

Selección de genotipos de papa con tolerancia al pardeamiento asociado con punta morada en campo y *Bactericera cockerelli* en invernadero

Selection of potato genotypes with tolerance to internal browning associated with purple top in the field and *Bactericera cockerelli* in the greenhouse

Margarita Díaz-Valasis^{1✉}, Mateo Armando Cadena-Hinojosa¹, Isidro Humberto Almeyda-Leon², Juana Rocío Carrillo-Ramírez¹, Claudia Arriaga-Camarena¹ y Obdulia Segura-León³

¹Campo Experimental Valle de México, INIFAP. Km 13.5, Carretera Los Reyes-Texcoco, C.P. 56250, Coatlinchán, Texcoco, Estado de México. Tel. 01-595-9212657 Ext.130. Fax 595-9212698

²Campo Experimental Río Bravo. INIFAP. km 61. Carretera Matamoros-Reynosa C.P. 88900, Río Bravo, Tamaulipas, Tel. 01-899-9343235.

³Posgrado en Entomología. Colegio de Postgraduados, km 35.5, Carretera México-Texcoco, C.P. 56230, Montecillo, Estado de México. E-mail: diaz.margarita@inifap.gob.mx ✉ Autora para correspondencia

Recibido: 29/08/2013

Aceptado: 30/12/2013

RESUMEN

Para seleccionar genotipos de papa tolerantes al pardeamiento del tubérculo bajo condiciones de invernadero, durante el verano del 2012, se evaluaron 296 genotipos contra *Bactericera cockerelli*. Estos resultados se compararon con los obtenidos previamente con los mismos genotipos infectados con la punta morada de la papa en campo. En general se sembraron cuatro individuos de cada genotipo en macetas dentro de jaulas. Después de 30 días, se introdujeron en las mismas plantas de chile "Mixquic" infestadas con diferentes estadios del insecto. Se cuantificaron los adultos con trampas amarillas a los 30 días, y las ninfas, a los 45 días, con inspección visual al microscopio del número de individuos en cinco folíolos. Se realizaron análisis moleculares de los insectos con iniciadores específicos para el diagnóstico de fitoplasma y la bacteria *Ca. Liberibacter solanacearum* involucrados. Se registró el peso y el pardeamiento de los tubérculos por genotipo, los cuales fueron criterios de selección. Se compararon los datos de invernadero con los previamente obtenidos en campo para establecer alguna posible correlación. La población de adultos de *B. cockerelli* registrada por cuadrante (4-225) y de ninfas por planta (11-507), aseguró la colonización del insecto sobre cada genotipo probado. La colonia del psílido, resultó positiva a *Ca. Liberibacter solanacearum*. De los 296 genotipos evaluados, se seleccionaron 21 con rendimientos mayores a 80 gr/planta y tolerantes al pardeamiento con lecturas que fluctuaron de muy leve a leve. En el 61% de los genotipos evaluados los datos de rendimiento y pardeamiento, en invernadero y campo, fueron similares.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, fitoplasmas, *Bactericera cockerelli*, *Ca. Liberibacter solanacearum*, pardeamiento interno de los tubérculos.

ABSTRACT

In order to select potato genotypes tolerant to internal browning in tubers under greenhouse conditions during summer 2012, 296 potato genotypes were evaluated against *Bactericera cockerelli* and its effect was determined and compared, in the same genotypes, to previous potato purple top field evaluations. Four plants per genotype were introduced inside the cages. After 30 days “Mixquic” pepper plants, infested with different stages of the insect were also introduced. Adults were quantified -30 days after- using sticky yellow traps, and for the nymphs, visual inspection with the microscope - of five detached leaves per genotype 45 days after- was carried on. Molecular analyses of the insects with specific primers for diagnosis of phytoplasma and *Ca. Liberibacter solanacearum* were done. Yield and data of internal browning in tubers per genotype were registered and taken as selection criteria. Response data of these variables, induced by the insect, were compared with the ones- previously- obtained in the field to determine if there was some kind of correlation. The registered *B. cockerelli* adult population (4-225) per quadrant and nymphs (11-507) per plant assured insect colonization over each proven genotype. The psyllid colony turned out to be positive to *Ca. Liberibacter solanacearum*. From the 296 evaluated genotypes in the greenhouse, 21 were selected with yields higher than 80 gr/plant and tolerant to internal browning in tubers; their assessments were from very low to low. In 61% of the evaluated genotypes, variables of yield and internal browning in tubers, under greenhouse and field conditions, were similar.

Key words: *Solanum tuberosum*, phytoplasmas, *Bactericera cockerelli*, *Ca. Liberibacter solanacearum*, internal browning in tubers.

INTRODUCCIÓN

La punta morada (PMP) de la papa (*Solanum tuberosum* L.), enfermedad asociada con la incidencia de un fitoplasma y transmitida por insectos del orden Homóptera (chicharritas) (Maramorosh, 1998a, b) y *B. cockerelli* (Sulc.) que causa un desorden metabólico de la planta, se presentan en las principales zonas paperas de México y son una seria amenaza a la producción nacional. Estos agentes disminuyen el rendimiento (30 al 95%) y la calidad comercial y de la semilla-tubérculo (Cadena Hinojosa, 1993; 1999). *B. cockerelli* (Sulc.) es uno de los insectos más importantes en el cultivo de la papa en el oeste de los Estados Unidos y se encuentra ampliamente distribuido en ese país (Cranshaw, 1994). En México, recientemente se han detectado infestaciones por *B. cockerelli* en casi todas las zonas productoras de papa y de acuerdo con Rubio *et*

al (2006), se estima que el insecto afecta a más del 70% de la superficie sembrada con papa en México, causando severos daños en este cultivo (López-Flores, 2002). El manchado interno de los tubérculos en forma de estrías se intensifica después de freír los tubérculos, este patrón de coloración es lo que ha conducido a que la enfermedad se denomine “Zebra Chip” en los Estados Unidos de América. Se ha demostrado que los síntomas descritos previamente pueden estar asociados con la presencia de fitoplasmas (Almeyda *et al.*, 1999) y también pueden ser provocados por la infección de una bacteria, cuyo nombres propuestos son *Candidatus Liberibacter psyllaourous* (Hansen *et al.*, 2008) y *Ca. Liberibacter solanacearum* (Liefing *et al.*, 2008). El objetivo de este trabajo fue seleccionar genotipos de papa tolerantes al pardeamiento del tubérculo bajo condiciones de invernadero y de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se usaron 296 genotipos tomados del banco de germoplasma del Campo Experimental Valle de México (CAEVAMEX) El Horno, Chapingo, Estado de México, originados de cruces durante el periodo de 1999 al 2007, previamente evaluados en campo contra la PMP y *Bactericera cockerelli*. Se sembraron de una hasta cuatro repeticiones por genotipo, dependiendo de la disponibilidad del material, en vasos de plástico de 1L conteniendo sustrato de peat moss Kekkila, con fertilización 1:2:1. A los 30 días de edad, las plantas se introdujeron en cuatro jaulas (144 plantas por jaula), las cuales, tenían dimensiones de 1.40m de ancho x 2.80m de largo x 80cm de alto y estaban recubiertas con malla anti-insectos. Treinta días después de que las plantas fueron introducidas en las jaulas, se metieron plantas de Chile "Mixquic" infestadas con diferentes estadios de *B. cockerelli*, para estandarizar la dispersión del insecto en las jaulas. Treinta días después de la introducción de plantas de Chile en las jaulas, se colocaron trampas amarillas de 15x15cm (una trampa por cuadrante), a los 15 días se retiraron y se cuantificó y registró el número de adultos por trampa. El número de ninfas por genotipo se registró en cinco folíolos por planta. Mediante la técnica de PCR se analizaron muestras de la colonia de *Bactericera cockerelli* proveniente del CEVAMEX, para la detección de fitoplasma y *Ca. Liberibacter solanacearum*. Para fitoplasma se utilizó la técnica de PCR-Secuencial, en el primer ciclo de amplificaciones se utilizaron los iniciadores P1/P7 (5'-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT-3'/5'-CGTCCTTCATCGGCTCTT-3') y en el segundo ciclo de amplificaciones el par de iniciadores R16mF2/R16mR2 (5'-CATGCAAGTCGAACGGA3'/5'-CTTAACCCCAATCATCGA) Para la detección de *Ca. Liberibacter solanacearum*, se utilizaron el par de iniciadores Lp16S-Fragmento 2F/Lp16S-Fragmento 2R: (5'-

CTGATCATGGCTCAGAACGA-3'/5'-CGGC GAAAGAGCTTTACAAC -3'). Una vez cosechados los tubérculos, se registró el rendimiento y pardeamiento, este último se obtuvo haciendo un corte transversal al tubérculo y usando la siguiente escala cualitativa: OL=muy leve, L=leve, LM=leve moderado, M=moderado, MF=moderado fuerte y F=fuerte. Los resultados obtenidos se compararon con los obtenidos en años anteriores en evaluaciones de campo con los mismos genotipos.

RESULTADOS

El 7.09 % (21 genotipos), resultaron tolerantes al pardeamiento del tubérculo ya que de acuerdo a la escala utilizada presentaron lecturas de OL a L y un rendimiento de 80gr/planta (Cuadro 1). El 6.41 % (19 genotipos) resultaron susceptibles ya que presentaron un pardeamiento de M a F, y un peso menor a 80gr/planta. La incidencia de adultos en estos genotipos fluctuó de 10 a 225 por cuadrante. En las ninfas la variación fue de 30 a 214 por planta y en cuanto a huevecillos el rango fue de 12 a 190 por planta. Se determinó que los genotipos tolerantes presentaron rendimiento alto y un pardeamiento bajo, al contrario de los genotipos susceptibles que presentaron rendimiento bajo y un pardeamiento alto. En el 61% de los genotipos evaluados, los datos de rendimiento y pardeamiento fueron similares tanto en invernadero como en campo. Los daños del pardeamiento en tubérculos procedentes de plantas expuestas al insecto en invernadero se atribuyen a *Ca. Liberibacter solanacearum*, ya que la colonia del vector *B. cockerelli* resultó positiva a la bacteria. Sin embargo, debe considerarse también el efecto que ejerce el psílido "per se" y que en este caso no fue posible evaluar de manera independiente.

Cuadro 1. Genotipos tolerantes y susceptibles al pardeamiento del tubérculo a *Bactericera cockerelli* y *Ca. Liberibacter solanacearum*.

Genotipo	Tolerantes				Susceptibles				
	Invernadero		Campo		Genotipo	Invernadero		Campo	
	Rdto. g/Pl	Pardeamiento ¹	Rdto g/Pl*	Pardeamiento ¹		Rdto. g/Pl	Pardeamiento ¹	Rdto g/Pl*	Pardeamiento ¹
02 75	86	L	200	M	02 135	27	M	100	M
03 3-15-10	91	0L	195	0L	02 177	43	M	100	L
05 1-14-4	100	0L	216	L	02 252	27	M	400	LM
05 2-16-9	105	0L	455	L	03 3-12-3	9	M	66	0L
05 3-12-4	82	0L	616	LM	03 3-16-8	45	MF	253	MF
05 4-6-3	79	0L	226	L	03 3-16-9	51	MF	46	LM
05 4-7-6	85	0L	267	0L	04 4-5-6	44	M	74	0L
06 27	116	L	48	L	05 2-6-7	45	M	190	LM
06 41	88	0L	280	L	05 2-8-5	44	M	131	L
06 43	127	0L	450	L	05 3-13-10	22	M	731	L
06 57	90	0L	210	L	05 4-4-3	29	M	238	LM
06 97	104	0L	388	L	05 5-8-4	22	M	704	M
06 100	87	0L	353	LM	07 1-17-1	44	M	119	M
06 114	89	0L	492	L	07 2-8-7	17	F	114	LM
06 XOCO 5-10	80	0L	420	L	07 2-8-8	10	MF	116	LM
07 1-5-7	99	0L	94	L	07 3-6-10	9	M	155	M
07 2-5-9	114	0L	82	MF	07 3-7-3	32	MF	174	MF
07 2-13-6	80	0L	47	M	07 3-14-1	41	MF	146	M
07 4-5-2	119	L	100	M	07 3-14-2	21	MF	241	M
07 5-13-10	106	0L	42	M					
07 6-12-9	86	0L	23	M					

¹Pardeamiento del tubérculo en corte transversal. *Escala de evaluación: 0=planta sin síntomas 0L=muy leve L=leve LM=leve moderado M=moderado MF=moderado fuerte F=fuerte.

DISCUSIÓN

Independientemente de la etiología del pardeamiento se observó una coincidencia en el 61% de los genotipos que se mostraron tolerantes bajo condiciones de campo e invernadero. Esto indica que los patógenos involucrados en la inducción de esta sintomatología como son el fitoplasma y la bacteria *Ca. Liberibacter solanacearum* pudieran tener mecanismos de acción similares en el floema de la planta induciendo grados de pardeamiento cercanos en los mismos genotipos, sin dejar de considerar que en campo la sintomatología del pardeamiento tiende a ser más severa, por el sinergismo de los agentes causales involucrados. No obstante, se requiere confirmar estos resultados y considerar- de manera independiente- el efecto del insecto “*per se*”.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos tanto en condiciones de invernadero como de campo, se seleccionaron 21 genotipos de papa, lo que permite inferir su uso en programas de mejoramiento genético orientado a la generación de variedades tolerantes al pardeamiento del tubérculo.

LITERATURA CITADA

Almeyda L., I. H.; Rubio, O.; Cadena-Hinojosa; M.A., Díaz, M., Zavala; T.E., Rocha; M.A., y Díaz-Valasis, A. 1999. Implementación de técnicas moleculares para la detección del agente causal de la Punta Morada de la Papa en plantas e insectos vectores. Proyecto de investigación, Laboratorio de Patología

Molecular-Monterrey. INIFAP, Produce. Informe de Avances. 19p.

Cadena Hinojosa, M.A. 1993. La Punta Morada de la Papa en México: Incidencia y búsqueda de resistencia. *Agrociencia* 4:247-256.

Cadena-Hinojosa, M.A. 1999. Potato Purple Top in Mexico: Effects of plant spacing and insecticide application. *Journal of Mexican Phytopathology* 17:91-95.

Cranshaw, W. S. 1994. The Potato (Tomato) Psyllid, *Paratrioza cockerelli* (Sulc) as a pest of potatoes). Colorado State U. Agricultural Experiment Station. In: *Advances in potato pest biology and management*. G W Szender Powelson L.M., R. K. Jansson y K. V. Raman (eds). APS. Cornell University. pp 83-94.

Hansen, A.K., J.T. Trumble, R. Stouthamer, and T.D. Paine. 2008. A new Huanglongbing (HLB) Candidatus species, “*C. Liberibacter psyllaourous*” found to infect tomato and potato is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied and Environmental Microbiology* 74: 5862–5865.

Liefting, L. W., Perez-Egusquiza, Z. C., Clover, G. R. G., and Anderson, J. A. D. 2008. A new ‘Candidatus *Liberibacter*’ species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease* 92:1474.

López-Flores, C. I. 2002. Estudios sobre el Psílido de la papa (*Paratrioza cockerelli*) en la Región del Bajío. Memorias del XI congreso Nacional de Productores de

Papa. Septiembre 26-28, 2002 León, Guanajuato. pp 98-109.

Maramorosch, K. 1998a. Potato Purple Top Wilt. Memorias del 2º Simposio Internacional de la Papa. Agosto 13-15,1998. Toluca, Edo. de México. pp. 21-31.

Maramorosch, K. 1998b. Current status of potato purple top wilt. International Journal of Tropical Plant Diseases 16:61-72.

Rubio-Covarrubias, O.A., Almeyda-León, I.H., Ireta Moreno, J., Sánchez-Salas, J.A., Fernández-Sosa, R., Borbón-Soto, J.T., Díaz-Hernández, C., Garzón-Tiznado, J.A., Rocha-Rodríguez, R. y Cadena-Hinojosa, M.A. 2006. Distribución de la punta morada y *Bactericera cockerelli* Sulc. en las principales zonas productoras de papa en México. Agricultura Técnica en México 32:201-211.