

**EFICIENCIA DE INSECTOS VECTORES EN LA TRANSMISIÓN DE
FITOPLASMAS DE LA PUNTA MORADA DE LA PAPA**

MIGUEL ANGEL SALAS MARINA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

EN PARASITOLOGIA AGRÍCOLA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Junio de 2006

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**EFICIENCIA DE INSECTOS VECTORES EN LA TRANSMISIÓN DE
FITOPLASMAS DE LA PUNTA MORADA DE LA PAPA**

TESIS
POR
MIGUEL ANGEL SALAS MARINA

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

MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Dr. Alberto Flores Olivas
Asesor principal

Dr. Oswaldo García Martínez
Asesor

MC. Abiel Sánchez Arizpe
Asesor

Dr. Isidro Humberto Almeyda León
Asesor

Dr. J. Antonio Garzón Tizado
Asesor

Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Junio de 2006.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por darme la oportunidad de vivir, por ser luz y guía de mi camino, por tu inmenso amor y por estar presente en todo momento de mi vida.

A mi **Alma Terra Mater** por darme una vez más la oportunidad de formar parte de esta institución y por terminar en ella uno de mis más grandes sueños anhelados.

Al **CONACYT** Por el apoyo económico durante la maestría.

Con mucho respeto un especial agradecimiento al **Dr. Alberto Flores Olivas**, por su amistad y motivación para seguir adelante y por darme esa oportunidad de trabajar bajo su tutela, para terminar el presente trabajo.

Al **Dr. Oswaldo García Martínez** por su amistad y valiosa aportación a esta investigación.

Al **MC. Abiel Sánchez Arizpe** por sus consejos y apoyo en la realización de esta investigación.

Al **Dr. Isidro Humberto Almeyda León** por sus consejos, por aceptar formar parte de esta investigación y por haberme aceptado trabajar en su laboratorio.

Al **Dr. Antonio Garzón Tizado** por formar parte de esta investigación

Al **MC. Antonio Marín Jarillo** por su valiosa participación en la identificación de los insectos

Muy especialmente a la **Q. F. B. Blanquita** por sus orientaciones y asesoría para realizar las pruebas de laboratorio.

Al **Departamento de Parasitología** por darme la oportunidad de formar parte de esta plantilla de personal dedicada a su trabajo, dándome ejemplo de lucha y entrega.

A la **Subdirección de postgrado**, por ayudarme a realizar los tramites de titulación y por haberme tratado con mucha amabilidad durante mi estancia.

DEDICATORIA

A MIS PADRES.

Sr. Guadalupe Salas Vázquez

Te agradezco padre por todo lo que me has brindado, por tus consejos, por tu gran ejemplo de padre, por tu palabras de aliento que me levantaban cuando me sentía derrotado, por educarme a ser una persona honesta y de respeto, porque nos has enseñado a luchar para alcanzar nuestros sueños.

Sra. Maria E. Marina Ozuna

Gracias a ti por ese inmenso amor de madre, por regalarme la vida, por confiar una vez mas en mi, por tus desvelos, atenciones y por ser un gran ejemplo de lucha y entrega para alcanzar mis metas, por todo eso y mas, te dedico este trabajo con mucho respeto, amor y cariño.

A mis hermanos (as)

Yery, Rosdi, Eloisa, Luzbelia, José G, Eleasìn, Maritza, y para el mas pequeño **Martín**, por el apoyo que siempre me han brindado, por sus consejos, por la comprensión y por darme esa oportunidad de confiar en mi de que podía lograr esta tarea.

A mis cuñados (as).

Por su apoyo brindado y por depositar un poco de su confianza en mi.

A mis sobrinos (as)

Con todo cariño para ellos y de servir como ejemplo de que cuando se quiere salir adelante se puede.

A **Carmen Aguilera Jiménez**, por ser mi mejor amiga, por escucharme, por comprenderme, por compartir esos bellos momentos de tu vida conmigo y por haberme enseñado a volar cuando mis alas se encontraban rotas.

A todos ustedes muchas gracias, por ayudarme a conseguir este triunfo que no es solo mío, si no es suyo también.

A mis amigos de clases, **Vidal, Salvador, Roberto, Ramón, Don Miguel, Rogelio y Darío**, por brindarme su amistad y por compartir bellos momentos en toda la maestría.

A todos mis **Compañeros**, por su amistad, consejos y por haberme dado la oportunidad de convivir con ustedes durante la maestría.

COMPENDIO

**EFICIENCIA DE INSECTOS VECTORES EN LA TRANSMISIÓN DE
FITOPLASMAS DE LA PUNTA MORADA DE LA PAPA**

POR

MIGUEL ANGEL SALAS MARINA

MAESTRÍA EN CIENCIAS
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. MAYO 2006.

Dr. Alberto Flores Olivas -Asesor-

Palabras claves: PCR, *Bactericerca cockerelli*, *Circulifer tenellus*, *Carsidara* sp.

En los últimos años el cultivo de la papa ha sido muy afectado por la punta morada, enfermedad que se considera ser ocasionada por varios factores, entre los cuales se encuentran fitoplasmas, transmitidos por insectos Hemíptera, de las familias Cicadellidae y Psyllidae. Durante los años 2003 y 2004, la incidencia de ésta enfermedad se incrementó considerablemente, afectando al 100 por ciento de las plantas como ocurrió en la región papera de Coahuila y Nuevo León. Existe poca información científica relacionada con los vectores de fitoplasma que afectan la papa en México. Este trabajo tuvo como objetivo determinar si *Bactericerca cockerelli*, *Carsidara* sp y *C. tenellus* son capaces de transmitir fitoplasmas a plantas de papa y conocer el periodo de incubación de los fitoplasmas transmitidos por *B. cockerelli* a plantas de papa. Con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se detecto la presencia de fitoplasma en los cuerpos de los insectos y en las plantas infestadas por estos mismos, resultado que demuestra que estos insectos son vectores de fitoplasma aunque con

diferentes porcentajes de eficiencia. *Circulifer tenellus* tuvo una eficiencia de 100 por ciento, *B. cockerelli* y *Carsidara* sp. tuvieron una eficiencia de 75 y 12.5 por ciento respectivamente. Las plantas infestadas con los insectos presentaron diversos síntomas, donde el síntoma de la punta morada se presentaron en las plantas que fueron infestadas con *B. cockerelli*. y *C. tenellus*. para las plantas infestadas con *B. cockerelli* se encontró que la incubación del fitoplasma en días y unidades calor, fue mayor cuando la infestación se realizo a los 22 días después de la plantación (ddp), que cuando la infestación se efectuó a los 71 ddp, donde la incubación del fitoplasma oscilo de 12 a 39 días y de 190.8 a 497.85 unidades calor.

ABSTRACT

**EFFICIENCY OF VECTORS INSECTS IN THE TRANSMISSION OF
PHYTOPLASMAS OF THE POTATO PURPLE TOP**

BY

MIGUEL ANGEL SALAS MARINA

MASTER IN SCIENCES

AGRICULTURAL PARASITHOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. MAY 2006 .

Dr. Alberto Flores Olivas -Advisor-

Keys words: PCR, *Bactericerca cockerelli*, *Circulifer tenellus*, *Carsidara* sp.

In the last years the potato crop have been very affected by purple top disease, which is considered to be caused for various factors, between this factors are found phytoplasmas, which are transmitted by Hemiptera insects of the families cicadellidae and psyllidae. During the years 2003 y 2004 the incidence of this disease increased considerablelly affecting the 100 percent of the plants, as happened in the potato region of Coahuila y Nuevo Leon. To exist little information about phytoplasma vectors than affecting the potato crop in Mexico. In this research our objectives were; to determine if

B. cockerelli, *Carsidara* sp. y *C. tenellus* are capable of transmitting phytoplasma to potato plants and determining the period of incubation of the phytoplasma transmitted by *B. cockerelli* in potato plants. With the polymerase chain reaction (PCR) were detected the presence of phytoplasma in insects and plants infected by its, the results demonstrated which these insects are vectors of phytoplasma although with different efficiency percentage, where *C. tenellus* had an efficiency of 100 percent, *B. cockerelli* and *Carsidara* sp. had an efficiency of 75 and 12.5 percent respectively. Plants infested with the insects presented various symptoms, where purple top symptoms were presented in plants infested with *B. cockerelli* y *C. tenellus*. In plants infested with *B. cockerelli* was found than the incubation of the phytoplasma in days and heat units was larger when the infestation was accomplished to the 22 days after of planting (dap) which when the infestation was accomplished to the 71 dap. Where the incubation period of the phytoplasma oscillated among 12 to 39 days and from 190.8 to 497.85 heat units.

INDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN -----	1
Objetivos -----	3
REVISION DE LITERATURA -----	4
Origen de la papa -----	4
Utilización-----	5
Importancia-----	5
Enfermedades de la papa -----	6
Punta morada de la papa -----	7
Sintomatología -----	8
Tubérculos -----	8
Plantas -----	9
Fitoplasmas -----	10
Morfología -----	10
Importancia de las enfermedades causadas por fitoplasmas -----	11
Transmisión por injertos -----	13
Transmisión por insectos -----	13
<i>Bactericerca cockerelli</i> -----	14
Biología y hábitos -----	15
Hospederos -----	15
Daños -----	16

Daños originados por toxina -----	17
Daños originados por fitoplasmas -----	17
Detección de fitoplasmas -----	18
EFICIENCIA DE INSECTOS VECTORES EN LA TRANSMISIÓN DE FITOPLASMAS DE LA PUNTA MORADA DE LA PAPA -----	20
CONCLUSIONES GENERALES-----	43
LITERATURA CITADA-----	44
APÉNDICE-----	49

**Eficiencia de insectos vectores en la transmisión de fitoplasmas de la punta morada
de la papa**

Miguel Ángel Salas-Marina¹, Abiel Sánchez-Arizpe¹, Oswaldo García-Martínez¹, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. De Parasitología, Apdo. Postal 342, Buenavista, Saltillo Coahuila, CP 25315 México; **Isidro Humberto Almeyda-León²**, INIFAP, Unidad de Investigación en Biología Celular y Molecular, Apdo. Postal 128-F, Universidad Autónoma de Nuevo León, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, CP 66450 México; **José Antonio Garzón-Tiznado²**, INIFAP, Unidad de Biotecnología, Campo Experimental Valle de Culiacán, Km. 16.5 Carr. Culiacán-Eldorado, Culiacán, Sinaloa, México; **Alberto Flores-Olivas¹**. Correspondencia: msalas818@hotmail.com, aflooli@uaaan.mx

Resumen. El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) es afectado por la enfermedad llamada punta morada, la cual ha causado pérdidas considerables en la producción de papa. En Coahuila y Nuevo León se han reportado daños del 100 %. Se cree que la enfermedad es causada por fitoplasmas transmitidos por insectos del orden Hemíptera. En este trabajo nuestros objetivos fueron; determinar si *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. y *Circulifer tenellus* son capaces de transmitir fitoplasmas a plantas de papa y determinar

el período de incubación del fitoplasma transmitido por *B. cockerelli* en la planta de papa. El análisis mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), indicaron que los insectos fueron portadores de fitoplasmas y lo transmitieron a plantas de papa con diferente porcentaje de eficiencia, *C. tenellus* tuvo una eficiencia de 100 %, *B. cockerelli* y *Carsidara* sp. tuvieron una eficiencia de 75 y 12.5 % respectivamente. En este trabajo se reporta el periodo de incubación del fitoplasma transmitido por *B. cockerelli* en días y unidades calor, desde la infestación hasta la expresión de síntomas en las plantas. La incubación del fitoplasma oscilo de 12 a 39 días y de 190.8 a 497.85 unidades calor dependiendo de la edad de las plantas en que estas fueron infestadas.

Palabras claves: vectores, *Solanum tuberosum*, *Bactericerca cockerelli*, *Circulifer tenellus*, PCR, *Carsidara* sp.

Abstract. The potato crop (*Solanum tuberosum*) affected by the purple top disease, has caused important losses in potato production. In Coahuila and Nuevo Leon damages of 100 % have been reported. This is a disease that is believed to be caused by phytoplasma transmitted by Hemiptera insects. In this research our objectives were; to determine if *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. and *C. tenellus* are capable of transmitting phytoplasma to potato plants and to determine the period of incubation of the phytoplasma transmitted by *B. cockerelli* in potato plants. The polymerase chain reaction (PCR) indicated that insects were positive to phytoplasma and transmitted it, to potato plants with different efficiency percentage. *C. tenellus* had an efficiency of 100 %. *B. cockerelli* and

Carsidara sp. had an efficiency of 75 and 12.5 % respectively. This research reports the period of incubation of the phytoplasma transmitted by *B. cockerelli* in days and heat units, since the infestation up to the expression of symptoms in the plants. The period of incubation of the phytoplasmas oscillated among 12 to 39 days and from 190.8 to 497.85 heat units depending on the age of the plants in which they were infested.

Key words: vectors, *Solanum tuberosum*, *Bactericerca cockerelli*, *Circulifer tenellus*, PCR, *Carsidara* sp.

INTRODUCCION

El cultivo de la papa ocupa el cuarto lugar en producción a nivel mundial; es una hortaliza importante, no solo por la superficie que se dedica a su cultivo, si no por la cantidad de carbohidratos que aporta a la alimentación humana, siendo superada únicamente por el maíz, trigo y arroz. La papa produce mayor cantidad de alimento por unidad de superficie que cualquier cereal, (Biachini, citado por Rascon, 1999). En México, dos hechos definen su importancia: el valor alimenticio y los excelentes ingresos derivados de su comercialización,

aspectos que se reflejan en una explotación creciente en los últimos años (Rascon, 1999).

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

En los últimos años el cultivo de papa ha sido afectado, entre otras, por las enfermedades conocidas como punta morada y brote de hilo. Ambas están

relacionadas entre sí, pero asociadas a diferentes etapas del cultivo. En México la punta morada ha sido catalogada como la segunda enfermedad de mayor importancia (sólo después del tizón tardío) de la papa (Martínez *et al.*, 1999).

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

La punta morada se considera que es ocasionada por varios agentes, entre los cuales se encuentran fitoplasmas. Este síndrome, disminuye la calidad de los tubérculos al inducir acumulación de metabolitos, ocasionándoles un manchado interno que los hace inadecuados para la industria. Los fitoplasmas son bacterias pleomorfas sin pared celular transmitidos por insectos del Orden Hemiptera, entre los que se encuentran insectos de las familias Cicadellidae (Auchenorrhyncha) y Psyllidae (Sternorrhyncha) (Cadena, 1996; Triplehorn y Johnson, 2005).

Richards (1928), determinó que la enfermedad conocida como “amarillamiento de la papa” tiene como vector al psílido *Bactericerca* (= *Paratrioza*) *cockerelli* (Sulc). Richards y Blood (1933), señalaron que la

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

En el área productora de papa de Coahuila y Nuevo León no se sabe a ciencia cierta que especies de psílidos y cicadélidos son transmisores de fitoplasma. Existe información de especies de psílidos y chicharritas positivas como posibles vectores de fitoplasmas asociados a la punta morada (Vargas, 2005), que es necesario confirmar, precisar si estos insectos son vectores de fitoplasma y saber que síntomas se presentarían en las plantas infectadas con cada uno de los insectos involucrados, razones por las cuales se planteó el presente trabajo de investigación para generar información al respecto.

Objetivos

- Ratificar si *Bactericerca cockerelli*, *Carsidara* sp. y *Circulifer tenellus* son portadores de fitoplasma.
- Determinar si estos insectos son capaces de transmitir fitoplasmas a plantas de papa.
- Determinar el periodo de incubación en días y unidades calor respectivamente para los fitoplasmas transmitidos por *B. cockerelli*

REVISION DE LITERATURA

Origen de la papa

El genero *Solanum* es muy vasto (alrededor de 1000 especies) y ampliamente distribuido en el mundo; sin embargo, hay una fuerte concentración de especies en América del Sur y América Central. Las solanáceas tuberosas no representan más de 10 por ciento del genero *Solanum*; se conocen alrededor de 200 especies repartidas en 21 series taxonómicas; se les encuentra desde las montañas hasta el sur de Chile, sobre todo en las zonas elevadas, aunque algunas especies se encuentran en las llanuras de Argentina, Uruguay y del sur de Brazil, en el litoral peruano y chileno del pacifico (Rousselle *et al.*, 1999).

Huaman *et al.* (1988) coinciden con lo estudiado por Vavilov en 1951 respecto a que el centro de origen de la papa esta localizado en la tierra alta de Perú, habiéndose extendido por el sur de Bolivia, Argentina y Chile; por el norte, hacia Ecuador, Colombia, Guatemala y México: de estas regiones fue introducida a Europa por los conquistadores españoles a finales del siglo XVI, de donde se extendió al mundo en pocos siglos. Una vez distribuida mundialmente ha sido muy útil como alimento humano.

Utilización

La mayoría de la papa producida en el mundo se consume en fresco, pero en los países más desarrollados cada vez es más alto el porcentaje de papa que se procesa de diferentes maneras para su aprovechamiento posterior. Actualmente, en la industria de la papa, aunque las técnicas han evolucionado, los principios siguen siendo los mismos, papas trozadas congeladas y hojuelas deshidratadas y a los que hay que añadir otros sistemas de deshidratación y de conservación mediante fritura y cocción respectivamente (Alonso, 1996).

Importancia

El cultivo de la papa constituye una fuente importante de ingresos para los agricultores, además de generar empleos para los trabajadores agrícolas que abarca todas las labores de cultivo y de postcosecha como cargadores, transportistas y comerciantes (Rocha, 1985).

En México, el consumo per capita de papa es de 12.5 kg, sin embargo comparado con el de otros países como Estados Unidos (58.4 kg) u Holanda (58.8 kg), resulta relativamente bajo; la papa ocupa el sexto lugar de importancia como alimento de los mexicanos (Rangel, 1995). Reconociéndose que es un cultivo altamente redituable pero también uno de los cultivos hortícolas más afectados por las enfermedades.

Enfermedades de la papa

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

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

Las enfermedades de gran importancia económica para el cultivo de la papa son; el tizón tardío causada por *P. infestans* (Mont De Bary); tizón temprano ocasionado por *Alternaria solani* (Ell. Sor); rhizoctonosis provocada por *Rhizoctonia solani* (Kühn); fusariosis ocasionada por varias especies del genero *Fusarium* como *F. oxysporum* y *F. sambucinum*; verticiliosis ocasionada por *Verticillium albo-atrum*; además de virus como el del enrollamiento de la papa (PLRV por sus siglas en ingles); el virus "Y" de la papa (PVY) y el virus "X" de la papa (PVX por sus siglas en ingles). En los últimos años la enfermedad punta morada de la papa, causada por un fitoplasma se ha convertido en una

de las más importantes para la producción de papa en el país, la cual se describe a continuación, (Rousselle *et al.*, 1999; Flores *et al.*, 2004).

Punta Morada de la Papa

La punta morada de la papa (PMP), fue reconocida inicialmente en Canadá durante 1933, pero fue hasta 1953, cuando se registraron incidencias de 20 a 75 por ciento en papa; en 1954 las pérdidas en la producción comercial de papa fueron cuantiosas en Canadá y Estados Unidos de Norte América (USA), ya que los tubérculos utilizados como semilla produjeron el síntoma de “Brote de Hilo” (BH), causando que las plantas que lograron desarrollar no produjeran tubérculos adecuadamente (Cadena, 1993).

En parte, la descripción del síndrome del amarillamiento de la papa reportado por Hartaman (1937), coincide con lo que en México se ha reportado como el efecto de al menos los fitoplasmas PMP y BH en papa (Leyva y Martínez, 2001).

Garzón *et al.* (2004), afirman que los fitoplasmas de la PMP y BH se introdujeron a México en semilla proveniente de USA, posiblemente en los años 50's del siglo pasado, y aunque la literatura reporta que el fitoplasma que causa la PMP en papa, no se transmite por semilla vegetativa, estudios recientes realizados en México, lo evidencian (Flores *et al.*, 2004).

El fitoplasma causal de la punta morada de la papa, ha sido asociado al grupo I del amarillamiento del aster (Wester Aster Yellow). Leyva y Martínez (2001), concluyeron que las enfermedades PMP y BH, son causadas por diferentes fitoplasmas, basándose en el análisis de la secuencia del gen 16S ribosomal de fitoplasmas, que al ser comparadas con otras secuencias de éste grupo de patógenos en el banco de datos, permitió asociar a la PMP con el amarillamiento del aster del grupo I, y a “BH” con fitoplasmas del grupo II, de la clasificación internacional de fitoplasmas (Garzón, 2003; Garzón *et al.*, 2004).

Sintomatología

Flores *et al.* (2004), mencionan que los síntomas provocados por esta enfermedad, varían, dependiendo del órgano de la planta afectado, estado fenológico del cultivo y condiciones de medio ambiente que rodean al mismo. En seguida se describen los síntomas en tubérculos y plantas.

Tubérculos

En los tubérculos infectados, se observa un rayado generalizado conocido como papa rayada o papa manchada, estas rayas o manchas pueden ser leves o cubrir totalmente el interior del tubérculo; los tubérculos infectados, con síntomas o asintomáticos, cuando se usan como semilla, pueden manifestar tres características: a) producen un brote normal, b) no brotan, c) brotan con “brote de hilo” (Flores *et al.*, 2004). Se ha demostrado que los

síntomas descritos previamente pueden ser causados por fitoplasmas y también por el efecto de la toxina del psílido de la papa (Maramorosch; Arslan; Asscherman *et al.*, Citados por Almeyda *et al.*, 2004).

Plantas

Las plantas pueden manifestar la enfermedad desde los 20 días después de la emergencia, dependiendo de la fecha de infección y de las condiciones de nutrición, y humedad. Muestran acortamiento de entrenudos, coloración amarilla y/o morada en los márgenes de las hojas apicales principalmente, proliferación de brotes axilares con una hinchazón basal y el tallo tiene forma de raquis (Flores *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004).

Estos síntomas son más evidentes 40 días después de la emergencia y en adelante, lo que quizá tenga que ver con el arribo previo de insectos vectores de fitoplasmas que se alimentan de la savia de plantas de papa, y al hacerlo inoculan el o los fitoplasmas. En síntomas muy avanzados, los tallos subterráneos, estolones y raíces, manifiestan una coloración café oscura del sistema vascular (Flores *et al.*, 2004). La producción de tubérculos aéreos, pequeños y deformes como producto del taponeamiento del sistema vascular, es muy común (Arslan *et al.*, 1985). La planta enferma toma al final una apariencia de marchitez con un tono amarillento a morado apagado y muere prematuramente (Cadena y Galindo, 1985). De acuerdo a lo anterior es necesario saber como son y como se descubrieron los fitoplasmas

Fitoplasmas

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

Morfología

Los fitoplasmas son organismos pleomorficos que se asemejan a los micoplasmas típicos hallados en animales y humanos, pareciéndose a los que viven saprofiticamente (Ploaie, 1981). Estos organismos se encuentran en las células cribosas (Harrison, 1996). Algunas veces en las células parénquimaticas del floema de plantas infectadas (Martinez et al., 1999).

Martínez et al. (1999), citan a Wright, quien menciona que los fitoplasmas, en sección transversal, aparecen como cuerpos pleomorficos con un diámetro promedio de 50 a 1000 nm. Pero los resultados de secciones seriales de elementos cribosos de tejidos infectados con fitoplasma demostraron que muchos son filamentosos, a veces bifurcados, carentes de pared celular y

rodeados de una unidad de membrana de 95 a 100 Anstron de espesor (Lee *et al.*, 2000).

La presencia simultanea de individuos pequeños y grandes en la misma célula del floema, sugieren diferentes estados de desarrollo, y una propagación por fisión binaria, gemación o fragmentación (Martinez *et al.*, 1999). Las células no poseen flagelos, ni forman esporas y son gram negativas, resistentes a la penicilina, pero susceptibles experimentalmente a la tetraciclina, cloranfenicol y eritromicina (Agrios, 1996). Hoy en día estos microorganismos microscópicos se encuentran provocando enfermedades en muchos cultivos (Mccoy *et al.*, 1989).

Importancia económica de las enfermedades causadas por fitoplasmas

Muchas enfermedades asociadas a fitoplasmas han sido reportadas desde el descubrimiento de este tipo de patógenos (Doi *et al.*, 1967; Lee *et al.*, 1998) y se ha demostrado que causan más de 200 enfermedades diferentes en varios cientos de especies de plantas (Agrios, 1996; Berges, 2000). Estas enfermedades constituyen el principal factor limitante en la producción de muchos cultivos de importancia económica en todo el mundo, incluyendo vegetales, frutales, ornamentales, árboles maderables y de sombra (Lee *et al.*, 2000) continuando el constante surgimiento de nuevas enfermedades en varias regiones geográficas (Agrios, 1996).

El fitoplasma del amarillamiento del aster es la principal causa en la pérdida económica de muchos cultivos vegetales como lechuga, zanahoria y apio, así como en plantas ornamentales; gladiolo, hidrangea y aster China, en Norteamérica y parte de Europa; el enanismo amarillo del arroz provoca la pérdida del cultivo en algunas regiones del sureste de Asia; las enfermedades escoba de bruja de la papa y el enanismo arbustivo del maíz originan pérdidas de los cultivos de la papa y maíz en Centro y Suramérica; la pérdida de la papa dulce en Asia y en Australia esta relacionada con la escoba de bruja en este cultivo y enfermedades relacionadas; la escoba de bruja de la yuca ocasiona la pérdida del cultivo en Sudamérica; el amarillamiento de la vid causa pérdida de producción en Europa y Australia; el decaimiento del peral, la proliferación del manzano y el decaimiento de otros frutales producen mermas en la producción de frutas frescas en los Estados Unidos y Europa; enfermedades en legumbres tales como: escoba de bruja del cacahuate, filodia del sésamo y la soya inducen mermas en Asia y el amarillamiento del olmo, escoba de bruja, paulownia, el amarillamiento letal del cocotero y el enanismo de la mora causan pérdidas de estos tres cultivos en diferentes continentes (Lee *et al*, 2000). La escoba de bruja en chayote afecta en muchos países de centro y Suramérica, donde se produce este cultivo (Montano *et al.*, 2000). Además, se demostró que varias enfermedades, entre ellas, la enfermedad persistente de los cítricos y el achaparramiento del maíz, son producidas por espiroplasmas (Agrios, 1996). Los fitoplasmas no se transmiten en forma mecánica y hoy en día los mecanismos de transmisión que se conocen son:

Transmisión por injerto

Esta se logra rápidamente entre plantas compatibles; el injerto permite una gran cantidad de inóculo y se ha utilizado como uno de los medios rápidos de plantas filtrantes para la presencia de fitoplasmas. Las técnicas de injertos que son utilizadas incluyen implantación de tejidos (Dimock *et al.*, 1971), brotes, partes de corteza, diversas técnicas de asociación, adhesión y construcción de puentes; las plantas dicotiledones, herbáceas y maderables pueden ser injertadas. Sin embargo, el injerto no es practicable en monocotiledóneas. Se asume que todas las enfermedades causadas por fitoplasmas se transmiten por injerto planta a planta dentro de los límites de la compatibilidad de tejidos ya que se encuentran y multiplican en el floema de sus hospederos (Ploaie, 1981). Este mismo autor logró transmitir 15 cepas de fitoplasma de *Catharanthus roseus* L. a *Catharanthus roseus*, tomate a tomate y de tabaco a tabaco con un 100 por ciento de eficiencia.

Transmisión por insectos

Las enfermedades provocadas por fitoplasmas son dispersadas principalmente por insectos chupadores de savia, vectores pertenecientes a las familias Cicadellidae, Fulgoridae y Psyllidae; estos insectos se alimentan de los tejidos del floema, donde adquieren el fitoplasma y lo transmiten de planta a planta, las cuales sirven de reservorios del patógeno durante el invierno, o lo

transmiten a plantas perennes que servirán de fuente de inóculo para la siguiente primavera (Tanne *et al.*, 2001).

Algunas especies de insectos vectores de fitoplasma son; *Macrosteles fascifrons*, vector del amarillamiento del aster (McCoy *et al.*, 1989). *Orosius albicinctus* y *anaceratagallia laevis* que transmiten fitoplasmas a papa y albaricoque (Tanne *et al.*, 2001). Otras especies donde se han detectado fitoplasma son; *Carsidara* sp., *Empoasca fabae*, *Oncometopia nigricans*, *Aphrodes bincinctus* y *Bactericerca cockerelli* considerando a este ultimo como vector potencial de la punta morada de la papa (Kunkel, 1926; Vargas, 2005; Almeyda *et al.*, 2004). En México se considera a *B. cockerelli* como el vector mas importante de fitoplasma en papa. A continuación se describen algunas de sus características.

***Bactericerca cockerelli* (Sulc)**

También llamado pulgón saltador, psílido de la papa o del tomate o psílido del nuevo mundo (Crawford, 1914), fue originalmente nombrado como *Trioza cockerelli* en 1909. En México hay antecedentes de este insecto desde 1947, cuando Pletsch reportó haberlo encontrado en los Estados de Durango, Tamaulipas y Michoacán; posteriormente se le detectó en los Estados de México y Guanajuato, donde se le bautizó como “Pulgón saltador” (Garzón *et al.*, 2005).

Biología y hábitos

La hembra ovíparosita más de 500 huevecillos en el envés y bordes de las hojas, adheridos por un pequeño pedicelo; requieren de tres a 15 días para incubar; la ninfa pasa por 4 instares en 14 a 17 días, requiriéndose alrededor de 30 días desde la cópula hasta la formación del nuevo adulto (Garza y Rivas, 2003).

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

Hospederos

El psílido tiene un amplio rango de hospedantes cultivados y silvestres. Ataca a las solanáceas, aunque el cultivo de la papa es de los más preferidos por las hembras para ovipositar sus huevecillos. Se considera que el ciclo biológico del insecto no varía en los cultivos de papa y tomate, sin embargo, el estado ninfal es más prolongado en especies de plantas que no pertenecen a la familia antes señalada, como es el caso de maleza (Avilés *et al.*, 2003).

Aunque el psílido se encuentra principalmente en la familia Solanaceae, también ataca algunas especies de las siguientes familias: Amaranthaceae, Asclepiadaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Violaceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Lycophyllaceae, Malvaceae, Menthaceae, Pinaceae, Poaceae, Polygonaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Salicaceae, Scrophulariaceae y Zygophyllaceae (Avilés *et al.*, 2003).

Daños

Este insecto ocasiona dos tipos de daños: el toxinífero o directo y el indirecto, como transmisor de fitoplasmas. El primero se manifiesta cuando el insecto se alimenta de la planta y succiona sus jugos ocasionando que esta no se desarrolle y se torne de color amarillo (Avilés *et al.*, 2003). La toxina del psílido daña a células que producen clorofila en las hojas por lo que las plantas se tornan amarillentas y raquílicas. Por otro lado, el fitoplasma es un organismo infeccioso, microscópico, más grande que un virus. México es el único país donde se ha reportado al pulgón saltador como vector de fitoplasmas ya que en el resto del mundo se le conoce únicamente por su efecto toxinífero en papa y tomate (Garzón, 2003a). Las enfermedades conocidas como “punta morada” en papa y “Permanente del jitomate” en tomate, en los últimos años han ocasionado pérdidas en la producción de estas hortalizas, hasta de un 45 por ciento (en tomate) a nivel nacional (Garza y Rivas, 2003). Pérdidas que son ocasionadas por la toxina o fitoplasma transmitido por este insecto.

Daños originados por la toxina

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

Daños originados por el fitoplasma

Al menos cinco enfermedades se han asociado a fitoplasmas en tomate y papa; cuatro de éstos son transmitidos por chicharritas y uno por *B. cockerelli*. En tomate se han descrito al amarillamiento del aster, transmitido por una chicharrita y la macroyema del tomate, cuyo fitoplasma es transmitido por la chicharrita café; un tercer fitoplasma es el que en México causa la enfermedad "permanente del tomate", que es transmitido por el pulgón saltador; éste, al igual que su vector, fue descubierto por investigadores mexicanos en los años 80's y en este siglo XXI, se demostró científicamente que era un fitoplasma (Almeyda *et al.*, 2002; Garzón, 2003a).

Una cuarta enfermedad recientemente denominada "declinamiento del tomate", y de la cual se desconoce el agente causal y sus vectores, se ha

reportado en el Valle Imperial e invernaderos del sur de Texas y cuyos síntomas coinciden con los descritos para el permanente del tomate en lo que respecta al aborto de flor, hojas quebradizas y enrolladas hacia arriba (Garzón, 2003b).

La principal enfermedad que afecta al cultivo de la papa es la “punta morada”, que originalmente fue descrita en el cultivo de papa en USA. En México, una enfermedad similar en papa, se le dio el mismo nombre, pero estudios moleculares del ADN recientes, demostraron que es causada por un fitoplasma, pero diferentes a los reportados para USA, en México el agente causal de la punta morada de la papa, parece ser que es transmitida por el pulgón saltador y no por chicharritas como en aquel país, y que tanto el fitoplasma del permanente del tomate como el de la punta morada de la papa, pueden ser parientes cercanos (Garzón, 2003a).

El diagnóstico visual es difícil puesto que los síntomas causados por fitoplasmas y el psílido de la papa, son similares (Maramorosch, 1998; Arslan *et al.*, 1985; Asscherman *et al.*, 1996). Actualmente se ha implementado un método para el diagnóstico de los fitoplasmas utilizando la metodología de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), (Almeyda *et al.*, 1999).

Detección de fitoplasmas

La PCR ha mostrado ser una técnica sensible y específica basada, en el uso de oligonucleótidos como iniciadores de polimerización, flanqueando a la región de DNA de interés en detectar (Faloona y Mullis, 1987).

Una serie repetitiva de variaciones de temperatura (ciclos) que incluye desnaturalización del templado, alineamiento de los oligos y la extensión de los oligos alineados por la polimerasa de ADN, da como resultado una acumulación del fragmento específico, donde el producto de la extensión del primer ciclo sirve como temple en el siguiente. En este método también se puede variar la especificidad utilizando oligos “degenerados” que tienen el potencial de unirse a varios tipos de ADN/ARN (Ibáñez *et al.*, 1993).

Almeyda *et al.* (2001), utilizaron esta técnica para detectar la presencia de fitoplasma en diferentes especies de plantas en México, utilizando los pares de iniciadores MMF/MMR, R16F2/R16R2, P1/Tint, P1/Bltvaint, P1/Ayint, P1/P7 y P3/P7.

Almeyda *et al.* (2004), utilizaron la técnica de PCR, en su modalidad de PCR secuencial; a esta técnica también se le conoce como “PCR anidado” o “Nested-PCR”, para detectar fitoplasma en insectos. En el primer ciclo de amplificaciones se utilizaron los iniciadores P1/P7 y en el segundo ciclo de amplificación se utilizaron los pares de iniciadores R16mF2/R16mR1, R16F2/R16R2 y R16F2/MMR.

Eficiencia de insectos vectores en la transmisión de fitoplasmas de la punta morada de la papa

Miguel Ángel Salas-Marina¹, Abiel Sánchez-Arizpe¹, Oswaldo García-Martínez¹, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. De Parasitología, Apdo. Postal 342, Buenavista, Saltillo Coahuila, CP 25315 México; **Isidro Humberto Almeyda-León²**, INIFAP, Unidad de Investigación en Biología Celular y Molecular, Apdo. Postal 128-F, Universidad Autónoma de Nuevo León, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, CP 66450 México; **José Antonio Garzón-Tiznado²**, INIFAP, Unidad de Biotecnología, Campo Experimental Valle de Culiacán, Km. 16.5 Carr. Culiacán-Eldorado, Culiacán, Sinaloa, México; **Alberto Flores-Olivas¹**. Correspondencia: msalas818@hotmail.com, aflooli@uaaan.mx

Resumen. El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) es afectado por la enfermedad llamada punta morada, la cual ha causado pérdidas considerables en la producción de papa. En Coahuila y Nuevo León se han reportado daños del 100 %. Se cree que la enfermedad es causada por fitoplasmas transmitidos por insectos del orden Hemíptera. En este trabajo nuestros objetivos fueron; determinar si *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. y *Circulifer tenellus* son capaces de transmitir fitoplasmas a plantas de papa y determinar el período de incubación del fitoplasma transmitido por *B. cockerelli* en la planta de papa. El análisis mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), indicaron que los insectos fueron portadores de fitoplasmas y lo transmitieron a plantas de papa con diferente porcentaje de eficiencia, *C. tenellus* tuvo una eficiencia de 100 %, *B. cockerelli* y *Carsidara* sp. tuvieron una eficiencia de 75 y 12.5 % respectivamente. En este trabajo se reporta el periodo de incubación del fitoplasma transmitido por *B. cockerelli* en días y unidades calor, desde la infestación hasta la expresión de síntomas en las plantas. La incubación del fitoplasma oscilo de 12 a 39 días y de 190.8 a 497.85 unidades calor dependiendo de la edad de las plantas en que estas fueron infestadas.

Palabras claves: vectores, *Solanum tuberosum*, *Bactericerca cockerelli*, *Circulifer tenellus*, PCR, *Carsidara* sp.

Abstract. The potato crop (*Solanum tuberosum*) affected by the purple top disease, has caused important losses in potato production. In Coahuila and Nuevo Leon damages of 100 % have been reported. This is a disease that is believed to be caused by phytoplasma transmitted by Hemiptera insects. In this research our objectives were; to determine if *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. and *C. tenellus* are capable of transmitting phytoplasma to potato plants and to determine the period of incubation of the phytoplasma transmitted by *B. cockerelli* in potato plants. The polymerase chain reaction (PCR) indicated that insects were positive to phytoplasma and transmitted it, to potato plants with different efficiency percentage. *C. tenellus* had an efficiency of 100 %. *B. cockerelli* and *Carsidara* sp. had an efficiency of 75 and 12.5 % respectively. This research reports the period of incubation of the phytoplasma transmitted by *B. cockerelli* in days and heat units, since the infestation up to the expression of symptoms in the plants. The period of incubation of the phytoplasmas oscillated among 12 to 39 days and from 190.8 to 497.85 heat units depending on the age of the plants in which they were infested.

Key words: vectors, *Solanum tuberosum*, *Bactericerca cockerelli*, *Circulifer tenellus*, PCR, *Carsidara* sp.

INTRODUCCION

El cultivo de papa es afectado, entre otras, por las enfermedades conocidas como punta morada y brote de hilo. Ambas están relacionadas entre si, pero asociadas a diferentes etapas del cultivo. En México, la punta morada ha sido catalogada como la segunda

enfermedad de mayor importancia (sólo después del tizón tardío) (Martínez *et al.*, 1999). Sin embargo, durante los años 2003 y 2004, la incidencia de esta enfermedad se incrementó considerablemente, llegando al 100% en algunas áreas productoras de papa, como ocurrió en la región sur de Coahuila y Nuevo León, ya que el rendimiento se redujo hasta en 90% en algunos cultivares y los lotes que lograron cosecharse, presentaron un manchado interno en los tubérculos que no tuvieron valor comercial, por lo que las pérdidas fueron prácticamente del 100 % (Flores *et al.*, 2004). La primera referencia académica sobre fitoplasma en los Estados Unidos, data de 1915 (Younkin, 1943). Kunkel en 1926, describió la primera enfermedad de amarillamiento asociándola a virus, razón por la que antes de 1967, todas las enfermedades de las plantas que presentaban síntomas de amarillamiento fueron asociadas a virus. En ese mismo año Doi y su grupo de colaboradores observaron por primera vez a los fitoplasmas en tejidos vegetales, eliminando el concepto de ser causadas por virus (Doi *et al.*, 1967). Actualmente los fitoplasmas han sido asociados a cientos de enfermedades en las plantas (McCoy *et al.*, 1989), originalmente se les denominó como organismos tipo a micoplasmas (MLO's) (Haggins y Sinha, 1978). Los fitoplasmas son transmitidos por injertos y por insectos vectores que se alimentan del floema; algunas familias de insectos en las que se encuentran los géneros vectores de fitoplasma son Cicadellidae, Fulgoridae y Psyllidae. En Europa los psilidos han sido reportados como vectores de enfermedades en árboles frutales (Caudwell y Larrue, 1977; Maixner y Reiner, 1999; Boudon *et al.*, 1989; Fos *et al.*, 1986; Fos *et al.*, 1992; Sforza *et al.*, 1998), sin embargo, muchos insectos pueden adquirir los fitoplasmas y espiroplasmas de las plantas infectadas, pero no son capaces de transmitirlos a plantas sanas (Albanese *et al.*, 1997). La distribución y progreso de las enfermedades causadas por fitoplasmas están muy influenciada por la

densidad de inóculo y la actividad de los vectores; así, el fitoplasma del amarillamiento del Aster es transmitido por *Macrosteles fascifrons* a más de 200 especies de plantas pertenecientes a diferentes familias botánicas (McCoy *et al.*, 1989). Tanne *et al.* (2001) encontraron que los cicadelidos *Orosius albicinctus* y *Anaceratagallia laevis* transmitieron fitoplasma a albaricoque y papa, detectando también el fitoplasma en la saliva secretada por el insecto. Ramírez y Ramos (1978), en un estudio realizado en Texcoco, México, reportan a las chicharritas asociadas a la papa (*Agallia barreti*, *Aceratagallia fuscscripta*, *Idiocerus* sp., *Draeculachephala crassicornis*, *Carneochepala sagittifera*, *Keonella confluens* y *Empoasca fabae*), como probables transmisores de la punta morada. En México, en años recientes, se han detectado daños por *Bactericerca cockerelli* (Hemíptera: Psyllidae) en casi todas las zonas productoras de papa, (con excepción de Sonora, Sinaloa y Jalisco), estimando que afecta el 70 % de la superficie sembrada (Rubio *et al.*, 2002). Martínez *et al.* (1999), reportaron que en México las pérdidas ocasionadas por la punta morada de la papa varía del 30 al 100 %, afectando además la viabilidad de los tubérculos que se usan como semilla en el siguiente ciclo. Debido a que existe poca información científica relacionada con los vectores de los fitoplasmas que afectan a la papa en México y sus períodos de incubación, desde la infestación hasta la expresión de síntomas, se planteó el presente trabajo de investigación para generar información científica, que impacte en la generación de alternativas de manejo de la enfermedad; para llevar a cabo esto, se plantearon los siguientes objetivos: a) determinar si *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. y *C. tenellus* son capaces de transmitir fitoplasmas a plantas de papa y b) conocer el periodo de incubación de los fitoplasmas transmitidos por *B. cockerelli*.

MATERIALES Y METODOS

Colecta de los insectos.- Los insectos que se utilizaron por considerarlos probables vectores de fitoplasma fueron *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. (Homóptera: Psyllidae) y *C. tenellus* (Cicadellidae). Los especímenes de *B. cockerelli* se colectaron en un lote donde el 100 % de las plantas de papa presentaban síntomas de punta morada; insectos del género *Carsidara* sp. se colectaron en plantas comúnmente conocido como hojaseñ (*Flourensia cernua*), en San Rafael, Nuevo León. Los especímenes de *C. tenellus* se colectaron de maleza y papas mostrencas del Rancho el Poleo, ubicado en Huachichil, Arteaga, Coahuila, en un lote donde el ciclo anterior se cultivó papa y que fue severamente afectado por la punta morada. Los insectos se colocaron en vasos desechables cubiertos con tela de organza sujeta con una banda de caucho y se confinaron en un recipiente térmico con hielo para inactivarlos y trasladarlos al invernadero del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), con el objeto de infestar a las plantas de papa axénicas.

Manejo e infestación de plantas sanas. Se utilizaron plántulas de papa variedad Mundial, obtenidas de un laboratorio de cultivos de tejidos certificado, para garantizar plantas libres de fitopatógenos. Las plántulas se aclimataron en recipientes de 0.237 kg, conteniendo como sustrato musgo de pantano estéril, durante 15 días, a 20 °C y luz artificial continua. Posteriormente, estas se trasplantaron el 10 de junio de 2005 a camas del invernadero cubiertas con propileno, colocando cuatro plantas para cada una de las cuatro fechas de infestación dando un total de 16 plantas por insecto evaluado. La colocación de cada tipo de insecto se realizó en plantas de una sola cama para evitar cualquier mezcla entre insectos, las fechas de infestación fueron a los 12, 21, 40 y 54

días después del trasplante, colocando 10 especímenes de cada especie de insecto por planta, manteniéndose en observación para cuantificar los días y registrar cuando aparecían los síntomas de la enfermedad.

Los insectos murieron en 48 horas. Por cada fecha de infestación se conservaron muestras de insectos a los que posteriormente se analizaron por PCR, con el objeto de determinar si eran portadores del fitoplasma. En el invernadero se colocó un termómetro de máximas y mínimas, para relacionar los tiempos en que se presentaron los síntomas cuando la transmisión fue positiva. La transformación de la temperatura a unidades calor se realizó por medio de la fórmula; $UC = \frac{\text{Temperatura máxima} + \text{Temperatura mínima}}{2} - \text{UTI}$ (10 °C). (UC = unidades calor, UTI = umbral de temperatura inferior de la planta de papa).

Análisis de laboratorio. De cada fecha de infestación y de cada tratamiento, se tomaron muestras de brotes axilares, tallos, estolones y hojas cada ocho días iniciando inmediatamente después de la infestación hasta el final del ciclo del cultivo. La extracción de ADN y pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), se realizaron en el laboratorio de Parasitología Molecular de la UAAAN y de la Unidad de Investigación en Biología Celular y Molecular del Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria (INIFAP), ubicado en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. La técnica de extracción de ácidos nucleicos (ADN) para las muestras, fue la descrita por Almeyda *et al.*, (2001). En la extracción de ADN de las plantas se utilizaron 250 miligramos de tejido vegetal y en insectos se utilizaron 20 especímenes por muestra.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). La detección de los fitoplasmas se realizó por medio de la técnica de PCR en su modalidad de PCR-Secuencial. En el

primer ciclo de amplificación se utilizó el par de iniciadores P1/P7 a (5'-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT-3'/5'-CGTCCTTCATCGGCTCTT-3') y en el segundo ciclo se utilizó el par de iniciadores R16mF2/R16mR1 (5'-CATGCAAGTCGAACGGA-3'/5' CTTAACCCCAATCATCGAC-3'). Las PCR's se realizaron en un volumen final de 25 µl, usando 50 ng de ADN, 12.5 pMoles de cada iniciador, solución de PCR al 1X, MgCl₂ a 2mM, dNTP's a 200 µM y 1.5U de Taq-Polimerasa. En el segundo ciclo de amplificación se realizó una dilución 2:40 del primer ciclo de amplificaciones y se utilizaron 2µl como DNA molde. Las PCR's se realizaron en un termociclador MJ Research con el programa: un ciclo inicial de desnaturalización a 94 °C por dos minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por un minuto, alineamiento a 50 °C por 30 segundos, extensión a 72 °C por un minuto y 30 segundos y un ciclo final a 72 °C por 10 minutos. Los productos de las PCR's fueron fraccionados en un gel de agarosa al 1.5 %, el cual se tiñó con bromuro de etidio (0.5 µg/ml) y visualizado en un transluminador de luz UV.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis estadístico a las variables, eficiencia de transmisión y fecha de infestación; para esto se utilizó un diseño bloques al azar, realizándose después una prueba de Tukey al (P> 0.01). Para el período de incubación en días y unidades calor, se realizó una regresión lineal simple (P<0.05), relacionando edad de las plantas en que fueron infectadas y días en que se expresaron los síntomas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Detección de fitoplasmas en papa e insectos y su transmisión a plantas de papa. En la Figura 1 se muestra una fotografía en la que se observa la amplificación de secuencias específicas de ADN de fitoplasmas. Los carriles 2, 3 y 4 corresponde a muestras de los

insectos en estudio (*Carsidara* sp., *B. cockerelli*, y *C. tenellus*), los carriles 5, 6 y 7 corresponden a muestras de plantas de papa infestadas con cada una de las especies de insectos respectivamente, donde se corrobora que estos insectos transmiten el fitoplasma a plantas de papa. La Figura 2 representa el porcentaje de eficiencia con la que los insectos pueden transmitir el fitoplasma a plantas de papa. Se observa que *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron mas eficientes en la transmisión de fitoplasma que *Carsidara* sp. con 75, 100 y 12.5 % de eficiencia de transmisión respectivamente. Estadísticamente *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron iguales (Tukey $P < 0.01$).

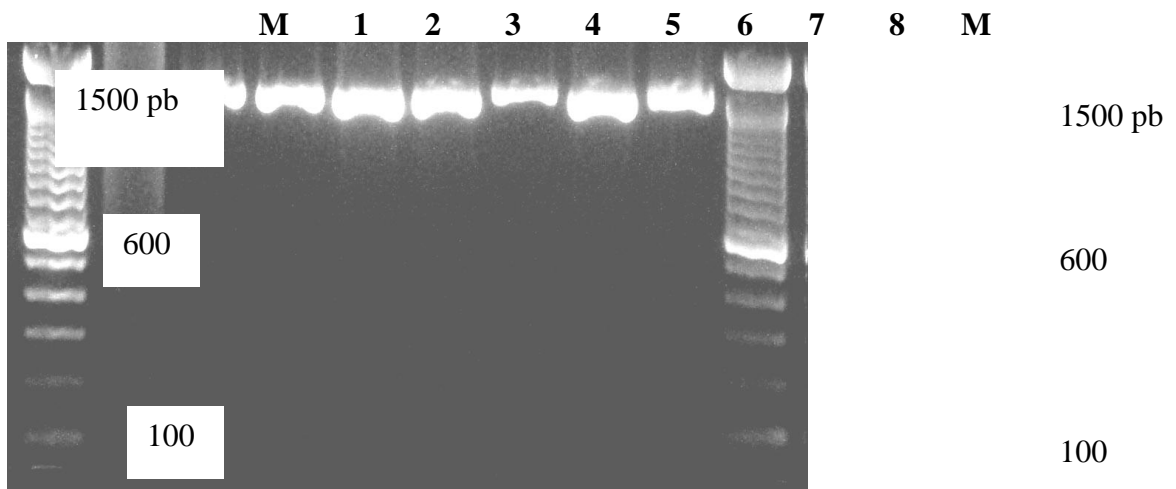


Figura 1. Fragmentos amplificados por PCR-Secuencial, utilizando los iniciadores P1/P7 + R16mF2/R16mR1 y ADN de plantas de papa e insectos. Carril M: Marcador de peso molecular Ladder 100, Carril 1: Testigo negativo (Agua MQ estéril), Carril 2: *Carsidara* sp., Carril 3 *B. cockerelli*, Carril 4: *C. tenellus* Carril 5: Muestra de papa infestada con *Carsidara* sp., Carril 6: Muestra de papa infestada con *B. cockerelli*, Carril 7: Muestra de papa infestada con *C. tenellus*, Carril 8: Testigo positivo.

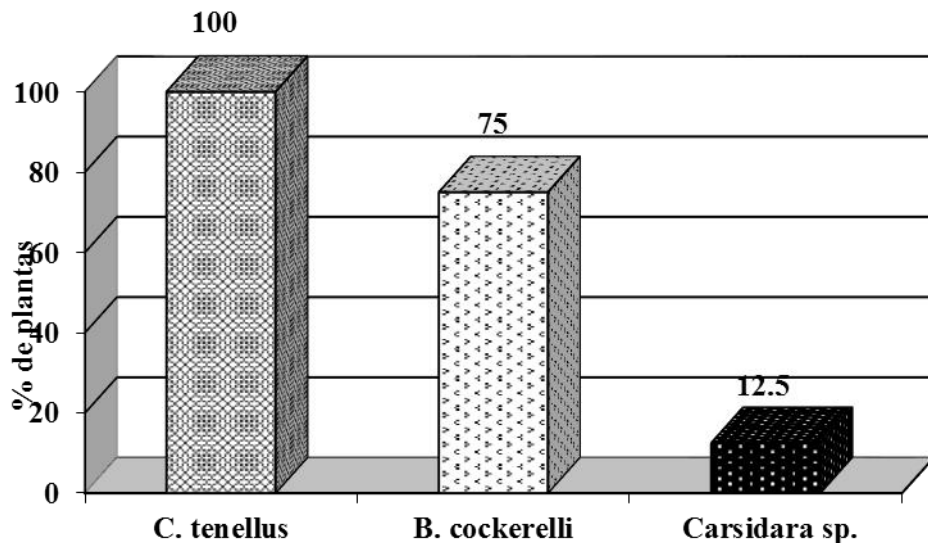


Figura 2. Porcentaje de transmisión de fitoplasmas por insectos en plantas de papa y su comparación de medias, Tukey ($P < 0.01$).

Fechas de infestación. Para el factor fecha de infestación, no hubo diferencias estadísticas significativas, por lo que se asume, que una vez que los insectos vectores adquieren el fitoplasma y se vuelven infectivos de manera permanente, pueden transmitirlo a las plantas sanas, en cualquiera de sus etapas fenológica (Figura 2); lo anterior implica que *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron portadores y vectores de fitoplasma para los meses en estudio de junio a agosto. Igualmente *Carsidara sp.* resultó ser un portador de fitoplasma para este período de tiempo, aunque su eficacia de transmisión fue menor.

Detección de fitoplasma en las plantas de papa. En la Figura 3 se puede observar el porcentaje de plantas positivas a fitoplasmas en todas las fechas de infestación, para cada una de las especies de insectos que se utilizaron. Donde se observa que las plantas infestadas con *C. tenellus* se detectó el fitoplasma en el 100 % de estas, en cada fecha de

infestación. Para *B. cockerelli* en la primera y tercera fecha, el 75 % de las plantas fueron positivas a fitoplasma, para la segunda fecha el 50 % de las plantas resultaron positivas, mientras que para la cuarta infestación fueron positivas el 100 % de las plantas. En las plantas infestadas con *Carsidara* sp, únicamente se detectó el 25 % de plantas positivas a fitoplasma, en la primera y segunda infestación respectivamente. En las plantas que fueron infestadas con *B. cockerelli* y *C. tenellus*, se detecto fitoplasma a los ocho días después de que se realizó la infestación, y se siguió detectando durante todo el ciclo de vida de la planta, mientras que para *Carsidara* sp. solo se detectó en el ultimo muestreo de las dos primeras infestaciones.

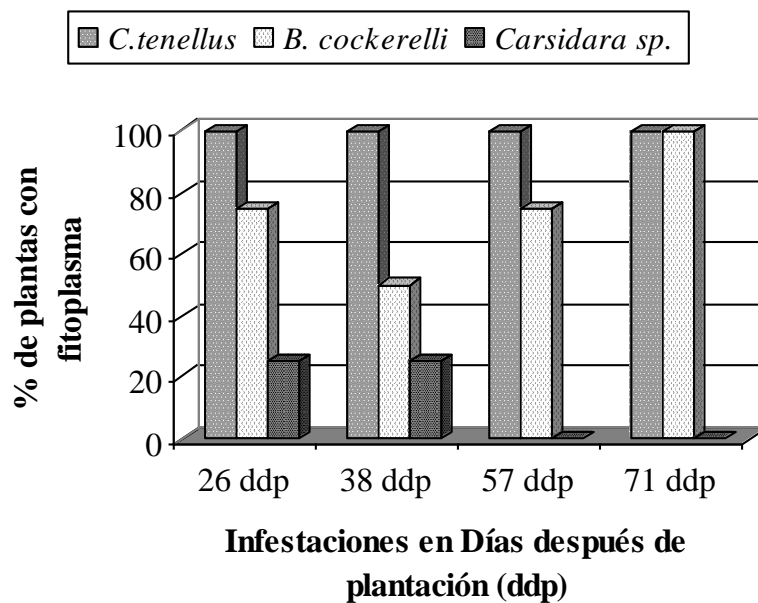


Figura 3. Porcentaje de plantas de papa positivas a fitoplasma en cada una de las infestaciones

Síntomas expresados por las plantas. Los síntomas se observaron a partir de los 65 días después de plantación, momento en que las plantas se encontraban en estado

fisiológico de crecimiento de tubérculos. En las plantas infestadas con *B. cockerelli*, (Figura 4 a, b y c) en tallos se observaron; tubérculos aéreos, acortamiento de entrenudos, engrosamiento de nudos, tallos leñosos y erectos, brotes anormales con la base oblonga de color púrpura y un vástago erecto clorótico y leñoso, en algunas plantas los tubérculos aéreos fueron de color morado con pequeñas hojas, conductos vasculares necróticos café; las hojas manifestaron clorosis intervenal, nervaduras amarillas a blanquecinas, enchinamiento en las hojas apicales aunando a esto una apariencia morada sobre los bordes, que mas tarde se extendió hasta cubrir casi toda la hoja; finalmente, las plantas presentaron marchitamiento, expresando un decaimiento apical hasta su muerte; en tubérculos los síntomas fueron; tamaño pequeño, poca tuberización y de tamaño pequeño, manchado interno necrótico café, con incidencia de 100 %. Las plantas infestadas con *C. tenellus* (Figura 5 a y b), presentaron tubérculos aéreos, de color blanco a verde pálido; el tejido vascular no presentó necrosis; en las hojas no se observó ni amarillamiento ni color púrpura, (las hojas fueron normales); en los tubérculos se tuvo un efecto contrario a lo observado con *B. cockerelli*, ya que se manifestó una proliferación y producción de tubérculos sin disminución de su tamaño y ausencia de necrosis. Las plantas infestadas con *Carsidara* sp. (Figura 5 c) no presentaron síntomas en tallos y hojas, la producción en número y tamaño de tubérculos fue normal, pero se tuvo un 40 % de manchado.



a) Brote axilar



b) Hojas moradas



c) Tubérculos necróticos

Figura 3. síntomas en papa ocasionados por infestaciones con *B. cockerelli* (a, b y c).



a) Tubérculos aéreos



b) Brotes axilares



c) Tubérculos necróticos

Figura 4. Síntomas en papa ocasionados por infestaciones de *Chicharrita* (a y b), *Carsidara* sp (c)

Período de incubación del fitoplasma transmitido por *B. cockerelli*. En la Figura 6 se presentan los resultados del análisis de regresión ($P < 0.05$), para el período de incubación del fitoplasma. Se aprecia que para la primera infestación, el período de incubación fue de 39 días; para la segunda y tercera fecha de infestación, se tuvo una incubación de 27 y 26 días respectivamente; para la última infestación se tuvo una incubación de 12 días, en esta última infestación la planta tenía 71 días después de plantación (ddp) y se encontraba en la etapa de crecimiento de tubérculos. Esto indica que el periodo de incubación desde que el insecto transmite el fitoplasma, hasta que se

observan los síntomas claros, depende del estado fisiológico en que se encuentra la planta al momento de ser infestada.

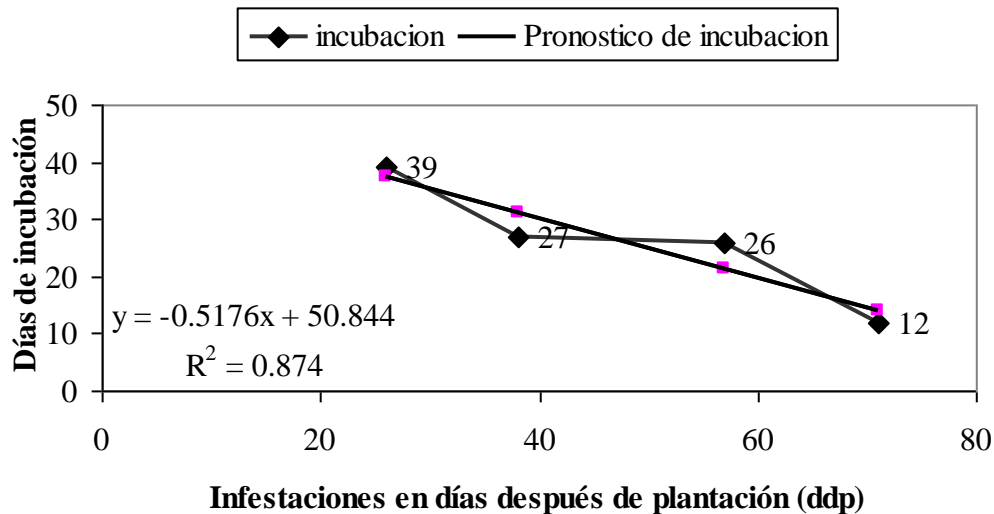


Figura 6. Período incubación del fitoplasma transmitido por *B. cockerelli*, desde la infestación hasta la aparición de síntomas.

Unidades calor (UC) que se requirieron para la expresión de síntomas en plantas infestadas con *B. cockerelli*. La Figura 7, es el resultado del análisis de regresión ($P < 0.05$), donde se observa la influencia que tiene la temperatura sobre el periodo de incubación del fitoplasma en la planta. En las plantas que se infestaron a los 26 días después de plantación (ddp) las plantas necesitaron 497.85 unidades calor (UC) para que estas manifestaran los síntomas, mientras que las plantas que se infestaron a los 38 y 57 ddp necesitaron 354.8 y 364.2 UC respectivamente. Las plantas que se infestaron a los 71 ddp, momento en que se encontraban en crecimiento de tubérculos, necesitaron 190.8 UC.

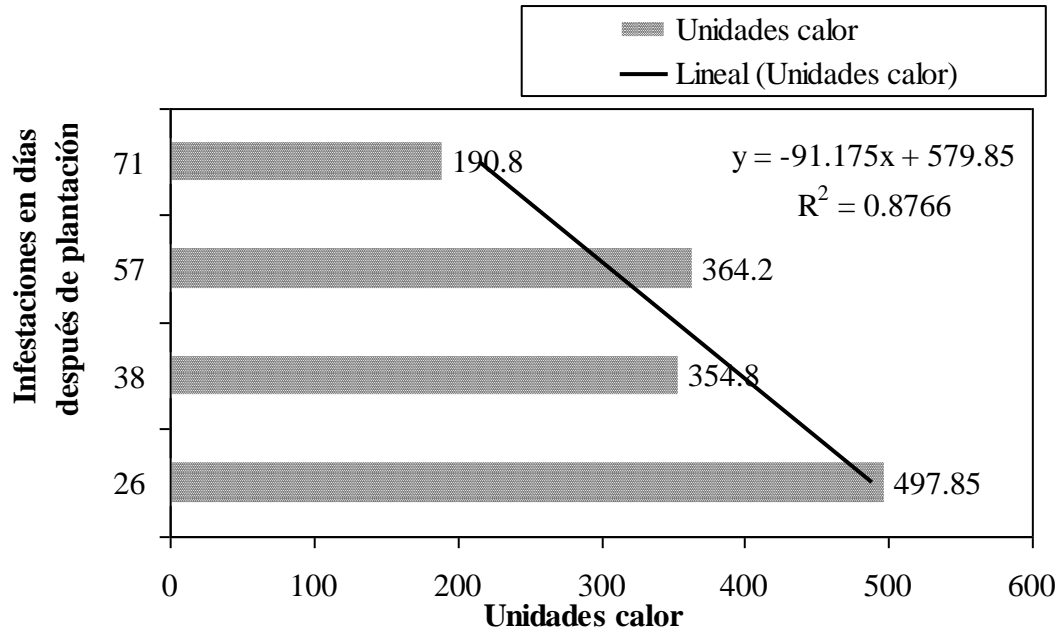


Figura 7. Unidades calor que se requirieron para la expresión de síntomas en plantas infestadas con *B. cockerelli*.

Discusión

Detección de fitoplasma en los insectos. Por medio de la técnica de PCR se detectó en *B. cockerelli*, *Carsidara* sp y *C. tenellus* la presencia de fitoplasma en el cuerpo de los insectos, lo que lleva a afirmar que estos insectos son capaces de adquirir fitoplasma de las plantas, donde se alimentan, lo cual concuerda con lo obtenido en laboratorio por Vargas (2005), donde con la misma técnica detectó la presencia de fitoplasmas en adultos de *Carsidara* sp., *B. cockerelli*, *M. fascifrons*, *E. fabae* y *Oncometopia nigricans*. Munyaneza, (2005) reportó a *C. tenellus* vector de fitoplasmas causante de la punta morada en Estados Unidos. Almeyda *et al.* 2004, también reportaron la presencia

de fitoplasmas en adultos de *E. fabae* y *B. cockerelli* determinando a este último, como vector potencial de la punta morada de la papa.

Detección de fitoplasma en las plantas de papa. La Figura 3, muestra que se detectaron fitoplasmas en plantas de papa, además permite observar diferentes porcentajes de transmisión por cada una de las especies de los insectos vectores, objeto de estudio. El fitoplasma se detectó ocho días después la infestación en plantas infestadas con *B. cockerelli* y *C. tenellus*, lo que concuerda con lo reportado por Beanland *et al.* (1999) en lechuga utilizando a *M. fascifrons*. Sin embargo, con *Carsidara* sp. se detectó la presencia de fitoplasma en el último muestreo de las dos primeras infestaciones.

Fechas de infestación. Tanto *B. cockerelli* como la especie de *C. tenellus* fueron infectivos durante los meses de junio – agosto, tiempo en que se realizaron las pruebas de transmisión a las plantas de papa. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Tanne *et al.* (2001), quienes detectaron fitoplasma en el cuerpo de las chicharritas *O. albicinctus* y *A. laevis* todo el año, pero solo transmitieron el fitoplasma a plantas de papa y albaricoque de Junio a Septiembre.

Eficiencia de transmisión. En las pruebas de transmisión evaluada por síntomas y PCR se encontró que *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron muy eficientes en la transmisión, infectando el 75 y 100 % de las plantas de papa respectivamente, lo cual posiblemente se debió a la actividad fisiológica de los insecto y a la especificidad de cada uno de ellos. Estos resultados concuerdan con Tanne *et al.* (2001), quienes detectaron fitoplasma en el cuerpo y saliva de las chicharritas *O. albicinctus* y *A. laevis* e indican que transmitieron el fitoplasma a albaricoque y papa, basándose en síntomas y pruebas de PCR. Los

resultados que se obtuvieron con *Carsidara* sp., indican que este insecto fue portador del fitoplasma para todas las fechas de infestación, pero que no fue eficiente vector del patógeno, ya que su efectividad fue de 12.5 % la cual es baja comparado con *B. cockerelli* y *C. tenellus*, que tuvieron una eficiencia de 75 y 100 %. Lo que permite decir que este insecto puede adquirir el fitoplasma de sus hospederos, pero tiene baja eficiencia de transmisión en papa, lo cual quizá se deba a mecanismos fisiológicos, especificidad del insecto o por la preferencia a hospedero, ya que la detección de fitoplasmas en insectos por PCR, es un paso para la identificación del patógeno en el insecto pero esto no es una evidencia clara y contundente de que el insecto sea capaz de transmitirlo, lo cual concuerdan con Albanese *et al.* (1997); Danielli *et al.* (1996); Vega *et al.* (1993), quienes refieren que algunos insectos tienen la habilidad de adquirir fitoplasmas y espiroplasmas de las plantas infectadas, pero no son capaces de transmitirla a otras plantas sanas. Por ejemplo *Aphrodes bicinctus* vector del (amarillamiento del aster del Oeste) quien lo adquirió fácilmente del aster y lo transmite eficientemente a trébol y crisantemo, pero no al mismo aster. En el fitoplasma filodia del trébol, el aster fue altamente susceptible cuando fueron inoculados por *M. fascifrons* pero altamente resistente cuando se inocularon con *A. bicinctus* (Kunkel, 1926; Golino *et al.*, 1987).

En las plantas infestadas con *B. cockerelli*, los síntomas observados en los tallos y hojas ya comentados, también fueron observados en plantas de papa por Wright *et al.* (1980). En el mismo sentido, García (1996), alude a los mismos síntomas observados para los tubérculos. Banttari (1993), demostró que existe una correlación directa entre el síndrome de la punta morada y el oscurecimiento de los tubérculos.

Los síntomas observados por la transmisión de *C. tenellus* en tallos, según Chang, 1998; Chang y Lee, 1995 son un arreglo de síntomas causado por disturbios en el balance normal de hormonas y reguladores de crecimientos en la planta. En las plantas infectadas con *Carsidara* sp. como ya se menciona únicamente se observó manchado de tubérculo pero sin que la planta manifestara síntomas foliares. De acuerdo al tipo de síntomas observados en las plantas infectadas con cada una de las tres especies de insectos, se puede decir que el manchado de tubérculos se debe probablemente a la toxina inyectada por los insectos de la familia Psyllidae (Pletsch, 1947). y/o a la expresión conjunta de toxina y el fitoplasma; ya que esto se observó en los tubérculos obtenidos de plantas infestadas con *B. cockerelli* y *Carsidara* sp. donde estos presentaron 100 y 40 % de manchado respectivamente. Efecto que no sucedió con los tubérculos obtenidos de plantas infestadas con *C. tenellus* (Cicadellidae), a pesar de que esta transmitió el fitoplasma en un 100 % de eficiencia, se tuvo 0 % de manchado de los tubérculos. Lee *et al.* (1997), afirman que los síntomas inducidos por infecciones de fitoplasmas tienen un efecto perjudicial claro, aunque algunas especies de plantas son tolerantes o resistente a infecciones de fitoplasma, tales plantas pueden ser asintomáticas o presentar síntomas pocos severos. Blood *et al.* (1933), reportaron que los síntomas de amarillamiento fueron inducidos en las plantas cuando en estas se alimentaron al menos 30 psilidos.

Período de incubación. Los días que necesita el fitoplasma para que la planta manifieste los síntomas, concuerda parcialmente con lo encontrado por Bayer (2005), que reportó que los síntomas se presentan de 10 – 25 días después de la infestación; en el presente trabajo se encontró que los síntomas se expresaron de 12 – 39 días. Para las

unidades calor el mismo autor reporta que la planta requiere de 150 UC para que exprese los síntomas una vez que ha sido infestada, en este trabajo se encontró que se necesita 497.85 UC para las infestaciones tempranas y de 190.8 UC para las infestaciones tardías, esto nos indica que la manifestación de síntomas en papa, esta muy asociada con la fisiología de la planta, de tal manera que estos se inician posterior a la tuberización, independientemente del tiempo de inoculación.

Conclusiones. El manchado de tubérculos únicamente se presento en plantas de papa infestadas con *B. cockerelli* y *Carsidara* sp. El período de incubación de los fitoplasma en las plantas de papa, está mas influenciado por la etapa fenológica-fisiológica de las plantas de papa, que por las condiciones del ambiente y se observo que el período de incubación es mayor en las infestaciones tempranas que en las tardías.

LITERATURA CITADA

- Albanese, G.D., Urso, U., Granata, G., and Colladoro, S. 1997. Individuazione di un fitoplasma in asemplari di *Psamotettix striatus* catturati in vignati. Inform. Phytopathology 7(8):57-60.
- Almeyda-León, I.H., Rocha-Peña, M.A., Piña-Razo, J., y Martínez-Soriano, J.P. 2001. La utilización de la reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación molecular para la detección de fitoplasmas en diferentes especies de plantas en México. Revista Mexicana de Fitopatología 19: 1-9.
- Almeyda-León, I., Sánchez, J.S., y Garzón-tiznado, J. 2004. Detección molecular de fitoplasmas en papa. Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Resumen, p. 4-14.

- Banttari, E. 1993. Virus, viroides and micoplasmas disease. Potato Production and Pest management in North Dakota and Minnesota, NASU. Extensión Service. North Dakota and Minnessota, USA.70–71 p.
- Bayer. 2005. La paratrioza o pulgón saltador del tomate y la papa. Boletín técnico No. 1. Bayer Crop Science. México 13 p.
- Beanland, L., Hoy, W.C., Miller, A.S., and Nault, R.L. 1999. Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) transmission of aster yellows phytoplasma: Does gender matter?. Environ. Entomol. 28(6):1101-1106.
- Blood, H.L., Richards, B.L., and Wann, F.B. 1933. Studies of psillid yellows of tomato. Phytopathology 23: 930.
- Boudon-Padieu, E., Larrue, J., and Caudwell, A. 1989. ELISA and dot-blot detection of flavescence dorée–MLO in individual leafhopper vectors during latenoloy and inoculative state. Curr. Microbiol. 19: 357 364.
- Caudwell, A., y Larrue, J. 1977. La production de cicadelles saines et infectieuses pour le épreuves d`infectivité chez les jaunisses á Mollicutes des végétaux. Ann. Zool. Ecol. Anim. 9: 443-456
- Chang, C.J. 1998. Pathogenecity of aster yellows phytoplasma and spiroplasma citri on periwinkle. Phytopathology 88: 1347–50.
- Chang, C.J., and Lee, I-M. 1995. Pathogenesis of diseases associated with mycoplasma-like organisms. pp. 237–246. In: US Singh, RP Singh, K Kohmoto (eds.). Pathogenesis and host specificity in plant diseases. Vol. 1. Academic press. Elsevier. New York, USA.
- Danielli, A., Bertaccini, A., Vibio, M., Mori, N., Murari, E., Posenato, G., and Girolami, V. 1996. Detection and molecular characterization of phytoplasmas in the

- planthopper *Metcalfa pruinosa* (Say) (Homoptera: Flatidae). *Phytopathology Mediterraneo* 35:62–75.
- Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., and Asuyama, H. 1967. Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulonia witches' broom. *Ann phytopathol. Soc. Jap.* 33:259-266.
- Flores-Olivas, A., Alemán-Navarro, I., y Notario-Zacarías, M.I. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. *Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Resumen, p. 40-44.*
- Fos, A., Bové, J.L., Lallemand, J., Saillard, C., Vignault, J.C., Ali, Y., Brun, P., and Vogel, R. 1986. La cicadelle *Neoliturus haemotoceps* (Mulasant y Rey) est vecteur de *Spiroplasma citri* en méditerranée. *Ann. Inst. Pasteur Microbio.* 137:97–107.
- Fos, A., Danet, J.L., Zreik, L., Garnier, M., and Bove, J.M. 1992. Use of a monoclonal antibody to detect stolbur mycoplasma like organism in plants and insects and to identify a vector in france. *Plant Dis.* 76:1092-1096.
- García-Quijano, J.R. 1996. Etiología y transmisión del obscurecimiento del tubérculo de la papa (*Solanum tuberosum*) para industria. Tesis de Maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 65 p.
- Golino, D.A., Oldfield, N.G., and Gumpf, J.D. 1987. Transmission characteristics of the beet leafhopper transmitted virescence agent. *Phytopathology* 77:954–957.

- Haggins, G.H., and Sinha, R.C. 1978. Scanning electron microscopy of mycoplasma-like organisms after freeze fracture of plant tissues affected with clover phyllody and aster yellows. *Phytopathology* 68:677-680.
- Kunkel, L.O. 1926. Studies on aster yellows. *Am. J. Bot.* 13:646–705.
- Lee, I-M., Klopmeier, M., Bartoszyk, I.M., Gundersen-Rindal, D.E., and Chou, S. 1997. Phytoplasma induced free-branching in commercial poinsettia cultivars. *Nat. Biotechnol.* 15:178–82.
- Maixner, M., and Reiner, W. 1999. *Oncopsis alni* (Schrank) Schneider, B., and Caudwell, (Auchenorrhyncha: Cicadellidae) as a vector of the alder yellows phytoplasma of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Eur. J. Plant pathology.* 105:87-94.
- Martínez-Soriano, J.P., Leyva-Lopez, N.E., Zavala-Soto, M.E., Beres, M., and Leal-Klevezas, D.S. 1999. Detección molecular del agente causal del síndrome “bola de hilo” de la papa en semillas infectadas y asintomaticas. *Biotecnol. Apl.* 16:93–96.
- McCoy, R.E., Caudwell, A., Chang, J.C., Chen, A.T., Chiykowski, N.L., Cousin, T.M., Dale de Leeuw, N.T.G., Golino, A.D., Hackett, J.K., Kirkpatrick, C.B., Marwitz, R., Petzold, H., Sinha, H.R., Sugiura, M., Whitcomb, F.R., Yang, L.I., Zhu, M.B., and Seemüller, E. 1989. Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms. pp. 545–560. In: R. F. Whitcomb and J. G. Tully (eds.). *Mycoplasmas*. Vol. 5. Academic press. New York, USA. 550 p.
- Munyaneza, J.E. 2005. Purple top disease and beet leafhopper transmitted virescence agent (BLTVA) phytoplasma in potatoes of the Pacific Northwest of the United States. pp. 211-220. In. A. J. Haverkort and P.C. Struik. *Potato in progress:*

science meets practice. Vol. 1. academic Wageningen. The Netherlands, . 213 p.

Pletsch, D. J. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc.), its biology and control. Publ. 446. Cooperative Extensión Service. Montana Agricultural Experiment Station. Montana, USA. 95 p.

Ramírez, M.M., y Ramos, E.J. 1978. Poblaciones de chicharritas (Homoptera-Cicadellidae) en 12 variedades de papa en Chapingo, México, y su posible relación con la enfermedad de punta morada. *Agrociencia* 33:89-90.

Rubio-Cobarrubias, O.A., Almeida-León. H., Díaz, H.C., Garzon-Tiznado, A., Rocha, R.R., y Cadena, H.M. 2002. Importancia y distribución de la punta morada de la papa en México. Memorias del Taller Internacional de Trabajo sobre la Punta Morada de la Papa y *Paratrioza cockerelli*. INIFAP y CONPAPA. Toluca, México. Resumen, p. 1–11.

Sforza. R., Clair, D., Daire, X., Larrue, J., and Boudon-Padieu, E. 1998. The role of *Hyalesthes absoletus* (Hemiptera :Cixiidae) in the occurrence of bois noir of grapevine in France. *J. Phytopathology* 146:549-556.

Tanne, E., Boudon-Padeu, E., Clair, D., Davidovich, M., Melamed, S., and Klein, M. 2001. Detection of phytoplasma by polymerase chain reaction of insect feeding medium and its use in determining vectoring ability. *Phytopathology* 91:741–746.

Vargas–Caamal, I.I. 2005. Especies y fluctuación poblacional de cicadelidos y psilidos positivos a fitoplasma en el cultivo de la papa y maleza aladaña en Arteaga,

- Coahuila. Tesis de Maestría en ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 41–62 p.
- Vega, F.E., Davis, R.E., Barbosa, P., Dally, E.L., Purcell, A.H., and Lee, I-M. 1993. Detection of a plant pathogen in a nonvector insect species by the polymerase chain reaction. *Phytopathology* 83:621–624.
- Wright, N.S., Raine, J.S., y Valenta, V. 1980. Enfermedades mycoplasmicas. pp. 122-180. In: W. J. Hooker, Editor. *Compendio de enfermedades de la papa*. Internacional potato center, Lima, Perú. p 166.
- Younkin, S.G. 1943. Purple top wilt of potatoes caused by aster yellow virus. *Am. Pot. J.* 20: 177–183.

CONCLUSIONES GENERALES

De acuerdo a los objetivos planteados y resultados obtenidos en esta investigación, se concluye lo siguiente:

- Se ratificó que *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. y *C. tenellus* son portadores de fitoplasma en papa.
- *Carsidara* sp., *B. cockerelli* y *C. tenellus* son vectores de fitoplasma en papa y los dos últimos una vez infectivos, transmiten fitoplasmas a estas plantas en cualquiera de sus etapas fenológicas.
- El período de incubación del fitoplasma en plantas de papa fue de 39 días, equivalentes a 497.85 UC, cuando la infestación se realizó a los 26 ddp y de 12 días que es igual a 190.8 UC cuando la infestación se realizó a los 71 ddp, esto nos confirma que el periodo de incubación esta más influenciado por la etapa fenológica-fisiológica de las plantas de papa, que por las condiciones físicas del ambiente.
- Los síntomas de punta morada se manifestaron únicamente en plantas de papa infestada con *B. cockerelli* y *C. tenellus*.
- El manchado de tubérculos se presento, únicamente en plantas de papa infestadas con *B. cockerelli* y *Carsidara* sp.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1996. Fitopatología. UTEHA Noriega editores. México. 610-634.
- Almeyda, L. I., Rubio. C.O., y Zavala Q.T. 1999. Determinación de la implicación de fitoplasmas con la expresión sintomatológica de punta morada en papa (*Solanum tuberosum*). IV Simposio de Ciencia y Tecnología. Desarrollo Agropecuario. SEP-CONACYT. Monterrey, Nuevo León. p. 45.
- Almeyda, L.I., Rocha. P.M., Piña. R.J., y Martínez.S.J. 2001. The use of polimerase Chain reaction and molecular hybridization for detection of phytoplasmas in different plant species in Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología. 19(1): 1-9.
- Almeyda-León, I.H., Sánchez-Salas, J.A., Garzón-Tiznado, J.A., Zavala-Quintana, T.E., y Rubio-Covarrubias, O.A. 2002. Detección molecular del agente etiológico de la punta morada de la papa. XI Congreso Nacional de Productores de Papa. CONPAPA. León, Guanajuato. pp 52-57.
- Almeyda-León, I., Sánchez, J.S., y Garzón-tiznado, J. 2004. Detección molecular de fitoplasmas en papa. Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. p. 4-14.
- Alonso, A. F. 1996. El cultivo de la patata. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 272 p.
- Arslan, A., Bessey P.M., Matsuda. K., and Oebker. N.F. 1985. Physiological effects of psyllid (*Paratrioza cockerelli*) on potato. American Potato Journal. 62(1): 9-22.
- Asscherman, E., Bokx. J.A., Brinkman. H., Bus. C.B., Hostia. P.H., Meijers. C.P., Mulder. A., Scholte. K., Turkensteen. L.J., Wustman. R., and Van der Zaag. D.E. 1996. Potato Diseases. NIVAA (Netherlands Potato Consultive Institute). Deen Haag, Holand. p. 52.
- Avilés, G. M., Garzón. T.J., Marín. J.A., y Caro. P.H. 2003. El psílido del tomate *paratrioza cockerelli* (sulc): biología, ecología y su control. En Taller de *paratrioza cockerelli*. Ixtapa, Zihuatanejo, Guerrero. pp. 22-23.

- Berges, R., Rott, M. and Seemuller, E. 2000. range of phytoplasma concentrations in various plant hosts as determined by competitive polymerase Chain reaction. *Phytopathology* 90: 1145-1152.
- Cadena, H.M y Galindo, J.A. 1985. Reducción de la incidencia de la “Punta morada de la papa” por medio de fechas de siembra, genotipo de la planta y aplicaciones de insecticidas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 3:100-104.
- Cadena, H.M. 1993. La punta morada de la papa en México: I. Incidencia y Búsqueda de Resistencia. *Agrociencia* 4(2): 247-256.
- Cadena, H.M. 1996. La punta morada de la papa en México: Efecto de cubiertas flotantes, genotipos y productos químicos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 14 (1): 20-24
- Crawford, D.L. 1914. *Paratrioza cockerelli* Sulc. The jumping plant-lice or psyllidae of the new World. *Bulletin* 85. United States National Museum. p.p. 70-73.
- Dimock, A.W., Geissinger, C.M., and Horst, R.K. 1971. A new adaptation of tissue implantation for the study of virus and mycoplasma diseases. *Phytopathology* 61: 429-430.
- Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., and Asuyama, H. 1967. Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches’ broom, aster yellows, or paulonia witches’ broom. *Ann phytopathol. Soc. Jap.* 33:259-266.
- Faloona, F. and Mullis. K.B. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase chain reaction. *Methods in enzymol.* 155: 335-350.
- Flores-Olivas, A., Alemán-Navarro, I., y Notario-Zacarías, M.I. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. *Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Resumen, p. 40-44.*
- Garza, U.E. y Rivas. A.M. 2003. Manejo integrado de las plagas del chile y jitomate en la zona media de San Luís Potosí. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Ebano. Folleto para productores Núm. 5. San Luis Potosí, México. 47 p.
- Garzón, T.J.A. 2003a. Asociación de *Paratrioza cockerelli* Sulc con enfermedades en papa (*Solanum tuberosum*) y tomate (*Lycopersicon lycopersicum* Mil. Ex Fawnl) en México. En Taller de *paratrioza cockerelli*. Ixtapa, Zihuatanejo, Guerrero. pp. 79-82.

- Garzón, T.J.A. 2003b. El "pulgón saltador" o la *paratrioza*, una amenaza para la horticultura de Sinaloa. En Taller de *paratrioza cockerelli*. Ixtapa, Zihuatanejo, Guerrero. pp. 10-11.
- Garzón, T.J.A., Bujanos. M.R., Velarde. F.S., Marín. J.A., Parga. V., Aviles. G.M.C., Almeyda. L.I., Sánchez. A., Martínez.C.J.L., y Garzón. C.J.A. 2004. *Bactericera (Paratrioza) cockerelli* Sulc, vector de fitoplasmas en México. En memorias del Simposio punta morada de la papa. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. pp. 64-79.
- Garzón, T.J.A., Garzón. C.J.A., Velarde. F.S., Marín. J.A., y Cárdenas. O.G. 2005. Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al "permanente del tomate" por el psílido *Bactericera cockerelli* Sulc. En México. En Entomología mexicana. Vol. 4. Tapachula, Chiapas, México. pp. 672-675.
- Harrison, N.A. 1996. PCR assay for detection of the phytoplasma associated with maize bushy stunt disease. Plant Dis. 80: 263-69.
- Hartaman, G. 1937. A study of psyllids yellows. Wyoming Agricultural Experiment Station. Bulletin 220. May.
- Huaman, Z., Schmielidiche, P. y Wissar, R. 1988. Los recursos genéticos de la papa y su conservación en el centro internacional de la papa. Toluca estado de México. 15-26 de agosto.
- Ibáñez, J.T., Méndez. L.J., Garzón. T.J. y Rivera. B.R. 1993. Las técnicas de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación molecular: su fundamento y aplicación a la detección de patógenos de plantas En XX Congreso Nacional de Fitopatología. Memorias, Sociedad Mexicana de Fitopatología. Zac. Zac. 136p.
- Kunkel, L.O. 1926. Studies on aster yellows. Am. J. Bot. 13:646–705.
- Lee, I-M., Davis, R.E., and Gundersen–Rindal, D.E. 2000. Phytoplasma: Phytopatogenic Mollicutes. Annual reviews Microbiology 54: 221-255.
- Lee, I-M., Gundersen–Rindal, D.E. and Bertaccini, A. 1998. Phytoplasma: Ecology and genomic diversity. Phytopatology 88: 1359-1366.
- Lee, I. M., Bother. K.D., Munyaneza. J.E., Secor. G.A., and Gudmestad. N.C. 2004. Clover proliferation group (16SrVI) subgroup A (16SrVI-A) phytoplasma is a probable causal agent of potato top disease in Washington and Oregon. Plant disease. 88(4): 429.
- Leyva, L.N.E. y Martínez. S.J.P. 2001. Interacción, caracterización y aspectos ecológicos de fitoplasmas asociados a enfermedades de la papa.

Memorias. XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Querétaro, Querétaro, México. Resumen F-85.

- McCoy, R.E., Caudwell, A., Chang, J.C., Chen, A.T., Chiykowski, N.L., Cousin, T.M., Dale de Leeuw, N.T.G., Golino, A.D., Hackett, J.K., Kirkpatrick, C.B., Marwitz, R., Petzold, H., Sinha, H.R., Sugiura, M., Whitcomb, F.R., Yang, L.I., Zhu, M.B., and Seemüller, E. 1989. Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms. In: R. F. Whitcomb and J. G. Tully (eds.). *Mycoplasmas*. Vol. 5. Academic press. New York. 545–560 p.
- Maramorosch, K. 1998. Current status of potato purple top wilt. *International Journal of Tropical Plant Diseases* 16:61-72.
- Martinez-Soriano, J.P., Leyva-Lopez. 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 semilla infectada y asintomatica. *Biotechnol. Apl.* 16: en prensa.
- Metcalf, C.L y Flint. W.P. 1984. *Insectos destructivos e insectos útiles, sus costumbres y control*. 4ª Edic. Edit. Continental , México. 1208p.
- Montaldo, A., 1984, *Cultivo y Mejoramiento de la papa*. Instituto Ineramericano de cooperación para la agricultura, San José, Costa Rica. 14p.
- Montano, H.G., Davis, R.E., Rally, E.L., Pimentel, J.P. and Brioso, P.S.T. 2000. Identification and Phylogenetic analysis of a new phytoplasma from diseased chayote in Brazil. *Plant Dis* 84: 429-436.
- Ploaie, P.G. 1981. Mycoplasmlike organisms and plant diseases in Europa. *Plant diseases and vectors*, Academic Press: 61 –103.
- Rangel, C.V. 1995. Control de malezas para retardar el arribo de mosquita blanca en el cultivo de la papa. Tesis de Licenciatura, universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 50 p.
- Rascon–Emilio A. 1999. Producción de tubérculos–semilla de papa (*Solanum tuberosum L.*) mediante esquejes de tallos y minitubérculos bajo invernadero. Tesis UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Pag. 1- 7.
- Richards, B.L. 1928. A new and destructive disease of the potato in Utah and it's relation to the potato psyllid. *Phytopathology* 18:140-141.
- Richards, B.L., and Blood. H.L. 1933. Psyllid yellows of the potato. *Jour. Agr. Research*. 46:189-216.

- Rocha, R.R. 1985. Guía para cultivar papa en el Bajío. SARH. INIA< CIAB< CAEB. Celaya, Guanajuato, México. 14p.
- Rousselle, P., Robert, Y., y Crosnier, J.C. 1999. La patata. Ediciones Mundi-Prensa. Mexico. P30.
- Ruiz, N.R. 1994. Efecto del color de acolchado y cintas reflejantes sobre insectos vectores de virus y el desarrollo fenológico del chile serrano *Capsicum annum* L. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 8p.
- SAGARPA, 2002. Avances de siembras y cosechas. Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera (siap), con información de las delegaciones de la sagarpa en los estados. (siacap). www.siap.sagarpa.gob.mx.
- Tanne, E., Boudon-Padeu, E., Clair, D., Davidovich, M., Melamed, S., and Klein, M. 2001. Detection of phytoplasma by polymerase chain reaction of insect feeding medium and its use in determining vectoring ability. *Phytopathology* 91: 741 – 746.
- Triplehorn, C. A., and Johnson. N.F. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the study of insects. 7th edition. Thomson books/cole. United States of America. pp. 310.
- Vargas–Caamal, I.I. 2005. Especies y fluctuación poblacional de cicadelidos y psilidos positivos a fitoplasma en el cultivo de la papa y maleza alemana en Arteaga, Coahuila. Tesis de Maestría en ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 41–62 p.

APENDICE

INDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro 1. Análisis de varianza en bloques al azar para las variables eficiencia de transmisión por insectos y fechas de infestación -----	47
Cuadro 2. Incidencia de plantas de papa positivas a fitoplasma en cada una de las infestaciones -----	47
Cuadro 3. Análisis de varianza para regresión lineal para los fitoplasmas transmitido por <i>B. cockerelli</i> , entre la fecha de infestación y manifestación de síntomas. -----	48
Cuadro 4. Análisis de varianza para regresión lineal entre incubación en unidades calor que se requirieron para la expresión de síntomas y fechas de infestación en plantas infestadas con <i>B. cockerelli</i> -----	48

Cuadro 1. Análisis de varianza en bloques al azar para las variables eficiencia de transmisión por insectos y fechas de infestación

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	2	16250.0	8125.00	29.25**	0.001
Bloques	3	208.3320	69.444	0.25NS	0.859
Error	6	1666.6679	277.777		
Total	11	18125.00			

C.V. = 26.67%

Cuadro 2. Incidencia de plantas de papa positivas a fitoplasma en cada una de las infestaciones.

ddp = días después de plantación, momento en que realizo la infestación

	% de plantas positivas fitoplasma			
	infestaciones			
	1ra	2da	3ra	4ta
Insectos	26 ddp	38 ddp	57 ddp	71 ddp
<i>C. tenellus</i>	100	100	100	100
<i>B. cockerelli</i>	75	50	75	100
<i>Carsidara sp.</i>	25	25	0	0

Cuadro 3. Análisis de varianza para regresión lineal para los fitoplasmas transmitido por *B. cockerelli*, entre la fecha de infestación y manifestación de síntomas.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	319.869347	319.869347	13.8679739	0.06514174
Residuos	2	46.1306533	23.0653266		
Total	3	366			

$$R^2 = 0.874$$

Cuadro 4. Análisis de varianza para regresión lineal entre incubación en unidades calor que se requirieron para la expresión de síntomas y fechas de infestación en plantas infestadas con *B. cockerelli*.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	39120.9299	39120.9299	9.43425246	0.09165703
Residuos	2	8293.38202	4146.69101		
Total	3	47414.3119			

$$R^2 = 0.8766$$

INTRODUCCION

El cultivo de papa es afectado, entre otras, por las enfermedades conocidas como punta morada y brote de hilo. Ambas están relacionadas entre si, pero asociadas a diferentes

etapas del cultivo. En México, la punta morada ha sido catalogada como la segunda enfermedad de mayor importancia (sólo después del tizón tardío) (Martínez *et al.*, 1999). Sin embargo, durante los años 2003 y 2004, la incidencia de esta enfermedad se incrementó considerablemente, llegando al 100% en algunas áreas productoras de papa, como ocurrió en la región sur de Coahuila y Nuevo León, ya que el rendimiento se redujo hasta en 90% en algunos cultivares y los lotes que lograron cosecharse, presentaron un manchado interno en los tubérculos que no tuvieron valor comercial, por lo que las pérdidas fueron prácticamente del 100 % (Flores *et al.*, 2004). La primera referencia académica sobre fitoplasma en los Estados Unidos, data de 1915 (Younkin, 1943). Kunkel en 1926, describió la primera enfermedad de amarillamiento asociándola a virus, razón por la que antes de 1967, todas las enfermedades de las plantas que presentaban síntomas de amarillamiento fueron asociadas a virus. En ese mismo año Doi y su grupo de colaboradores observaron por primera vez a los fitoplasmas en tejidos vegetales, eliminando el concepto de ser causadas por virus (Doi *et al.*, 1967). Actualmente los fitoplasmas han sido asociados a cientos de enfermedades en las plantas (McCoy *et al.*, 1989), originalmente se les denominó como organismos tipo a micoplasmas (MLO's) (Haggins y Sinha, 1978). Los fitoplasmas son transmitidos por injertos y por insectos vectores que se alimentan del floema; algunas familias de insectos en las que se encuentran los géneros vectores de fitoplasma son Cicadellidae, Fulgoridae y Psyllidae. En Europa los psílidos han sido reportados como vectores de enfermedades en árboles frutales (Caudwell y Larrue, 1977; Maixner y Reiner, 1999; Boudon *et al.*, 1989; Fos *et al.*, 1986; Fos *et al.*, 1992; Sforza *et al.*, 1998), sin embargo, muchos insectos pueden adquirir los fitoplasmas y espiroplasmas de las plantas infectadas, pero no son capaces de

transmitirlos a plantas sanas (Albanese *et al.*, 1997). La distribución y progreso de las enfermedades causadas por fitoplasmas están muy influenciada por la densidad de inóculo y la actividad de los vectores; así, el fitoplasma del amarillamiento del Aster es transmitido por *Macrosteles fascifrons* a más de 200 especies de plantas pertenecientes a diferentes familias botánicas (McCoy *et al.*, 1989). Tanne *et al.* (2001) encontraron que los cicadelidos *Orosius albacinctus* y *Anaceratagallia laevis* transmitieron fitoplasma a albaricoque y papa, detectando también el fitoplasma en la saliva secretada por el insecto. Ramírez y Ramos (1978), en un estudio realizado en Texcoco, México, reportan a las chicharritas asociadas a la papa (*Agallia barreti*, *Aceratagallia fuscascripta*, *Idiocerus* sp., *Draeculachephala crassicornis*, *Carneochepala sagittifera*, *Keonella confluens* y *Empoasca fabae*), como probables transmisores de la punta morada. En México, en años recientes, se han detectado daños por *Bactericerca cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae) en casi todas las zonas productoras de papa, (con excepción de Sonora, Sinaloa y Jalisco), estimando que afecta el 70 % de la superficie sembrada (Rubio *et al.*, 2002). Martínez *et al.* (1999), reportaron que en México las pérdidas ocasionadas por la punta morada de la papa varía del 30 al 100 %, afectando además la viabilidad de los tubérculos que se usan como semilla en el siguiente ciclo. Debido a que existe poca información científica relacionada con los vectores de los fitoplasmas que afectan a la papa en México y sus períodos de incubación, desde la infestación hasta la expresión de síntomas, se planteó el presente trabajo de investigación para generar información científica, que impacte en la generación de alternativas de manejo de la enfermedad; para llevar a cabo esto, se plantearon los siguientes objetivos: a) determinar si *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. y *C.*

tenellus son capaces de transmitir fitoplasmas a plantas de papa y b) conocer el periodo de incubación de los fitoplasmas transmitidos por *B. cockerelli*.

MATERIALES Y METODOS

Colecta de los insectos.- Los insectos que se utilizaron por considerarlos probables vectores de fitoplasma fueron *B. cockerelli*, *Carsidara* sp. (Homóptera: Psyllidae) y *C. tenellus* (Cicadellidae). Los especímenes de *B. cockerelli* se colectaron en un lote donde el 100 % de las plantas de papa presentaban síntomas de punta morada; insectos del género *Carsidara* sp. se colectaron en plantas comúnmente conocido como hojaseñ (*Flourensia cernua*), en San Rafael, Nuevo León. Los especímenes de *C. tenellus* se colectaron de maleza y papas mostrencas del Rancho el Poleo, ubicado en Huachichil, Arteaga, Coahuila, en un lote donde el ciclo anterior se cultivó papa y que fue severamente afectado por la punta morada. Los insectos se colocaron en vasos desechables cubiertos con tela de organza sujeta con una banda de caucho y se confinaron en un recipiente térmico con hielo para inactivarlos y trasladarlos al invernadero del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), con el objeto de infestar a las plantas de papa axénicas.

Manejo e infestación de plantas sanas. Se utilizaron plántulas de papa variedad Mundial, obtenidas de un laboratorio de cultivos de tejidos certificado, para garantizar plantas libres de fitopatógenos. Las plántulas se aclimataron en recipientes de 0.237 kg, conteniendo como sustrato musgo de pantano estéril, durante 15 días, a 20 °C y luz artificial continua. Posteriormente, estas se trasplantaron el 10 de junio de 2005 a camas del invernadero cubiertas con propileno, colocando cuatro plantas para cada una de las cuatro fechas de infestación dando un total de 16 plantas por insecto evaluado. La

colocación de cada tipo de insecto se realizó en plantas de una sola cama para evitar cualquier mezcla entre insectos, las fechas de infestación fueron a los 12, 21, 40 y 54 días después del transplante, colocando 10 especímenes de cada especie de insecto por planta, manteniéndose en observación para cuantificar los días y registrar cuando aparecían los síntomas de la enfermedad.

Los insectos murieron en 48 horas. Por cada fecha de infestación se conservaron muestras de insectos a los que posteriormente se analizaron por PCR, con el objeto de determinar si eran portadores del fitoplasma. En el invernadero se colocó un termómetro de máximas y mínimas, para relacionar los tiempos en que se presentaron los síntomas cuando la transmisión fue positiva. La transformación de la temperatura a unidades calor se realizó por medio de la fórmula; $UC = \frac{\text{Temperatura máxima} + \text{Temperatura mínima}}{2} - \text{UTI}$ (10 °C). (UC = unidades calor, UTI = umbral de temperatura inferior de la planta de papa).

Análisis de laboratorio. De cada fecha de infestación y de cada tratamiento, se tomaron muestras de brotes axilares, tallos, estolones y hojas cada ocho días iniciando inmediatamente después de la infestación hasta el final del ciclo del cultivo. La extracción de ADN y pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), se realizaron en el laboratorio de Parasitología Molecular de la UAAAN y de la Unidad de Investigación en Biología Celular y Molecular del Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria (INIFAP), ubicado en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. La técnica de extracción de ácidos nucleicos (ADN) para las muestras, fue la descrita por Almeyda *et al.*, (2001). En la

extracción de ADN de las plantas se utilizaron 250 miligramos de tejido vegetal y en insectos se utilizaron 20 especímenes por muestra.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). La detección de los fitoplasmas se realizó por medio de la técnica de PCR en su modalidad de PCR-Secuencial. En el primer ciclo de amplificación se utilizó el par de iniciadores P1/P7 a (5'-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT-3'/5'-CGTCCTTCATCGGCTCTT-3') y en el segundo ciclo se utilizó el par de iniciadores R16mF2/R16mR1 (5'-CATGCAAGTCGAACGGA-3'/5'-CTTAACCCCAATCATCGAC-3'). Las PCR's se realizaron en un volumen final de 25 µl, usando 50 ng de ADN, 12.5 pMoles de cada iniciador, solución de PCR al 1X, MgCl₂ a 2mM, dNTP's a 200 µM y 1.5U de Taq-Polimerasa. En el segundo ciclo de amplificación se realizó una dilución 2:40 del primer ciclo de amplificaciones y se utilizaron 2µl como DNA molde. Las PCR's se realizaron en un termociclador MJ Research con el programa: un ciclo inicial de desnaturalización a 94 °C por dos minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por un minuto, alineamiento a 50 °C por 30 segundos, extensión a 72 °C por un minuto y 30 segundos y un ciclo final a 72 °C por 10 minutos. Los productos de las PCR's fueron fraccionados en un gel de agarosa al 1.5 %, el cual se tiñó con bromuro de etidio (0.5 µg/ml) y visualizado en un transluminador de luz UV.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis estadístico a las variables, eficiencia de transmisión y fecha de infestación; para esto se utilizó un diseño bloques al azar, realizándose después una prueba de Tukey al (P> 0.01). Para el período de incubación en días y unidades calor, se realizó una regresión lineal simple (P<0.05), relacionando edad de las plantas en que fueron infectadas y días en que se expresaron los síntomas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Detección de fitoplasmas en papa e insectos y su transmisión a plantas de papa. En la Figura 1 se muestra una fotografía en la que se observa la amplificación de secuencias específicas de ADN de fitoplasmas. Los carriles 2, 3 y 4 corresponden a muestras de los insectos en estudio (*Carsidara* sp., *B. cockerelli*, y *C. tenellus*), los carriles 5, 6 y 7 corresponden a muestras de plantas de papa infestadas con cada una de las especies de insectos respectivamente, donde se corrobora que estos insectos transmiten el fitoplasma a plantas de papa. La Figura 2 representa el porcentaje de eficiencia con la que los insectos pueden transmitir el fitoplasma a plantas de papa. Se observa que *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron más eficientes en la transmisión de fitoplasma que *Carsidara* sp. con 75, 100 y 12.5 % de eficiencia de transmisión respectivamente. Estadísticamente *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron iguales (Tukey $P < 0.01$).

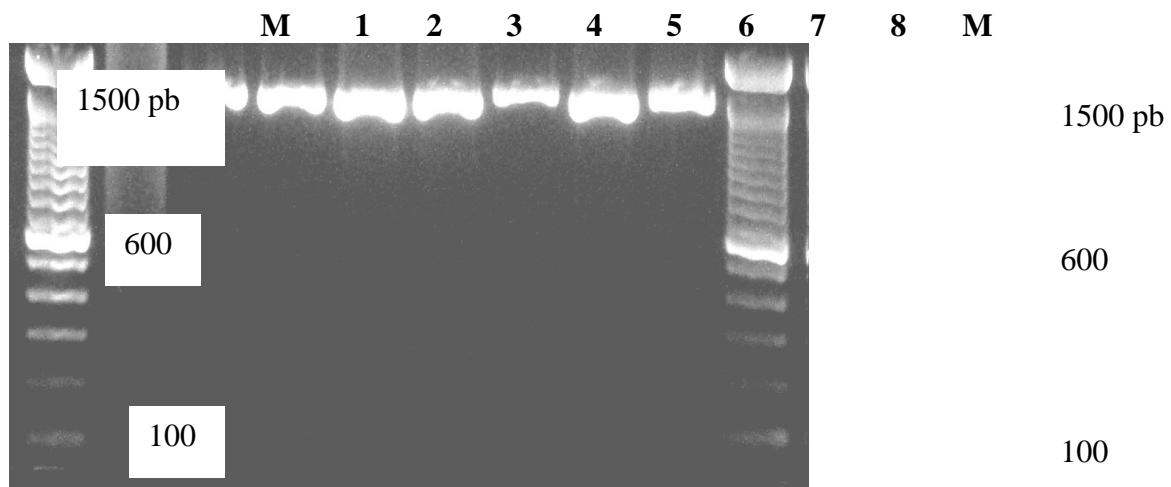


Figura 1. Fragmentos amplificados por PCR-Secuencial, utilizando los iniciadores P1/P7 + R16mF2/R16mR1 y ADN de plantas de papa e insectos. Carril M: Marcador de peso molecular Ladder 100, Carril 1: Testigo negativo (Agua MQ estéril), Carril 2: *Carsidara* sp., Carril 3 *B. cockerelli*, Carril 4: *C. tenellus* Carril 5: Muestra de papa infestada con *Carsidara* sp., Carril 6: Muestra de papa infestada con *B. cockerelli*, Carril 7: Muestra de papa infestada con *C. tenellus*, Carril 8: Testigo positivo.

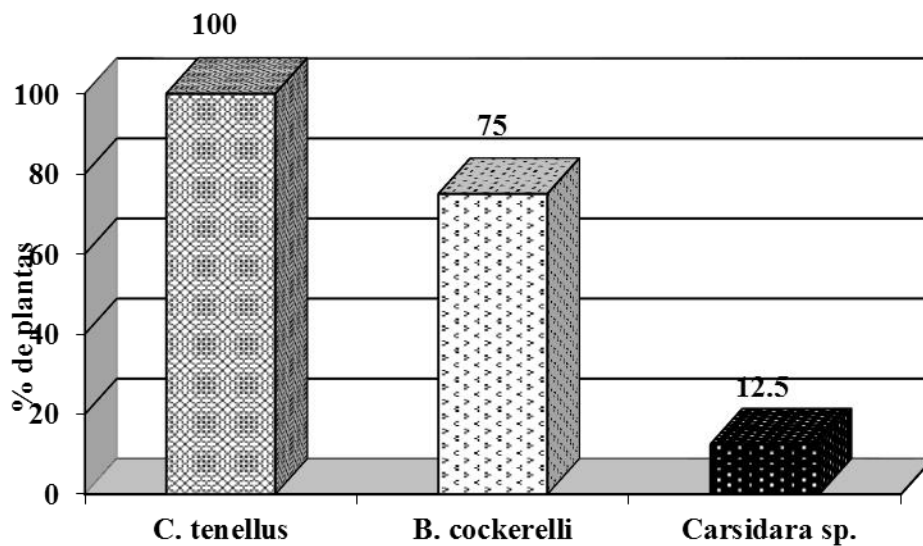


Figura 2. Porcentaje de transmisión de fitoplasmas por insectos en plantas de papa y su comparación de medias, Tukey ($P < 0.01$).

Fechas de infestación. Para el factor fecha de infestación, no hubo diferencias estadísticas significativas, por lo que se asume, que una vez que los insectos vectores adquieren el fitoplasma y se vuelven infectivos de manera permanente, pueden transmitirlo a las plantas sanas, en cualquiera de sus etapas fenológica (Figura 2); lo anterior implica que *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron portadores y vectores de fitoplasma para los meses en estudio de junio a agosto. Igualmente *Carsidara sp.* resultó ser un portador de fitoplasma para este período de tiempo, aunque su eficacia de transmisión fue menor.

Detección de fitoplasma en las plantas de papa. En la Figura 3 se puede observar el porcentaje de plantas positivas a fitoplasmas en todas las fechas de infestación, para cada una de las especies de insectos que se utilizaron. Donde se observa que las plantas infestadas con *C. tenellus* se detectó el fitoplasma en el 100 % de estas, en cada fecha de

infestación. Para *B. cockerelli* en la primera y tercera fecha, el 75 % de las plantas fueron positivas a fitoplasma, para la segunda fecha el 50 % de las plantas resultaron positivas, mientras que para la cuarta infestación fueron positivas el 100 % de las plantas. En las plantas infestadas con *Carsidara* sp, únicamente se detectó el 25 % de plantas positivas a fitoplasma, en la primera y segunda infestación respectivamente. En las plantas que fueron infestadas con *B. cockerelli* y *C. tenellus*, se detecto fitoplasma a los ocho días después de que se realizó la infestación, y se siguió detectando durante todo el ciclo de vida de la planta, mientras que para *Carsidara* sp. solo se detectó en el ultimo muestreo de las dos primeras infestaciones.

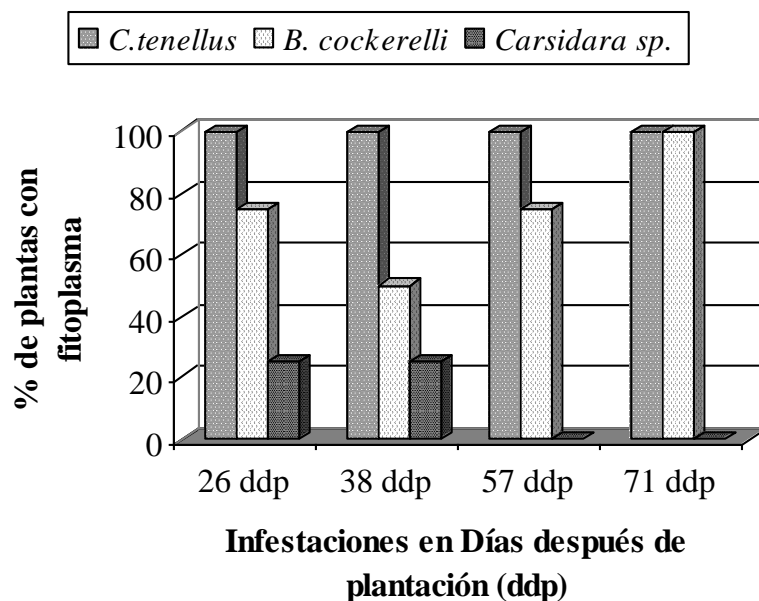


Figura 3. Porcentaje de plantas de papa positivas a fitoplasma en cada una de las infestaciones

Síntomas expresados por las plantas. Los síntomas se observaron a partir de los 65 días después de plantación, momento en que las plantas se encontraban en estado fisiológico

de crecimiento de tubérculos. En las plantas infestadas con *B. cockerelli*, (Figura 4 a, b y c) en tallos se observaron; tubérculos aéreos, acortamiento de entrenudos, engrosamiento de nudos, tallos leñosos y erectos, brotes anormales con la base oblonga de color púrpura y un vástago erecto clorótico y leñoso, en algunas plantas los tubérculos aéreos fueron de color morado con pequeñas hojas, conductos vasculares necróticos café; las hojas manifestaron clorosis intervenal, nervaduras amarillas a blanquecinas, enchinamiento en las hojas apicales aunando a esto una apariencia morada sobre los bordes, que mas tarde se extendió hasta cubrir casi toda la hoja; finalmente, las plantas presentaron marchitamiento, expresando un decaimiento apical hasta su muerte; en tubérculos los síntomas fueron; tamaño pequeño, poca tuberización y de tamaño pequeño, manchado interno necrótico café, con incidencia de 100 %. Las plantas infestadas con *C. tenellus* (Figura 5 a y b), presentaron tubérculos aéreos, de color blanco a verde pálido; el tejido vascular no presentó necrosis; en las hojas no se observó ni amarillamiento ni color púrpura, (las hojas fueron normales); en los tubérculos se tuvo un efecto contrario a lo observado con *B. cockerelli*, ya que se manifestó una proliferación y producción de tubérculos sin disminución de su tamaño y ausencia de necrosis. Las plantas infestadas con *Carsidara* sp. (Figura 5 c) no presentaron síntomas en tallos y hojas, la producción en número y tamaño de tubérculos fue normal, pero se tuvo un 40 % de manchado.



a) Brote axilar



b) Hojas moradas



c) Tubérculos necróticos

Figura 3. síntomas en papa ocasionados por infestaciones con *B. cockerelli* (a, b y c).



a) Tubérculos aéreos



b) Brotos axilares



c) Tubérculos necróticos

Figura 4. Síntomas en papa ocasionados por infestaciones de *C. tenellus* (a y b), *Carsidara* sp (c)

Período de incubación del fitoplasma transmitido por *B. cockerelli*. En la Figura 6 se presentan los resultados del análisis de regresión ($P < 0.05$), para el período de incubación del fitoplasma. Se aprecia que para la primera infestación, el período de incubación fue de 39 días; para la segunda y tercera fecha de infestación, se tuvo una incubación de 27 y 26 días respectivamente; para la última infestación se tuvo una incubación de 12 días, en esta última infestación la planta tenía 71 días después de plantación (ddp) y se encontraba en la etapa de crecimiento de tubérculos. Esto indica que el periodo de incubación desde que el insecto transmite el fitoplasma, hasta que se observan los síntomas claros, depende del estado fisiológico en que se encuentra la planta al momento de ser infestada.

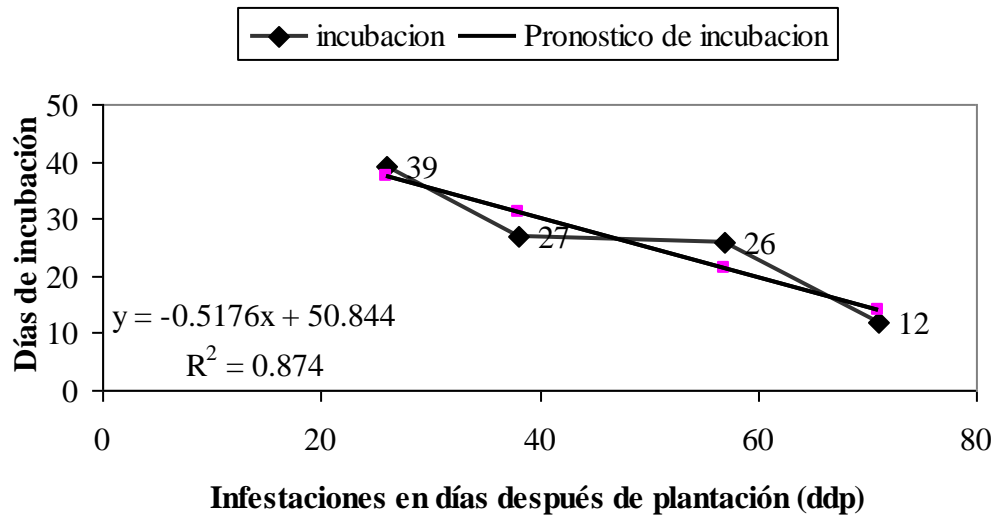


Figura 6. Período incubación del fitoplasma transmitido por *B. cockerelli*, desde la infestación hasta la aparición de síntomas.

Unidades calor (UC) que se requirieron para la expresión de síntomas en plantas infestadas con *B. cockerelli*. La Figura 7, es el resultado del análisis de regresión ($P < 0.05$), donde se observa la influencia que tiene la temperatura sobre el periodo de incubación del fitoplasma en la planta. En las plantas que se infestaron a los 26 días después de plantación (ddp) las plantas necesitaron 497.85 unidades calor (UC) para que estas manifestaran los síntomas, mientras que las plantas que se infestaron a los 38 y 57 ddp necesitaron 354.8 y 364.2 UC respectivamente. Las plantas que se infestaron a los 71 ddp, momento en que se encontraban en crecimiento de tubérculos, necesitaron 190.8 UC.

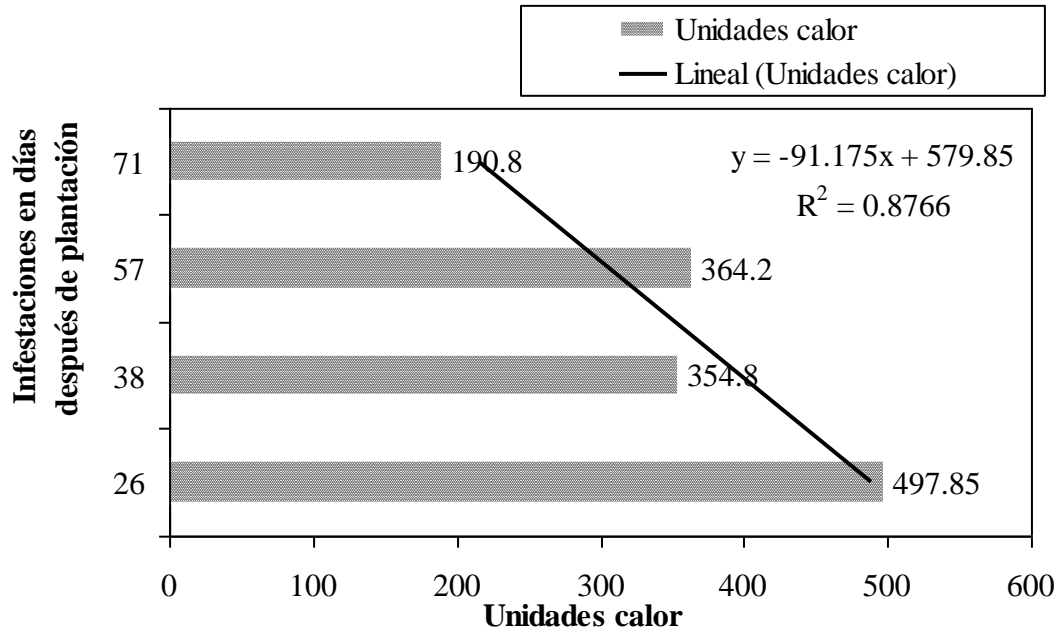


Figura 7. Unidades calor que se requirieron para la expresión de síntomas en plantas infestadas con *B. cockerelli*.

Discusión

Detección de fitoplasma en los insectos. Por medio de la técnica de PCR se detectó en *B. cockerelli*, *Carsidara* sp y *C. tenellus* la presencia de fitoplasma en el cuerpo de los insectos, lo que lleva a afirmar que estos insectos son capaces de adquirir fitoplasma de las plantas, donde se alimentan, lo cual concuerda con lo obtenido en laboratorio por Vargas (2005), donde con la misma técnica detectó la presencia de fitoplasmas en adultos de *Carsidara* sp., *B. cockerelli*, *M. fascifrons*, *E. fabae* y *Oncometopia nigricans*. Munyaneza, (2005) reportó a *C. tenellus* vector de fitoplasmas causante de la punta morada en Estados Unidos. Almeyda *et al.* 2004, también reportaron la presencia de

fitoplasmas en adultos de *E. fabae* y *B. cockerelli* determinando a este último, como vector potencial de la punta morada de la papa.

Detección de fitoplasma en las plantas de papa. La Figura 3, muestra que se detectaron fitoplasmas en plantas de papa, además permite observar diferentes porcentajes de transmisión por cada una de las especies de los insectos vectores, objeto de estudio. El fitoplasma se detectó ocho días después la infestación en plantas infestadas con *B. cockerelli* y *C. tenellus*, lo que concuerda con lo reportado por Beanland *et al.* (1999) en lechuga utilizando a *M. fascifrons*. Sin embargo, con *Carsidara* sp. se detectó la presencia de fitoplasma en el último muestreo de las dos primeras infestaciones.

Fechas de infestación. Tanto *B. cockerelli* como la especie de *C. tenellus* fueron infectivos durante los meses de junio – agosto, tiempo en que se realizaron las pruebas de transmisión a las plantas de papa. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Tanne *et al.* (2001), quienes detectaron fitoplasma en el cuerpo de las chicharritas *O. albicinctus* y *A. laevis* todo el año, pero solo transmitieron el fitoplasma a plantas de papa y albaricoque de Junio a Septiembre.

Eficiencia de transmisión. En las pruebas de transmisión evaluada por síntomas y PCR se encontró que *B. cockerelli* y *C. tenellus* fueron muy eficientes en la transmisión, infectando el 75 y 100 % de las plantas de papa respectivamente, lo cual posiblemente se debió a la actividad fisiológica de los insecto y a la especificidad de cada uno de ellos. Estos resultados concuerdan con Tanne *et al.* (2001), quienes detectaron fitoplasma en el cuerpo y saliva de las chicharritas *O. albicinctus* y *A. laevis* e indican que transmitieron el fitoplasma a albaricoque y papa, basándose en síntomas y pruebas de PCR. Los resultados que se obtuvieron con *Carsidara* sp., indican que este insecto fue portador del

fitoplasma para todas las fechas de infestación, pero que no fue eficiente vector del patógeno, ya que su efectividad fue de 12.5 % la cual es baja comparado con *B. cockerelli* y *C. tenellus*, que tuvieron una eficiencia de 75 y 100 %. Lo que permite decir que este insecto puede adquirir el fitoplasma de sus hospederos, pero tiene baja eficiencia de transmisión en papa, lo cual quizá se deba a mecanismos fisiológicos, especificidad del insecto o por la preferencia a hospedero, ya que la detección de fitoplasmas en insectos por PCR, es un paso para la identificación del patógeno en el insecto pero esto no es una evidencia clara y contundente de que el insecto sea capaz de transmitirlo, lo cual concuerdan con Albanese *et al.* (1997); Danielli *et al.* (1996); Vega *et al.* (1993), quienes refieren que algunos insectos tienen la habilidad de adquirir fitoplasmas y espiroplasmas de las plantas infectadas, pero no son capaces de transmitirla a otras plantas sanas. Por ejemplo *Aphrodes bicinctus* vector del (amarillamiento del aster del Oeste) quien lo adquirió fácilmente del aster y lo transmite eficientemente a trébol y crisantemo, pero no al mismo aster. En el fitoplasma filodia del trébol, el aster fue altamente susceptible cuando fueron inoculados por *M. fascifrons* pero altamente resistente cuando se inocularon con *A. bicinctus* (Kunkel, 1926; Golino *et al.*, 1987).

En las plantas infestadas con *B. cockerelli*, los síntomas observados en los tallos y hojas ya comentados, también fueron observados en plantas de papa por Wright *et al.* (1980). En el mismo sentido, García (1996), alude a los mismos síntomas observados para los tubérculos. Bantari (1993), demostró que existe una correlación directa entre el síndrome de la punta morada y el oscurecimiento de los tubérculos.

Los síntomas observados por la transmisión de *C. tenellus* en tallos, según Chang, 1998; Chang y Lee, 1995 son un arreglo de síntomas causado por disturbios en el balance

normal de hormonas y reguladores de crecimientos en la planta. En las plantas infectadas con *Carsidara* sp. como ya se menciona únicamente se observó manchado de tubérculo pero sin que la planta manifestara síntomas foliares. De acuerdo al tipo de síntomas observados en las plantas infectadas con cada una de las tres especies de insectos, se puede decir que el manchado de tubérculos se debe probablemente a la toxina inyectada por los insectos de la familia Psyllidae (Pletsch, 1947). y/o a la expresión conjunta de toxina y el fitoplasma; ya que esto se observó en los tubérculos obtenidos de plantas infestadas con *B. cockerelli* y *Carsidara* sp. donde estos presentaron 100 y 40 % de manchado respectivamente. Efecto que no sucedió con los tubérculos obtenidos de plantas infestadas con *C. tenellus* (Cicadellidae), a pesar de que esta transmitió el fitoplasma en un 100 % de eficiencia, se tuvo 0 % de manchado de los tubérculos. Lee *et al.* (1997), afirman que los síntomas inducidos por infecciones de fitoplasmas tienen un efecto perjudicial claro, aunque algunas especies de plantas son tolerantes o resistente a infecciones de fitoplasma, tales plantas pueden ser asintomáticas o presentar síntomas pocos severos. Blood *et al.* (1933), reportaron que los síntomas de amarillamiento fueron inducidos en las plantas cuando en estas se alimentaron al menos 30 psilidos.

Período de incubación. Los días que necesita el fitoplasma para que la planta manifieste los síntomas, concuerda parcialmente con lo encontrado por Bayer (2005), que reportó que los síntomas se presentan de 10 – 25 días después de la infestación; en el presente trabajo se encontró que los síntomas se expresaron de 12 – 39 días. Para las unidades calor el mismo autor reporta que la planta requiere de 150 UC para que exprese los síntomas una vez que ha sido infestada, en este trabajo se encontró que se necesita 497.85 UC para las infestaciones tempranas y de 190.8 UC para las infestaciones tardías, esto

nos indica que la manifestación de síntomas en papa, esta muy asociada con la fisiología de la planta, de tal manera que estos se inician posterior a la tuberización, independientemente del tiempo de inoculación.

Conclusiones. El manchado de tubérculos únicamente se presento en plantas de papa infestadas con *B. cockerelli* y *Carsidara* sp. El período de incubación de los fitoplasma en las plantas de papa, está mas influenciado por la etapa fenológica-fisiológica de las plantas de papa, que por las condiciones del ambiente y se observo que el período de incubación es mayor en las infestaciones tempranas que en las tardías.

LITERATURA CITADA

- Albanese, G.D., Urso, U., Granata, G., and Colladoro, S. 1997. Individuazione di un fitoplasma in asempolari di *Psamotettix striatus* catturati in vignati. Inform. Phytopathology 7(8):57-60.
- Almeyda-León, I.H., Rocha-Peña, M.A., Piña-Razo, J., y Martínez-Soriano, J.P. 2001. La utilización de la reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación molecular para la detección de fitoplasmas en diferentes especies de plantas en México. Revista Mexicana de Fitopatología 19: 1-9.
- Almeyda-León, I., Sánchez, J.S., y Garzón-tiznado, J. 2004. Detección molecular de fitoplasmas en papa. Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Resumen, p. 4-14.
- Banttari, E. 1993. Virus, viroides and micoplasmas disease. Potato Production and Pest management in North Dakota and Minnesota, NASU. Extensión Service. North Dakota and Minnessota, USA.70–71 p.
- Bayer. 2005. La paratrioza o pulgón saltador del tomate y la papa. Boletín técnico No. 1. Bayer Crop Science. México 13 p.
- Beanland, L., Hoy, W.C., Miller, A.S., and Nault, R.L. 1999. Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) transmission of aster yellows phytoplasma: Does gender matter?. Environ. Entomol. 28(6):1101-1106.
- Blood, H.L., Richards, B.L., and Wann, F.B. 1933. Studies of psillid yellows of tomato. Phytopathology 23: 930.

- Boudon-Padieu, E., Larrue, J., and Caudwell, A. 1989. ELISA and dot-blot detection of flavescence dorée–MLO in individual leafhopper vectors during latent and inoculative state. *Curr. Microbiol.* 19: 357-364.
- Caudwell, A., y Larrue, J. 1977. La production de cicadelles saines et infectieuses pour les épreuves d'infectivité chez les jaunisses à Mollicutes des végétaux. *Ann. Zool. Ecol. Anim.* 9: 443-456
- Chang, C.J. 1998. Pathogenicity of aster yellows phytoplasma and *Spiroplasma citri* on periwinkle. *Phytopathology* 88: 1347–50.
- Chang, C.J., and Lee, I-M. 1995. Pathogenesis of diseases associated with mycoplasma-like organisms. pp. 237–246. In: US Singh, RP Singh, K Kohmoto (eds.). Pathogenesis and host specificity in plant diseases. Vol. 1. Academic press. Elsevier. New York, USA.
- Danielli, A., Bertaccini, A., Vibio, M., Mori, N., Murari, E., Posenato, G., and Girolami, V. 1996. Detection and molecular characterization of phytoplasmas in the planthopper *Metcalfa pruinosa* (Say) (Homoptera: Flatidae). *Phytopathology Mediterraneo* 35:62–75.
- Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., and Asuyama, H. 1967. Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulonia witches' broom. *Ann. Phytopathol. Soc. Jap.* 33:259-266.
- Flores-Olivas, A., Alemán-Navarro, I., y Notario-Zacarías, M.I. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. *Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. XXI Semana Internacional del Parasitólogo.* Universidad Autónoma

- Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Resumen, p. 40-44.
- Fos, A., Bové, J.L., Lallemand, J., Saillard, C., Vignault, J.C., Ali, Y., Brun, P., and Vogel, R. 1986. La cicadelle *Neoliturus haematoceps* (Mulasant y Rey) est vecteur de *Spiroplasma citri* en méditerranée. Ann. Inst. Pasteur Microbio. 137:97–107.
- Fos, A., Danet, J.L., Zreik, L., Garnier, M., and Bove, J.M. 1992. Use of a monoclonal antibody to detect stolbur mycoplasma like organism in plants and insects and to identify a vector in france. Plant Dis. 76:1092-1096.
- García-Quijano, J.R. 1996. Etiología y transmisión del obscurecimiento del tubérculo de la papa (*Solanum tuberosum*) para industria. Tesis de Maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 65 p.
- Golino, D.A., Oldfield, N.G., and Gumpf, J.D. 1987. Transmission characteristics of the beet leafhopper transmitted virescence agent. Phytopathology 77:954–957.
- Haggins, G.H., and Sinha, R.C. 1978. Scanning electron microscopy of mycoplasma-like organisms after freeze fracture of plant tissues affected with clover phyllody and aster yellows. Phytopathology 68:677-680.
- Kunkel, L.O. 1926. Studies on aster yellows. Am. J. Bot. 13:646–705.
- Lee, I-M., Klopmeier, M., Bartoszyk, I.M., Gundersen-Rindal, D.E., and Chou, S. 1997. Phytoplasma induced free-branching in commercial poinsettia cultivars. Nat. Biotechnol. 15:178–82.

- Maixner, M., and Reiner, W. 1999. *Oncopsis alni* (Schrank) Schneider, B., and Caudwell, (Auchenorrhyncha: Cicadellidae) as a vector of the alder yellows phytoplasma of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. Eur. J. Plant pathology. 105:87-94.
- Martínez-Soriano, J.P., Leyva-Lopez, N.E., Zavala-Soto, M.E., Beres, M., and Leal-Klevezas, D.S. 1999. Detección molecular del agente causal del síndrome “bola de hilo” de la papa en semillas infectadas y asintomaticas. Biotecnol. Apl. 16:93–96.
- McCoy, R.E., Caudwell, A., Chang, J.C., Chen, A.T., Chiykowski, N.L., Cousin, T.M., Dale de Leeuw, N.T.G., Golino, A.D., Hackett, J.K., Kirkpatrick, C.B., Marwitz, R., Petzold, H., Sinha, H.R., Sugiura, M., Whitcomb, F.R., Yang, L.I., Zhu, M.B., and Seemüller, E. 1989. Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms. pp. 545–560. In: R. F. Whitcomb and J. G. Tully (eds.). Mycoplasmas. Vol. 5. Academic press. New York, USA. 550 p.
- Munyaneza, J.E. 2005. Purple top disease and beet leafhopper transmitted virescence agent (BLTVA) phytoplasma in potatoes of the Pacific Northwest of the United States. pp. 211-220. In. A. J. Haverkort and P.C. Struik. Potato in progress: science meets practice. Vol. 1. academic Wageningen. The Netherlands, . 213 p.
- Pletsch, D. J. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc.), its biology and control. Publ. 446. Cooperative Extensión Service. Montana Agricultural Experiment Station. Montana, USA. 95 p.

- Ramírez, M.M., y Ramos, E.J. 1978. Poblaciones de chicharritas (Homoptera-Cicadellidae) en 12 variedades de papa en Chapingo, México, y su posible relación con la enfermedad de punta morada. *Agrociencia* 33:89-90.
- Rubio-Cobarrubias, O.A., Almeida-León, H., Díaz, H.C., Garzon-Tiznado, A., Rocha, R.R., y Cadena, H.M. 2002. Importancia y distribución de la punta morada de la papa en México. Memorias del Taller Internacional de Trabajo sobre la Punta Morada de la Papa y *Paratrioza cockerelli*. INIFAP y CONPAPA. Toluca, México. Resumen, p. 1–11.
- Sforza, R., Clair, D., Daire, X., Larrue, J., and Boudon-Padieu, E. 1998. The role of *Hyalesthes absoletus* (Hemiptera :Cixiidae) in the occurrence of bois noir of grapevine in France. *J. Phytopathology* 146:549-556.
- Tanne, E., Boudon-Padeu, E., Clair, D., Davidovich, M., Melamed, S., and Klein, M. 2001. Detection of phytoplasma by polymerase chain reaction of insect feeding medium and its use in determining vectoring ability. *Phytopathology* 91:741–746.
- Vargas–Caamal, I.I. 2005. Especies y fluctuación poblacional de cicadelidos y psilidos positivos a fitoplasma en el cultivo de la papa y maleza aledaña en Arteaga, Coahuila. Tesis de Maestría en ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 41–62 p.
- Vega, F.E., Davis, R.E., Barbosa, P., Dally, E.L., Purcell, A.H., and Lee, I-M. 1993. Detection of a plant pathogen in a nonvector insect species by the polymerase chain reaction. *Phytopathology* 83:621–624.

Wright, N.S., Raine, J.S., y Valenta, V. 1980. Enfermedades mycoplasmicas. pp. 122-180. In: W. J. Hooker, Editor. Compendio de enfermedades de la papa. Internacional potato center, Lima, Perú. p 166.

Younkin, S.G. 1943. Purple top wilt of potatoes caused by aster yellow virus. Am. Pot. J. 20: 177–183.

