuadro 2). La recolecta de *Bactericera cockerelli* se realizó mediante el uso de una red entomológica. Los insectos se introdujeron en un frasco con alcohol al 70 % debidamente etiquetado para conservarlos y llevados posteriormente al laboratorio de Parasitología Molecular de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, en la región sureste del estado, para su posterior análisis.

**Cuadro 2.** Municipios y estados de colecta de insectos de *Bactericera cockerelli*

Lugar de Colecta	
Municipio	Estado
Saltillo	Coahuila
Galeana	Nuevo León
Ejido de la Concha	Nuevo León
Ciudad Victoria	Tamaulipas
San Luis Potosí	San Luis Potosí
Cajeme	Sonora
Santa Clara, Culiacán	Sinaloa
Bahía de Banderas	Nayarit
El Marques	Querétaro
Texcoco	Estado de México
Pénjamo	Guanajuato
Apatzingán	Michoacán
Yecapixtla	Morelos
Nativitas	Tlaxcala
Zimatlan de Álvarez	Oaxaca

### Obtención de Muestras de Tejido Vegetal

Se obtuvieron muestras de tejido vegetal de diferentes cultivos y en diferentes estados de México (cuadro 3). Los cultivos muestreados fueron tomate (*Solanum lycopersicum*), tomate de cascara (*Physalis ixocarpa*), y diferentes variedades de chile (*Capsicum annuum*). Se recolectaron hojas que mostraban síntomas potenciales de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, se metieron en bolsas Ziploc conservándolas en una hielera. Posteriormente fueron llevados al laboratorio de Parasitología Molecular de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, en la región sureste del estado, Las muestras fueron conservadas a -20° C hasta su procesamiento de extracción de ADN.

**Cuadro 3.** Municipios y estados de colecta del material vegetal

Lugar de Colecta	
Municipio	Estado
Texcoco	Estado de México
Atlixco	Puebla
Pénjamo	Guanajuato
Galeana	Nuevo León
Saltillo	Coahuila
San Luis Potosí	San Luis Potosí
Apatzingán	Michoacán
El marques	Querétaro
Atlixco	Puebla
Yecapixtla	Morelos

### Extracción de ADN de *Bactericera cockerelli*

El ADN se extrajo de forma individual de triozidos de *B. cockerelli* capturados en cada sitio, se empleó la técnica descrita por Doyle & Doyle, (1990) con modificaciones. La extracción del ADN se hizo por insecto macerándolo en un tubo Eppendorf y agregando 300 µL de solución de buffer de extracción. Posteriormente se adicionaron 200 µL de cloroformo-alcohol isoamilico (24:1) y se mezcló en vortex durante 30 s.

La solución se centrifugo a 12000 rpm a temperatura ambiente por 15 min. Se recuperó el sobrenadante en un tubo nuevo y se le adiciono una cantidad proporcional al volumen recuperado de isopropanol. Se mezcló con inversiones suaves y se incubo durante 10 min a -20°C. La solución se centrifugo a 12000 rpm a temperatura ambiente por 10 min para precipitar y formar una pastilla de ADN en el fondo del tubo. Se decantó el isopropanol, Se agregaron 300 µL de etanol al 70 %, se lavó la pastilla con inversiones suaves, se desechó el etanol y se dejó secar la pastilla a temperatura ambiente. Finalmente se suspendió la pastilla en 20 o 30 µL de agua inyectable (dependiendo del tamaño de la pastilla obtenida).

### **Extracción de ADN de material vegetal**

Se extrajo ADN del material vegetal recolectado en cada sitio. De igual manera se empleó la técnica de CTAB 3%. Las muestras se maceraron en morteros mediante la utilización de hielo seco, el extracto de material vegetal se recuperó y se depositó en un tubo Eppendorf frio al que se añadió 500 µL de buffer de extracción a 65 °C, se dejó en baño maría por 45 min y posteriormente se agito 30 seg. en el vortex, A continuación, se le añadió 500 µl de cloroformo-alcohol isoamilico (24:1). La solución de centrifugó a 12,000 rpm a temperatura ambiente por 15 min. Se recuperó a un tubo nuevo la fase liquida (sobrenadante) y se le adiciono una cantidad proporcional al volumen recuperado de isopropanol frio. Se mezcló con inversiones suaves y se incubo durante 10 min a -20 °C. La solución se centrifugó a 12000 rpm a temperatura ambiente por 10 min para precipitar y formar una pastilla de ADN en el fondo del tubo. Se decantó el isopropanol, se agregaron 300 µl de etanol al 70 %, se lavó la pastilla con inversiones suaves, se desechó el etanol y se deja secar a temperatura ambiente. Finalmente se suspendió la pastilla en 50 µl de agua inyectable y posteriormente se corrió en un gel de agarosa al 1% por electroforesis para verificar la integridad del ADN.



## PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)

Para detectar si las muestras de tejido vegetal y los insectos estaban infectados con *Candidatus Liberibacter solanacearum*, se realizó una PCR en punto final usando los primers CL514F y CL514R (Cuadro 4). Para determinar el haplotipo de *Bactericera cockerelli*, se realizó una PCR en punto final con los primers CO1F3 y CO1R3 (Cuadro 4).

La mezcla de reacción usada en los dos casos fue: 25 µL de Taq&GoT Mastermix (MP Biomedicals), 1.5 µL de cada primer, 1 µL de ADN y 3.5 µL de H<sub>2</sub>O. Las condiciones de amplificación para los primers CO1R3 y CO1F3 fueron: un ciclo de desnaturalización inicial a 94°C 5 min, seguido de 40 ciclos de 95°C 30 s, 59°C 30 s y 72°C 1 min, más un ciclo de extensión final a 72°C 10 min.

Las condiciones de amplificación para los primers CL514F y CL514R fueron: un ciclo de desnaturalización inicial a 94°C 5 min, seguido de 42 ciclos de 95°C 30 s, 51°C 30 s y 72°C 1 min, más un ciclo de extensión final a 72°C 10 min.

Los productos obtenidos se corrieron en un gel de agarosa al 1% a 80 V durante 40 min (1X TAE) que contenía bromuro de etidio y se visualizó el ADN en un transiluminador.

**Cuadro 4.** Primers usados para determinar los haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CLsol) y de *Bactericera cockerelli*

Gen que amplifica	Nombre del primer	Secuencia 5'-3'
50S rRNA de CLsol	CL514F CL514R	CTCTAAGATTTTCGGTTGGTT TATATCTATCGTTGCACCAG
Citocromo oxidasa subunidad 1 de <i>B. cockerelli</i>	CO1 F3 CO1 R3	TACGCCATACTAGCAATCGG GAGTAACGTCGTGGTATCC

### **Determinación de haplotipos mediante comparación de secuencias.**

Los productos de PCR obtenidos se mandaron a Secuenciar al Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT). Las secuencias obtenidas se compararon en el GenBank transfiriendo los datos al portal electrónico del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) para determinar a que haplotipos pertenecían las muestras, consultando la literatura donde se han reportado los diferentes haplotipos (Nelson *et al.*,2011; Fernández *et al.*,2017 y Crosslin *et al.*,2014).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Muestras de *Bactericera cockerelli*

Las muestras del insecto obtenidas, los cultivos asociados, los municipios y estados donde se realizó la colecta se muestran en el Cuadro 5. Cabe señalar que las muestras con asterisco en el Cuadro 5 se colectaron de forma directa, mientras que las restantes fueron muestras conseguidas con la ayuda de compañeros estudiantes de la carrera de Ingeniero Agrónomo Parasitólogo o del posgrado en Parasitología Agrícola, por ello para el caso de los especímenes de Nayarit y Guanajuato no se tiene el dato del cultivo asociado.

**Cuadro 5.** Lugares de colecta, estado del insecto colectado y cultivo asociado.

Lugar de Colecta		Muestra	Cultivo asociado
Municipio	Estado		
Saltillo*	Coahuila	Adultos	Tomate (invernadero)
		Adultos/ninfas	Tomate (invernadero)
		Adultos	Papa (campo)
Galeana*	Nuevo León	Adultos	Tomate (invernadero)
Ejido de la concha	Nuevo León	Adultos	Alfalfa (campo)
Ciudad Victoria	Tamaulipas	Adultos	Chile serrano (huerto urbano)
San Luis Potosí	San Luis Potosí	Adultos	Tomate (invernadero)
Cajeme	Sonora	Adultos	Chile (campo)
Culiacán	Sinaloa	Adultos	Chile (campo)
Bahía de Banderas	Nayarit	Adultos	Sin dato
El Marques	Querétaro	Adultos	Tomate (invernadero)
Texcoco*	Estado de México	Adultos	Tomate y tomate verde (campo)
Pénjamo	Guanajuato	Adultos	Sin dato
Apatzingán	Michoacán	Adultos/ninfas	Tomate (campo)
Yecapixtla*	Morelos	Adultos	Tomate (campo)
Nativitas*	Tlaxcala	Adultos	Tomate verde (campo)
Zimatlan de Álvarez	Oaxaca	Adultos	Tomate (campo)

\* Muestras que se colectaron directamente

## Muestras de material vegetal

El material vegetal colectado y los sitios de colecta se muestran en el Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Lugares de colecta y cultivos con síntomas de CLsol colectados

Lugar de Colecta		Cultivo asociado	Variedad
Municipio	Estado		
Texcoco	Estado de México	Chile	Jalapeño
		Tomate	-
		Tomate Verde	-
Yecapixtla	Morelos	Tomate	Saladette
Galeana	Nuevo León	Tomate	Saladette var. El Cid
Saltillo	Coahuila	Tomate	-
San Luis Potosí	San Luis Potosí	Tomate	Ramses
Apatzingán	Michoacán	Tomate	Primor
El marques	Querétaro	Tomate	Rio Grande
Atlixco	Puebla	Tomate	Cherry
Yecapixtla	Morelos	Chile	Morrón

A pesar de que todas las muestras de tejido vegetal presentaban síntomas de estar infectadas con CLsol, solo dieron positivo mediante la detección con PCR las muestras provenientes de San Luis Potosí.

### Determinación de haplotipos de *Bactericera cockerelli*

En la Figura 5 se muestra un ejemplo de la secuencia de nucleótidos obtenida después de haber mandado a secuenciar el producto de PCR con los primers CO1F3 y CO1R3.

5'-

```
GGTATAGATGTTGATTCTCGTGCCTATTTCACTTCCGCAACTATAATTATTGCTGTCCCTACAGGAA
TTAAAATTTTTAGTTGATTAGCAACTATTTATGGGATAAAAATATATTTTTCTCCAAGTATTATTTGA
TCTCTAGGATTCATTTTCTGTTTACACTGGGAGGTTTAACAGGTGTAATTTTAGCAAATTCCTCAA
TTGACATTATTTTACATGACACATACTATGTAGTAGCACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGC
TGTATTTGCAATTATTGCTAGATTTATTAATTGATACCCTTTAATAACAGGAGTAATTATAAATAAA
ACTTTATTAATAAAC-3
```

**Figura 5.** Resultado de la secuenciación obtenida de la muestra de Culiacán, Sinaloa.

Las secuencias obtenidas de cada uno de los estados muestreados (Cuadro 5) presentaron un 100 % de similitud con la secuencia del haplotipo Central de *Bactericera cockerelli* del estado Nebraska, EE.UU. (no. acceso JQ708094.1) al ser comparada con la base de datos del GenBank (Figura 6).

CULIACAN,SIN	1	CATCATATATTTACAGTAGGTATAGATGTTGATTCTCGTGCCTATTTCACTTCCGCAACT	60
GB. NEBRASKA	46	CATCATATATTTACAGTAGGTATAGATGTTGATTCTCGTGCCTATTTCACTTCCGCAACT	105
CULIACAN,SIN	61	ATAATTATTGCTGTCCCTACAGGAATTAATAATTTTTAGTTGATTAGCAACTATTTATGGG	120
GB. NEBRASKA	106	ATAATTATTGCTGTCCCTACAGGAATTAATAATTTTTAGTTGATTAGCAACTATTTATGGG	165
CULIACAN,SIN	121	ATAAAAATATATTTTTCTCCAAGTATTATTTGATCTCTAGGATTCATTTTCCTGTTTACA	180
GB. NEBRASKA	166	ATAAAAATATATTTTTCTCCAAGTATTATTTGATCTCTAGGATTCATTTTCCTGTTTACA	225
CULIACAN,SIN	181	CTGGGAGGTTTAAACAGGTGTAATTTTAGCAAATTCCTCAATTGACATTATTTTACATGAC	240
GB. NEBRASKA	226	CTGGGAGGTTTAAACAGGTGTAATTTTAGCAAATTCCTCAATTGACATTATTTTACATGAC	285
CULIACAN,SIN	241	ACATACTATGTAGTAGCACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGTATTTGCAATT	300
GB. NEBRASKA	286	ACATACTATGTAGTAGCACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGTATTTGCAATT	345
CULIACAN,SIN	301	ATTGCTAGATTTATTAATTGATACCCTTTAATAACAGGAGTAATTATAAATAAAACTTTA	360
GB. NEBRASKA	346	ATTGCTAGATTTATTAATTGATACCCTTTAATAACAGGAGTAATTATAAATAAAACTTTA	405

**Figura 6.** Alineamiento y comparación de la muestra obtenida a partir de triozidos procedentes de Culiacán, Sinaloa, con la reportada en el GenBank (No. Acceso JQ708094.1), de Nebraska, EE.UU identificada como haplotipo Central.

## Ubicación geográfica del haplotipo Central de *Bactericera cockerelli* en México

En el Cuadro 7 y Figura 7 se muestra el municipio exacto y ubicación geográfica dentro del país donde se encontró presente el haplotipo Central de *Bactericera cockerelli*.

**Cuadro 7.** Lista de municipios y estados donde se colectaron insectos de *B. cockerelli*, así como letra de referencia usada en la Figura 7.

Letra usada en el mapa	Lugar de Colecta	
	Municipio	Estado
A	Saltillo	Coahuila
B	Galeana	Nuevo León
C	Ejido de la concha	Nuevo León
D	Ciudad Victoria	Tamaulipas
E	San Luis Potosí	San Luis Potosí
F	Cajeme	Sonora
G	Culiacán	Sinaloa
H	Bahía de Banderas	Nayarit
I	El Marques	Querétaro
J	Texcoco	Estado de México
K	Pénjamo	Guanajuato
L	Apatzingán	Michoacán
M	Yecapixtla	Morelos
N	Nativitas	Tlaxcala
Ñ	Zimatlán de Álvarez	Oaxaca



**Figura 7.** Ubicación geográfica del haplotipo central de *Bactericera cockerelli* en México.

## Determinación de haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Las muestras tanto de tejido vegetal como de insectos que dieron positivo para la presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* mediante la técnica de PCR con los primers CL514R y CL514F se muestran en el Cuadro 8.

**Cuadro 8.** Muestras positivas a *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

Numero de Muestra	Tipo de muestra	Lugar de Colecta
450	Follaje de Tomate	San Luis Potosí, San Luis Potosí
451	Follaje de Tomate	San Luis Potosí, San Luis Potosí
410	Adulto de <i>Bactericera cockerelli</i>	Texcoco, Estado de México (sobre tomate y tomate de cascara)
409	Adulto de <i>Bactericera cockerelli</i>	El Marques, Querétaro (sobre tomate)
529	Adulto de <i>Bactericera cockerelli</i>	San Luis Potosí, San Luis Potosí (sobre tomate)

La Figura 8 muestra los resultados de la secuenciación enviada por el Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) de las amplificaciones de PCR. (Ver Cuadro 8 para identificar el número de muestra)

### Muestra 450

```
AAAGATATGCTTACCCAAGATTCAATCAAGAAAATTGCTTCCTTGCCAAATATTGAGGAAATTCGCTCTGGT
ATTTTAAGTGCTATTCAGTCCAGTGCAACTAGATTGGTTATGCTGCTTGAAACACCTCAGAATCAGATTGTT
CGTGTTCTTTCTGCTTTTGAGGAGAAGAATCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAACTAAGATAAA
AAAAGGAAATGTGTAATATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAG
CTGCAGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAATGGGGTGGTTTCTGCTTCTGCTCCTGTTGCTGTATCGGCT
TCCGCAGCAACAGAAAGTGTGCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGTTGTTTTAACAGGTTTTAATGC
TACGAGCAAAATCAATGTTATTAAGGAAGTACGTGCGATCACTAATTTAGGTCTCAAAGAAGCCAAAGAGC
TTGTGGAAGTTCTCCAAGAGCTTAAAGGGGGCGT
```

### Muestra 451

```
AAAGATATGCTTACCCAAGATTCAATCAAGAAAATTGCTTCCTTGCCAAATATTGAGGAAATTCGCTCTGGT
ATTTTAAGTGCTATTCAGTCCAGTGCAACTAGATTGGTTATGCTGCTTGAAACACCTCAGAATCAGATTGTT
```



CGTGTTCTTTCTGCTTTTGAGGAGAAGAATCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAACTAAGATAAA  
AAAAGGAAATGTGTAATATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAG  
CTGCAGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTCTGCTTCTGCTCCTGTTGCTGTATCGGCT  
TCCGCAGCAACAGAAAGTGTGCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGTTGTTTTAACAGGTTTTAATGC  
TACGAGCAAAATCAATGTTATTAAGGAAGTACGTGCGATCACTAATTTAGGTCTCAAAGAAGCCAAAGAGC  
TTGTGAAAGTTCTCAAAGAGCTTAAAGGGGGCGT

Muestra 410

TCTTTGGCTTCTTTGAGACCTAAATTAGTGATCGCACGTACTTCCTTAATAACATTGATTTTGCTCGTAGCA  
TTAAACCTGTTAAACAACATCAAATTCAGTCTTTTCAGCAACAGCAACACTTTCTGTTGCTGCGGAAGC  
CGATACAGCAACAGGAGCAGAAGCAGAAACACCCATTTTTCTTCTAATTTCTCGAAAGCTCTGCAGCTT  
GAATAAGAGTAAGAGACGACAATTGTTCAACAATTGATTCAATATTGGACATATTACACATTTCTTTTTTA  
TCTTAGTTTTTTACAATTAACAGAATACTTGCCGATTCTTCTCCTCAAAGCAGAAAGAACACGAACA  
ATCTGATTCTGAGGTGTTCAAGCAGCATAACCAATCTAGTTGCACTGGACTGAATAGCACTTAAATACC  
AGAGCGAATTTCTCAATATTTGGCAAGGAAGC

Muestra 409

CCTCCTTTAAGCTCTTTGGAGAACTTTCCACAAGCTCTTTGGCTTCTTTGAGACCTAAACTAGTGATTGCA  
CGTACTTCCTTAATAACATTGATTTTGCTCGTAGCATTAAACCTGTTAACACAACATCAAATTCAGTCTTTT  
CAGCAACAGCAACACTTTCTGTTGCTGCGGAAGCCGATACAGCAGCAGGAGCAGAGGCAGAAACACCCC  
ATTTTTCTTCTAATTTCTCGAAAGCTCTGCAGCTTGAATAAGAGTAAGAGACGACAATTGTTCAACAATTG  
ATTCAATATTGGACATATTACACATTTCTTTTTTTATTTTAGTTTTTTACAATTAACAGAATACTTGCC  
GATTCTTCTCCTCAAAGCAGAAAGAACACGAACAATATGATTCTGAGGTGTTCAAGAAGCATAACCAAT  
CTAGTTGCAGTGGACTGAATAGCACTTAAATACCAGAGCGAATTTCTCAATATTTGGCAAGGAAG

Muestra 529

GCCAAATATTGAGGAAATTCGCTCTGGTATTTTAAGTGCTATTCAGTCCACTGCAACTAGATTGGTTATGC  
TTCTTGAAACACCTCAGAATCATAATTGTTTCGTGTTCTTTCTGCTTTTGAGGAGAAGAATCGGCAAGATTAGT  
TCTGTTAATTGTAAAAAACTAAAATAAAAAAAGGAAATGTGTAATATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAA  
CAATTGTCGTCTTACTCTTATTCAAGCTGCAGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTC  
TGCCCTGCTCCTGCTGTATCGGCTTCCGCAGCAACAGAAAGTGTGCTGTTGCTGAAAAGACTGAA  
TTTGATGTTGTGTTAACAGGTTTTAATGCTACGAGCAAAATCAATGTTATTAAGGAAGTACGTGCAATCACT  
AGTTTAGGTCTCAAAGAAGCCAAAGAGCTTGTGAAAGTTCTCAAAGAGCTTAAAGG

**Figura 8.** Resultados de secuenciación obtenida de *Candidatus Liberibacter solanaceum* proveniente de las muestras del Cuadro 8.

Los resultados de la comparación de las secuencias obtenidas contra los haplotipos de CLsol reportados en la bibliografía (Nelson *et al.*, 2011) mediante alineamiento múltiple usando la herramienta CLUSTAL OMEGA ( <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/> ) se muestra en las Figuras 9,10,11,12, 13 y 14.

```

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
M450_SL                          *****

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      AGAGCTTTCGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      AGAGCTTTCGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      AGAGCTTTCGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1      AGAGCTTTCGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
M450_SL                          AGAGCTTTCGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
***** * **

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      TGTATCGGCTTCCGACAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      TGTATCGGCTTCCGACAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      TGTATCGGCTTCCGACAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1      TGTATCGGCTTCCGACAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
M450_SL                          TGTATCGGCTTCCGACAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
*****

```

**Figura 9.** Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de follaje de tomate y colectada en San Luis Potosí, San Luis Potosí en la cual se observa que pertenece al haplotipo “A”.

```

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      GCTTCTTGAAACACCTCAGAATCAGATTGTTGCGTGTTCCTTCTGCTTTTGAGGAGAAGAA
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      GTTGCTTGAAACGCCTCAGAATCAGATTGTTGCGTGTTCCTTCTGCTTTTGAGGAGAAGAA
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      GCTTCTTGAAACACCTCAGAATCATATTGTTGCGTGTTCCTTCTGCTTTTGAGGAGAAGAA
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1      GCTGCTTGAAACACCTCAGAATCAGATTGTTGCGTGTTCCTTCTGCTTTTGAGGAGAAGAA
M451_SL                          GCTGCTTGAAACACCTCAGAATCAGATTGTTGCGTGTTCCTTCTGCTTTTGAGGAGAAGAA
* * *****

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      TCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAACTAAGATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      TAGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAACTAAGATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      TCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAA-CTAAAATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1      TCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAA-CTAAGATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
M451_SL                          TCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAA-CTAAGATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
* *****

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
M451_SL                          TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
*****

```

**Figura 10.** Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de follaje de tomate y colectada en San Luis Potosí, San Luis Potosí en la cual se observa que pertenece al haplotipo “A”.

```

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1       TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
YRP409      *****

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCTGCTGTTGC
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCT---CTGTTGC
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1       AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCT---CTGTTGC
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCT---CTGCTGC
YRP409      AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCT---CTGCTGC
*****      *****      ***

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      TGTATCGGCTTCCGCAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      TGTATCGGCTTCCGCAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1       TGTATCGGCTTCCGCAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      TGTATCGGCTTCCGCAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
YRP409      *****

```

**Figura 11.** Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de Adulto de *Bactericera cockerelli* y colectada en el Marques, Querétaro en la cual se observa que pertenece al haplotipo “B”.

```

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      TCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAACTAAGATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      TAGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAACTAAGATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      TCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAA-CTAAAATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1       TCGGCAAGATTAGTTCTGTTAATTGTAAAAAA-CTAAGATAAAAAAAGGAAATGTGTAA
YRP410      * *****

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1       TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTTACTCTTATTCAAGCTGC
YRP410      *****

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1      AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCTGCTGTTGC
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1      AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCT---GTTGC
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1      AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCT---GCTGC
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1       AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCT---GTTGC
YRP410      AGAGCTTTTGAAGAAATTAGAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCCT---GTTGC
*****      *****      *

```

**Figura 12.** Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de Adulto de *Bactericera cockerelli* y colectada en Texcoco, Estado de México en la cual se observa que pertenece al haplotipo “A”.

```

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1
YR529CL-F_A03_13FEBRERO18_2018-02-13-18-45-52

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1
YR529CL-F_A03_13FEBRERO18_2018-02-13-18-45-52

Haplotipo_C_50_S_GU373050.1
Haplotipo_D_50_S_HQ454306.1
Haplotipo_A_50S_FJ957895.1
Haplotipo_B_50_S_FJ498807.1
YR529CL-F_A03_13FEBRERO18_2018-02-13-18-45-52

TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTACTCTTATTCAAGCTGC
TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTACTCTTATTCAAGCTGC
TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTACTCTTATTCAAGCTGC
TATGTCCAATATTGAATCAATTGTTGAACAATTGTCGTCTCTACTCTTATTCAAGCTGC
*****

AGAGCTTTTGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
AGAGCTTTTGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
AGAGCTTTTGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
AGAGCTTTTGAAGAAATAGAAAGAAAAATGGGGTGTTCCTGCTCTGCTCTGCTCTGCTGTTGC
*****

TGTATCGGCTCCGCGAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
TGTATCGGCTCCGCGAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
TGTATCGGCTCCGCGAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
TGTATCGGCTCCGCGAGCAACAGAAAGTGTTCCTGTTGCTGAAAAGACTGAATTTGATGT
*****

```

**Figura 13.** Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de CLsol extraída de Adulto de *Bactericera cockerelli* y colectada en San Luis Potosí, San Luis Potosí en la cual se observa que pertenece al haplotipo “B”.

```

YR524F_E07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Saltillo,Coahuila
YR532F_G07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Alvarez,Oaxaca
YR520F_G06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Culiacan-Sinaloa
YR480-_A06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Concha-Nuevo-Leon
YR518F_C06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Cd-Tamaulipas
YR519F_E06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Cajeme-Sonora
YR521F_A07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06San-Luis-Potosi
YR523_C07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Edo-de-Mexico

YR524F_E07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Saltillo,Coahuila
YR532F_G07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Alvarez,Oaxaca
YR520F_G06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Culiacan-Sinaloa
YR480-_A06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Concha-Nuevo-Leon
YR518F_C06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Cd-Tamaulipas
YR519F_E06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Cajeme-Sonora
YR521F_A07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06San-Luis-Potosi
YR523_C07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Edo-de-Mexico

YR524F_E07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Saltillo,Coahuila
YR532F_G07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Alvarez,Oaxaca
YR520F_G06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Culiacan-Sinaloa
YR480-_A06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Concha-Nuevo-Leon
YR518F_C06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Cd-Tamaulipas
YR519F_E06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Cajeme-Sonora
YR521F_A07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06San-Luis-Potosi
YR523_C07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Edo-de-Mexico

YR524F_E07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Saltillo,Coahuila
YR532F_G07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Alvarez,Oaxaca
YR520F_G06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Culiacan-Sinaloa
YR480-_A06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Concha-Nuevo-Leon
YR518F_C06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Cd-Tamaulipas
YR519F_E06_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Cajeme-Sonora
YR521F_A07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06San-Luis-Potosi
YR523_C07_22feb18sec_2018-02-22-17-06-06Edo-de-Mexico

ACATACTATGTAGTACACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTTGCAATT
ACATACTATGTAGTACACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTTGCAATT
ACATACTATGTAGTACACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTTGCAATT
ACATACTATGTAGTACACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTTGCAATT
ACATACTATGTAGTACACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTTGCAATT
ACATACTATGTAGTACACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTTGCAATT
ACATACTATGTAGTACACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTTGCAATT
ACATACTATGTAGTACACATTTCCATTATGTTCTATCTATAGGGGCTGATTTGCAATT
*****

```

**Figura 14.** Alineamiento y comparación mediante CLUSTAL OMEGA de la secuencia de la muestra de Adulto de *Bactericera cockerelli* colectada en Invernaderos en Saltillo, Coahuila en la cual se observa como un nucleótido difiere de los demás haplotipos centrales reportados en el cual se ve señalado con una línea roja en esta imagen.

**Cuadro 9.** Haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* encontrados en México.

Numero de Muestra	Tipo de muestra	Lugar de Colecta	Haplotipo
450	Follaje de Tomate	San Luis Potosí, San Luis Potosí	A
451	Follaje de Tomate	San Luis Potosí, San Luis Potosí	
410	Adulto de <i>Bactericera cockerelli</i>	Texcoco, Estado de México (sobre tomate y tomate de cascara)	
409	Adulto de <i>Bactericera cockerelli</i>	El Marques, Querétaro (sobre tomate)	B
529	Adulto de <i>Bactericera cockerelli</i>	San Luis Potosí, San Luis Potosí (sobre tomate)	

### Ubicación geográfica de los haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en México

En la figura 15 se muestran los estados donde se encontraron presentes los haplotipos A Y B en México de acuerdo a las colectas reportadas en el Cuadro 9.



**Figura 15.** Ubicación geográfica del haplotipo A Y B de *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

Trabajos previos de haplotipificación de *Bactericera cockerelli* han reportado al haplotipo Central en los estados de Querétaro y Estado de México (Toluca) (Swisher *et al.*, 2013) así como en los estados de Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, S.L.P, Nayarit, Nuevo León y Durango (Gómez, 2017). Estos resultados son similares a los encontrados en el presente trabajo para los estados de Querétaro, Estado de México, San Luis Potosí y Nuevo León. El presente trabajo reporta además el mismo haplotipo para Tamaulipas, Sonora, Sinaloa, Michoacán, Tlaxcala y Oaxaca, proporcionando un registro del haplotipo Central más completo dentro de nuestro país. La muestra proveniente de Saltillo, Coahuila, mostró ser similar al haplotipo Central salvo en una base. Debido a que solo se identificó este cambio en un insecto, no existen aun las bases suficientes para concluir que existe un haplotipo nuevo, ya que puede tratarse de una mutación puntual. Una mutación puntual o genética son aquellas que producen alteraciones en la secuencia de nucleótidos en un solo gen y se puede dar por errores al duplicar o reparar el material hereditario (Kremenchutzky y Vázquez, 2015). Para determinar si el ejemplar analizado es un nuevo haplotipo se recomienda analizar más insectos del mismo sitio de muestreo.

Respecto a los cultivos donde se reporta la presencia de *B. cockerelli*, en México se encuentra distribuida en 17 Estados y son zonas donde se cultivan papa, tomate y chile, principalmente (Swisher *et al.*, 2013, Gomez,2017). En los Estados de Sinaloa, San Luis Potosí, Baja California Norte, Guanajuato, Michoacán, Estado de México, Morelos y en Coahuila, esta plaga ha presentado daños de consideración en los cultivos de papa, tomate y chile (Licona,2009). El reporte del insecto sobre alfalfa en Nuevo León es nuevo por lo cual se sugiere seguir haciendo Investigación para corroborar si el cultivo de alfalfa pudiera ser un posible hospedero de *Bactericera cockerelli*.

Es muy amplia la distribución de los haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en EE.UU, México, Guatemala y Honduras (Nelson *et al.*, 2011), Actualmente en México hay reportes de haplotipo A en muestras de chile y tomate provenientes del estado de Sinaloa, y haplotipo B en muestras de papa provenientes de los Estados de Chihuahua y Saltillo Coahuila (Nelson *et al.*, 2011). El presente

trabajo aporta información nueva del haplotipo A en muestras de follaje del tomate proveniente de los estados San Luis Potosí y Edo de México y haplotipo B en muestras de adultos de *Bactericera cockerelli* provenientes de los estados de Querétaro y San Luis Potosí.

## CONCLUSIONES

El haplotipo de *Bactericera cockerelli* fue Central para los estados de Querétaro, Estado de México, San Luis Potosí y Nuevo León, coincidiendo con lo ya reportado en la bibliografía.

Se reporta por primera vez el haplotipo Central de *B. cockerelli* para los estados de Tamaulipas, Sonora, Sinaloa, Michoacán, Tlaxcala y Oaxaca.

Se encontró una posible mutación puntual en la secuencia analizada del insecto de la muestra proveniente de Saltillo, Coahuila.

Los haplotipos de *Candidatus Liberibacter solanacearum* encontrados fueron el A en muestras de follaje del tomate proveniente de los estados San Luis Potosí y Edo de México y B en muestras de adultos de *Bactericera cockerelli* provenientes de los estados de Querétaro y San Luis Potosí. Los haplotipos encontrados en los sitios de colecta antes mencionados es nueva información para México.



## LITERATURA CITADA

**Arslan, A., Bessey P. M., Matsuda K. and Oebker N. R.** 1985. Physiological effects of psyllid (*Paratrioza cockerelli*) on potato, *American Potato Journal*. 62: 9-22.

**Bawden, D.J.**2017. Enfermedades comunes del tomate, el pimiento, la berenjena y la papa. Garden-tech. Disponible en <https://www.gardentech.com/es/blog/pest-id-and-prevention/common-diseases-of-tomato-pepper-eggplant-and-potato> Acceso 25 de abril del 2018.

**Beltran, B.M.**2014. Inducción de resistencia en tomate (*solanum lycopersicum* L.) a *Candidatus Liberibacter solanacearum*, mediante la aplicación de alcaloides. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 78

**Bextine, B., Arp, A., Flores, E., Aguilar, E., Lastrea, L., and Soza, F., Powell, C., and Rueda, A.,** 2012. First report of zebra chip and "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" on potatoes in Nicaragua. *Plant Dis.* <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-09-12-0824-PDN>.

**Bextine, B., E. Aguilar, A.R. Rueda, O. Caceres, V.G. Sengoda, K.F. McCue, and J.E. Munyaneza.** 2013a. First report of *Candidatus Liberibacter solanacearum* on tomato in El Salvador. *Plant Disease* 97: 1245.

**Bextine, B., A. Arp, E. Flores, E. Aguilar, L. Lastrea, F.S. Gomez-Powell, and A. Rueda.** 2013b. First report of zebra chip and *Candidatus Liberibacter solanacearum* on potatoes in Nicaragua. *Plant Disease* 97: 1109.

**Boyd, J.W., Murray, D.S y Tyrl, R.J.** 1984. Silverleaf Nightshade, *Solanum elaeagnifolium*, Origin, Distribution, and Relation to Man. *Economic Botany*. 38: 210-217.

**CAB INTERNATIONAL.** 2015. "*Candidatus Liberibacter solanacearum*". Disponible en <http://www.cabi.org/isc/datasheet/109434> Acceso 30 de Marzo de 2017.

**Camacho-Tapia, M., Rojas-Martínez, R., Zavaleta-Mejía, E., Hernández-Deheza, M., Carrillo-Salazar, J., Rebollar-Alviter, A., Ochoa-Martínez, D.,** 2011. Aetiology of Chili pepper variegation from yurécuaro, México. *Journal of Plant Pathology*, 93, 331-335.

**Campos, C. A. y Villarreal J. H.** 1989. El cultivo de la papa. Monografía. Trabajo final del curso intensivo. ITESM. Monterrey, Nuevo León. México. 132 p.

**Cepeda, S. M. y Gallegos, M. G.** 2003. La papa. El fruto de la tierra. Editorial Trillas. Primera Edición. Octubre. Pp 15-35.

**Chapman, R. I., J. F. Macias-Velasco, A. P. Arp, and B. Bextine.** 2012. Using quantitative real time PCR melt curve analysis of partial CO1 sequence for rapid biotype differentiation of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Southwest Entomol.* 37: 475-484.

**Crosslin**, J. M., and J. E. Munyaneza. 2009. "Evidence that the Zebra Chip Disease and the Putative Causal Agent can be Maintained in Potatoes by Grafting and in vitro." *American Journal of Potato Research* 86: 183–187.

**Crosslin**, J. M., Munyaneza J. E., Brown J. K., Liefing L. W., 2010. Potato zebra chip disease: a phytopathological tale. *Plant Health Progress*, No.March:PHP-2010-0317-01-RV. Disponible en <http://www.plantmanagementnetwork.org/php/elements/sum.aspx?id=8676&photo=4859> Acceso 30 de Marzo de 2017.

**Crosslin**, J. M., P. B. Hamm, J. E. Eggers, S. I. Rondon, V. G. Sengoda, J. E. Munyaneza.2012. "First Report of Zebra Chip Disease and "Candidatus *Liberibacter solanacearum*" on Potatoes in Oregon and Washington State." *Plant Disease* 96: 452.

**Crosslin**, J., Hamm, P., Eggers, J., Rondon, S., Sengoda, V., Munyaneza, J., 2013. First report of zebra chip disease and "Candidatus *Liberibacter solanacearum*" on potatoes in Oregon and Washington State. *Development* 65:102.

**D’Arcy**, W. G., 1991. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. In: J. G. Hawkes, R. N. Lester, M. Nee y N. Estrada (eds.). *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry and Evolution*. Great Britain: Royal Botanical Gardens, Kew: 75-137.

**EPPO.** 2013. Data sheets on pests recommended for regulation. *Candidatus Liberibacter solanacearum*. EPPO Bulletin, 43, 197-201.

**Fernandez, A.A., Llopis, D.H., Font, M. I.** 2017. Haplotypes of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' identified in Umbeliferous crops in Spain. Eur J Plant Pathol. 5 p

**Flores, D.** 2010. Producción de Tres tipos de Chiles bajo mallas plásticas fotosselectivas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Pag. 6

**Flores, Olivas. A., Gallegos, M.G and García. O.** 2004. Memorias del simposio punta morada de la papa. Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro, Saltillo, Coahuila, México. 103 p.

**Garzón, T.J.A.** (1984). Enfermedad del "permanente" del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Celaya, Gto. XI Congreso Nacional de Fitopatología. San Luis Potosí, SLP. Resúmenes Sociedad Mexicana de Fitopatología, AC. p 138.

**Garzón, T.J.A., Garza, C.A., Bujanos, M.R.** (1986). Determinación del insecto vector de la enfermedad de tipo viral "permanente del tomate" (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en la región del Bajío, In: XIII Congreso Nacional de Fitopatología. Tuxtla Gutiérrez, Chis. Resúmenes Sociedad Mexicana de Fitopatología, AC. p 30

**Garzón, T. J. A.** 2002. "Asociación de *Paratrioza cockerelli* Sulc. con enfermedades en papa (*Solanum tuberosum*) y tomate (*Lycopersicon lycopersicum* Mil. Ex. Fawnl) en México". In: Memoria del Taller sobre 11 *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) como plaga y vector de fitoplasmas en hortalizas. Culiacán, Sinaloa, México, Pp: 79–87.

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

**Garzón, T. J. A., Cárdenas, V. O. G., Bujanos, M. R., Marín J. A., Becerra, F. A., Velarde F. S., Reyes, M. C., González, C. M y Martínez, C. J. L.** 2009. Asociación de Hemiptera: Triozidae con la enfermedad "Permanente del tomate" en México. *Agricultura Técnica en México*, 1:58-69.

**Gomez, R. C.** 2017. *Bactericera cockerelli*, Haplotipos y su Ubicación en México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. p 43.

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

**Hansen, A. K., Paine, T. P., Stouthamer, R.** 2008. Discovery of *Candidatus Liberibacter psyllae* and its insect vector the tomato psyllid (*Bactericera cockerelli*). *IRCHLB Proceedings*. Department of Entomology, University of California, Riverside, U.S.A. p 194

**Heiser, C. W.**, 1969. Systematics and the origin of cultivated plants, *Taxon* 18: 36-45.

**Hernández, D.M.G.** (2013). Etiología del variegado del Chile (*Capsicum annuum* L.) en Yurécuaro, Michoacán. Colegio de postgraduados, Campus Montecillos. Tesis de maestría. 51 p

**Hunziker, A. T.**, 1979. South American Solanaceae en J. G. Hawkes (ed.) *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae*. Academic Press, New York.

**Hodkinson, I. D.** 2009. Life cycle variation and adptation in jumping lice (Insecta:Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. *J. Nat. Hist.* 43:65-179.

**Jackson B.**, Goolsby J, Wyzykowski A, Vitovksy N, and Bextine B. 2009. Analysis of Genetic Relations hips between potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) Populations in the United States, Mexico and Guatemala Using ITS2 and Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Data. *Subtropical Plant Science* 61:1-5.

**Jensen, D. D.** 1954. Notes on the potato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc), the Pan-Pacific. *Entomologist.* 30: 161-165.

**Kremenchutzky, E.**, Vazquez, A.H.2015. Guía de Genética "MUTACIONES". INSTITUTO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS DE LA SALUD FUNDACION HÉCTOR A. BARCELÓ FACULTAD DE MEDICINA. p 3.

- Lehman, S. S. R.** 1930. Some observations on the Life History of the Tomato Psyllid (*Paratrioza cockerelli* Sulc) (Homoptera), Journal of the New York Entomological Society, 38:307-3012.
- Leyva-López, NE., Ochoa-Sánchez JC, Leal-Klevezas DS y Martínez Soriano JP.** 2002. Multiple phytoplasma Associated with potato diseases in Mexico. Canadian journal of Microbiology, 48:1062-1068.
- Lewter, J., Szalanski,A., Nagoshi,R., Meaguer,R., Owens,C y Luttrell,R.** 2006. Genetic variation within and between strains of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Florida Entomologist 89: 63-67.
- Licona, v.**2009. Problemática de La Paratrioza cockerelli (Sucl.) (*Bactericera cockerelli*) en el cultivo de papa y tomate. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. Pp. 3-4.
- Liu D., Trumble,J and Sthouthamer,R.**2006.Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) in to western North America.Entomologia Experimentalis et Applicata 118 :117-183.
- Liefting, L. W., Perez, Z. C., Clover, G. R. G., Anderson, J. A. D.** 2008. A new '*Candidatus Liberibacter*' species in solanum tuberosum in New Zealand. Plant Disease 92: 1474.

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

**Liefting**, L.W., Weir, B.S., Pennycook, S.R., Clover, G.R., 2009b. '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', associated with plants in the family Solanaceae. *Int J Syst Evol Microbiol* 59, 2274-2276.

**López**, M. M., Gastélum, L., Olivas, O., Corrales ,M.2003. "Experiencia con *Paratrioza cockerelli* Sulc. (Homoptera:Psyllidae) en tomate grape variedad 'Santa' y berenjena *Solanum melongena*". En: Memorias VI Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas. UABC-ICA, CESVBC, FUNDACIÓN PRODUCE BC, SAGARPA. Mexicali, B.C. Pp. 670-675.

**Loiseau**, M., Garnier, S., Boirin, V., Merieau, M., Leguay, A., Renaudin, I., Renvoisé, J.-P., & Gentit, P. 2014. First report of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in carrot in France. *Plant Disease*, 98, 839 p

**MAG**, 2010. Plan de acción ante la cercanía de la Paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc.). Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica (MAG). Servicio Fitosanitario del Estado. Realidad Fitosanitario No.45 Agosto- Septiembre 2010.

**Munyaneza**, J. E., Crosslin, J. M., and Upton, J. E. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with Zebra Chip, a New Potato Disease in Southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology* 100: 656-663.



**MUNYANEZA, J. E., CROSSLIN, J. M., LEE, I. M.** 2007b. "Phytoplasma diseases and insect vectors in potatoes of the Pacific Northwest of the United States". Bulletin of Insectology, 60:181-182. En línea:  
<http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol60-2007-181182munyaneza.pdf>.

**Munyaneza, J. E., Sengoda, V. G., Crosslin, J. M., Garzón, T. J. A., Cárdenas, V. O. G.** 2009. First report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in pepper plants in México. Plant Disease 93: 1076.

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

**Munyaneza, E. J., Tonja, W.F., Sengoda, V. G., Garczynski, S. F., Nissinen, A., and Lemmetty, A.** 2010. Association of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" with the psyllid, *Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Europe. Journal Economic Entomology 103: 1060-1070.

**Munyaneza, J. E.** 2012. Zebra chip disease of potato: biology, epidemiology, and management. Am. J. Pot. Res. 89: 329-350

**Munyaneza, J. E., V. G. Sengoda, J. L. Buchman, and T. W. Fisher.** 2012. "Effects of Temperature on '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' and Zebra Chip Potato Disease Symptom Development." Plant Disease 96: 18–23.

**Nagoshi R, Silvie P, Meagher Jr. R, Lopez J, y Machado V. 2007a.** Identification and comparison of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains in Brazil, Texas, and Florida. *Annals of the Entomological Society of America* 100: 394- 402.

**Nagoshi R, Silvie P, y Meagher R. 2007b.** Comparison of haplotype frequencies differentiate fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) corn-strain populations from Florida and Brazil. *Journal of Economic Entomology* 100: 954- 961.

**Nelson, W.R., T.W. Fisher, and J.E. Munyaneza.2011.** Haplotypes of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” suggest long-standing separation. *Eur J Plant Pathol.*130: 5–12.

**Nelson,W.R.,V.G.Sengoda,J.M.Crosslin,A.O.Alfaro-Fernández,M.I. Font,andJ.E.Munyaneza.2013b.**A new haplotype of *Candidatus Liberibacter solanacearum* in the Mediterranean region. *European Journal of Plant Pathology* 135: 633–639.

**Nee M. 1986.** Solanaceae I. *Flora de Veracruz* 49:1-191.

**Nischwitz, C.2015.**A new disease of potato and other solanaceous plants reported in Utah. *Utah Pests News* 9: 1–2.

**OEPP/EPPO**, 2013. *Candidatus* Liberibacter solanacearum. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 43, 197-201.

**Orozco**, C.I., Beltrán, G.D., Porras y Nee, M. 2008. Listado de especies espinosas de *Solanum* L. (Leptostemonum, Solanaceae). Biota Colombiana. 9: 239-249.

**Ontiveros-Guerra**, G., 2012. Detección de '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' en papa y tomate en los Estados de Nuevo León y San Luis Potosí, Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de Nuevo León, Escobedo, Nuevo Leon.

**Pelz-Stelinski**, K.S., Bransky, R.H., Ebert, T.A., y Rogers, M.E. 2010. Transmission parameters for *Candidatus* Liberibacter asiaticus by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). J Econ Entomol (5): 1531-41.

**Pletsch**, D. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc), its biology and control. Montana Agricultural Experiment Station Bulletin 446:1-95.

**Rehman**, M., J. Melgar, C. Rivera, N. Urbina, A. M. Idris, and J. K. Brown. 2010. First report of "*Candidatus* Liberibacter psyllaourous" or "*Candidatus* Liberibacter solanacearum" associated with severe foliar chlorosis, curling, and necrosis and tuber discoloration of potato plants in Honduras. Plant Dis. 94: 376.

- Reveles, T.L.R., Velásquez, V.R., Mena, C.J., Salas, M.S., Mauricio, C.J.A.** 2016. *Candidatus Liberibacter solanacearum*: Un nuevo fitopatógeno en el cultivo de Chile en el norte centro de México. Folleto Técnico Núm 75. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 34 p.
- Romney V.** 1939. Breeding areas of the tomato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc). *Journal of Economic Entomology* 32:150-151.
- Roy, A. and Brlansky, R. H.** (2009). Population dynamics of a Florida Citrus tristeza virus isolate and aphid-transmitted subsolates: identification of three genotypic groups and recombinants after aphid transmission. *Phytopathology* 99:1297-1306.
- Salinas H.** 2010. Identificación de haplotipos de *Spodoptera frugiperda* en algunas poblaciones de Colombia para el estudio del comportamiento migratorio de la especie. Tesis. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Facultad de Ciencias, pp. 93
- Secor, G. A., and V. V. Rivera-Varas.** 2004. Emerging diseases of cultivated potato and their impact on Latin America. *Rev. Latinoamer. de la Papa (Suppl.)* 1: 1-8.
- Secor, G. A., V. Rivera-Varas, J. A. Abad, I. M. Lee, G. R. G. Clover, L. W. Liefing, X. Li, and S. H. De Boer.** 2009. "Association of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' with Zebra Chip Disease of Potato Established by Graft and Psyllid Transmission, Electron Microscopy, and PCR." *Plant Disease* 93: 574–583.

**Shufran**, K. A., and T.L. Payton. 2009. Limited Genetic variation within and between Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotypes in the United States. J. Econ. Entomol. 102: 440-445.

**Sierra**,M.J.C., Siqueiros,D.M.E., Flores,A.E., Moreno,R.O.,Arredondo,F.J.L.2015. Riqueza y distribución de la familia Solanaceae en el estado de Aguascalientes, México. Botanical Sciences 93 : 97-117.

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

**Swisher**, K. D., J. E. Munyaneza, and J. M. Crosslin. 2012. High resolution melting analysis of the cytochrome oxidase I gene identifies three haplotypes of the potato psyllid in the United States. Environ. Entomol. 41: 1019-1028.

**Swisher**, K. D., Arp A. P., Bextine, B. R., E. Y. Aguilar Álvarez, J. M. Crosslin and J. E. Munyaneza.2013. Haplotyping the Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli*, in Mexico and Central America. BioOne research involved. 38:201-208.

**Swisher**, K. D., J. E. Munyaneza, and J. M. Crosslin. 2013a. Temporal and spatial analysis of potato psyllid haplotypes in the United States. *Environ. Entomol.* 42: 381-393.

**Swisher**, K.D., Henne, D.C., Crosslin, J.M. 2014. Identification of a Fourth Haplotype of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in the United States. *Journal of Insect Science.* 14(161).7 p

**Tahzima**, R., M. Maes, E.H. Achbani, K.D. Swisher, J.E. Munyaneza, and K. De Jonghe. 2014. First report of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' on carrot in Africa. *Plant Disease* 98: 1426

**Templeton** A. 2006. Populations genetics and micro evolutionary theory. Chapter 1: Scope and Basic Premises of Population Genetics. Eds. John Wiley & Sons, Inc. pp. 700.

**Teresani**, G.R., Bertolini, E., Alfaro-Fernandez, A., Martinez, C., Tanaka, F.A., Kitajima, E.W., Rosello, M., Sanjuan, S., Ferrandiz, J.C., Lopez, M.M., Cambra, M., Font, M.I., 2014. Association of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' with a Vegetative Disorder of Celery in Spain and Development of a Real-Time PCR Method for Its Detection. *Phytopathology* 104, 804-811.

**Teulon** D.A.J., Workman,P.J., Thomas,J.L and Nielsen M-C. 2009. *Bactericera cockerelli*: incursion, dispersal and current distribution on vegetable crops in New Zealand Plant Protection 62:136-144.

**Toledo**,V.M. y Ordóñez M.J. 1993. The biodiversity scenario of Mexico: a review of terrestrial habitats. En: Ramamoorthy T.P., Bye R., Lot A. y Fa J. Eds. Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution, pp. 757-777, Oxford University Press, Nueva York.

**Torres**,N.M.A.,Lopez,L.L.I.,De la Cruz,G.G.,Silva,B.S.Y.2013. Solanaceas Mexicanas: Una Fuente de Nuevos Agentes Farmacológicos. Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila.5(10): p28

**Velásquez-Valle**, R., Reveles-Torres, L.R., Mena-Covarrubias, J., 2015. Presencia de Candidatus Liberibacter solanacearum en chile para secado en Durango, México, in: INIFAP (Ed.), Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP, Calera de V.R., Zacatecas, México, p. 32.