



"Enseñar la Explotación de la
Tierra No la del Hombre"

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
MAESTRÍA EN PROTECCIÓN VEGETAL**

**DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS GENÉTICAS
DEL PSÍLIDO DEL TOMATE *Bactericera cockerelli* (Sulc)
(HEMIPTERA: PSYLLIDAE), PROVENIENTES DE CINCO
ESTADOS, MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES**

T E S I S

QUE PRESENTA

MARÍA ELENA HERRERA SAUCEDO

COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Chapingo, Estado de México, a 09 de Diciembre de 2010.

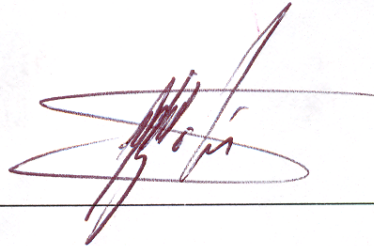


DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS GENÉTICAS DEL PSÍLIDO DEL TOMATE *Bactericera cockerelli* (Sulc) (HEMIPTERA: PSYLLIDAE), PROVENIENTES DE CINCO ESTADOS, MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES

Tesis realizada por **MARÍA ELENA HERRERA SAUCEDO** bajo la dirección del Dr. Juan
Fernando Solís Aguilar y Asesorada por el M. en C. Dimas Mejía Sánchez, y el Dr. Victor Manuel
Pinto, aprobada y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR: _____



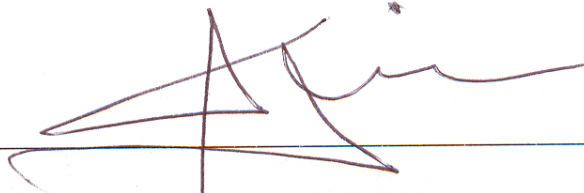
Dr. Juan Fernando Solís Aguilar

ASESOR: _____



M. en C. Dimas Mejía Sánchez

ASESOR: _____



Dr. Victor Manuel Pinto

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado para la realización de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal.

A la Universidad Autónoma Chapingo, a los Profesores del Programa de Maestría en Protección Vegetal y al personal administrativo, por su valiosa contribución a mi formación profesional.

Al Dr. Juan Fernando Solís Aguilar, por sus oportunas y acertadas sugerencias en el tema de investigación, además de su valioso tiempo y recursos proporcionados.

Al M. en C. Dimas Mejía Sánchez, principalmente por su gran amistad a lo largo de estos cinco años, por la oportunidad de trabajar en el Laboratorio de Técnicas Moleculares a su cargo, por su entusiasmo e invaluables conocimientos compartidos, para concluir de la mejor manera la presente TESIS.

Al M. en C. Camilo Hernández, por ser uno de los mejores asesores que he tenido, por su amistad y apoyo incondicional, por su valiosa contribución en el desarrollo de la presente. Muchas gracias.

Al Dr. Víctor Manuel Pinto, por su colaboración en la presente.

Al Dr. Nahúm Marbán Mendoza, por su amistad y todo el apoyo que me ha brindado desde que lo conozco.

A la M. en C. Adriana Rosalía Gijón Hernández y a la Dra. Juana Fonseca, por impulsarme para seguir preparándome.

Al Dr. Marcelo Acosta Ramos y M. en C. Francisco Ponce González, por su gran amistad.

A todos los profesores que en algún momento me impartieron alguna cátedra, por esforzarse cada día para seguir haciendo lo que mejor saben... transmitir el conocimiento.

A Aremi Rebeca, Abimael y Santiago. Sobre todo a Aremi por lo que he aprendido de ella. Por apoyarme en el laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Fitotecnia.

A mis compañeros y amigos de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, por su tiempo y experiencias compartidas.

A mis tíos, Ing. Josefa Martínez Hernández y el Dr. Amalio Santacruz Varela, por el cariño y apoyo que me han brindado en este último año.

A mi familia, por su valioso apoyo en todo momento y lugar.

A Ramón Chávez Lozanía, por su gran amistad, el apoyo durante estos dos años y por su cariño. Por ayudarme con mi Turín, mil gracias.

A mis mejores amigas Reinita y Mitzi, por estar conmigo cuando más las necesito.

A todas las personas que sin querer omito en estas líneas y que en algún momento me ayudaron o facilitaron algún trámite por insignificante que parezca, para mi sin lugar a duda fue de gran apoyo. Por cierto, a Mary y la Sra. Emma.

Sinceramente gracias.

DEDICATORIA

A mi hijo **ARTURO MENDOZA HERRERA**, gracias por estar conmigo cuando más te necesito,
por ser la persona más importante en mi vida y mi mayor alegría, por enseñarme a amar de la
forma en que jamás imaginé.

A mis Padres **el Sr. J. Marcos Herrera Santacruz y la Sra. Ma. Magdalena Saucedo Arroyo**,
por todo su apoyo y amor.

A mis hermanos: **Rafael, Ángeles, Eduardo, Verónica y Vanessa.**

A Vanessa porque no se que hubiera hecho sin ella.

A mis sobrinos: **Marcos, Luis, Alex, Vianey y Omar.**

DATOS BIOGRÁFICOS

MARÍA ELENA HERRERA SAUCEDO NACIÓ EN CIÉNEGA Y MANCILLAS MUNICIPIO DE RÍO GRANDE, ZACATECAS, EL 04 DE SEPTIEMBRE DE 1979. INGRESÓ EN 1999 A LA PREPARATORIA AGRÍCOLA Y EGRESA EN 2007 DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO, OBTENIENDO EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO ESPECIALISTA EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA.

EL DESARROLLADO PROFESIONAL HA SIDO EN EL CAMPO DE VENTAS DE PRODUCTOS PARA EL CONTROL DE PLAGAS AGRÍCOLAS, ADEMÁS DE LOGRAR APROBACIÓN COMO TERCERO ESPECIALISTA FITOSANITARIO.

EN JULIO DE 2008, INGRESÓ A LA MAESTRÍA EN DEL PROGRAMA DE PROTECCIÓN VEGETAL DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA (GENERACIÓN 42), CONCLUYENDO DICHA FORMACION EN 2010.

DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS GENÉTICAS DEL PSÍLIDO DEL TOMATE *Bactericera cockerelli* (Sulc) (HEMIPTERA: PSYLLIDAE), PROVENIENTES DE CINCO ESTADOS, MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES

DETERMINATION OF GENETIC DIFFERENCES OF TOMATO PSYLLID *Bactericera cockerelli* (Sulc) (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) FROM FIVE STATES THROUGH MOLECULAR TECHNIQUES

María Elena Herrera Saucedo¹, Juan Fernando Solís Aguilar²

RESUMEN

La enfermedad conocida como permanente del tomate en los últimos diez años ha causado enormes daños en regiones donde se cultiva esta importante hortaliza. La etiología de la enfermedad se ha relacionado con organismos tipo bacteria y su transmisión con el psílido *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Psyllidae). Esta plaga representa un alto riesgo para la agricultura debido a que es polífaga, especialmente de la familia Solanaceae y al menos otras 17 familias. *B. cockerelli* está asociado con Huanglongbing (HLB) y fitoplasmas, y es capaz de transmitir estos patógenos en plantas de chile, *Capsicum annuum* L.; tomate, *Solanum lycopersicum* L.; y papa, *Solanum tuberosum* L. y en este insecto pueden coexistir al menos tres grupos de fitoplasmas (16SrI, 16SrII y 16SrXIII).

Con el objeto de conocer la similitud genética de esta plaga en cinco estados de México, en el presente trabajo se analizó la región ITS4 28S rDNA a individuos adultos de *B. cockerelli* de Coatepec Harinas, Estado de México; Yurécuaro, Michoacán; Morelos; Villa de Arista, San Luis Potosí y Fresnillo, Zacatecas. Se les obtuvo el DNA de forma directa y se amplificó usando los iniciadores ITS4 e ITS5, el producto amplificado se secuenció en el Laboratorio de Fisiología Celular de la UNAM, y los resultados se compararon con otras secuencias de nucleótidos disponibles en Base de Datos del Banco de Genes (GenBank) del Centro Nacional para la Información en Biotecnología (NCBI), de Estados Unidos. La alineación indicó 100% de similitud con *B. cockerelli*. El producto amplificado fue sometido a un gel de poliacrilamida. Los resultados indican diferencias en los productos amplificados, lo que sugiere que *B. cockerelli* cuenta con variantes o biotipos, como lo mencionan Servín *et al.* en 2008. A ello podemos atribuir el diferente grado de daño que causa, la preferencia por el ataque a cultivos de papa, chile o tomate y su afinidad para transmitir virus, bacterias o fitoplasmas.

Palabras clave: *Bactericera cockerelli*, secuenciación, diagnóstico, PCR.

ABSTRACT

The disease known as psyllid yellows in tomato has caused enormous damage over the last ten years in regions where this important vegetable is grown. The etiology of the disease has been linked to bacteria-like organisms and its transmission to the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Psyllidae). This pest poses a high risk for agriculture because it is polyphagous, especially at the Solanaceae family and at least 17 other families. *B. cockerelli* is associated to Huanglongbing (HLB) and phytoplasmas, and is able to transmit these pathogens into plants of pepper, *Capsicum annuum* L., tomato, *Solanum lycopersicum* L., and potato, *Solanum tuberosum* L. and at least three groups of phytoplasmas (16SrI, 16SrII and 16SrXIII) can coexist into that insect.

In order to determine the genetic similarity of this pest in five states of Mexico, in this paper the ITS4 28S rDNA region was analyzed into adult's individuals of *B. cockerelli* from Coatepec, State of Mexico; Yurécuaro, Michoacán; Morelos; Villa de Arista, San Luis Potosí and Fresnillo, Zacatecas. DNA was obtained directly and amplified using primers ITS4 and ITS5, the amplified product was sequenced at the Laboratory of Cellular Physiology, UNAM, and the results were compared with other nucleotide sequences available at the Data Base of the Gene Bank (GenBank), National Center for Biotechnology Information (NCBI), United States. The alignment showed 100% similarity to *B. cockerelli*. The amplified product was submitted to electrophoresis into a polyacrylamide gel. Results indicate differences in the amplified products, suggesting that *B. cockerelli* has variants or biotypes, as mentioned by Servín *et al.* in 2008, which is likely underlying the different degree of harm caused, the preference for the attack over potato, pepper or tomato and its affinity for transmitting viruses, bacteria or phytoplasmas.

Key words: *Bactericera cockerelli*, sequencing, diagnostic, PCR.

ÍNDICE GENERAL

SECCIÓN	CONTENIDO	PÁGINA
	ÍNDICE DE CONTENIDO	i
	ÍNDICE DE FIGURAS	iii
	ÍNDICE DE CUADROS	iv
	RESUMEN Y ABSTRACT	
I	INTRODUCCIÓN	1
II	OBJETIVO	4
III	REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1.	Cultivo de tomate <i>Solanum lycopersicum</i> L.	5
3.1.1.	Origen y distribución	5
3.1.2.	Posición taxonómica	6
3.1.3.	Especies de tomate	6
3.1.4.	Descripción botánica	8
3.2	<i>Bactericera cockerelli</i> Sulc.	10
3.2.1	Antecedentes	10
3.2.2	Posición taxonómica	12
3.2.3.	Fitoplasmas asociados a punta morada de la papa en México	12
3.2.4.	Otros nombres científicos	12
3.2.5.	Nombres comunes	12
3.2.6.	Importancia económica de <i>Bactericera cockerelli</i> .	13
3.2.7.	Origen y distribución	13
3.2.8.	Hospederos	13
3.2.9.	Agente causal	15
3.2.10	Umbral económico	17
3.2.11	Epidemiología y ciclo biológico	20
3.2.11.1.	Huevecillos	20
3.2.11.2.	Estadíos ninfales	21
3.2.11.3.	Adulto	23

3.2.12.	Manejo	26
3.2.12.1.	Manejo químico	26
3.2.12.2	Manejo biológico	27
3.2.12.3	Manejo cultural	27
3.2.13.	Muestreo	28
3.3.	Técnicas moleculares	28
3.3.1.	Ácido desoxirribunucleico (ADN)	28
3.3.2.	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	29
3.3.3.	Secuenciación	29
3.3.4.	Electroforesis	29
3.3.4.1.	Electroforesis desnaturizante	31
IV	MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.1	Material Biológico	32
4.2	Extracción del DNA mediante el método directo	32
4.3	Visualización de la calidad del ADN	32
4.4	Amplificación mediante PCR	33
4.5	Purificación del producto de PCR	33
4.6	Secuenciación	34
4.8.	Producto de PCR en gel de acrilamida al 8%.	34
4.7.	Producto de PCR en gel de acrilamida desnaturizante al 8%.	35
V	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
5.1.	Análisis de PCR	36
5.1.1.	Extracción de ADN	36
5.1.2.	Visualización del producto de PCR	36
5.1.3.	Purificación del producto de PCR	37
5.1.4.	Secuenciación de nucleótidos	38

VI	CONCLUSIONES	42
VII	CITAS BIBLIOGRÁFICAS	43
	ANEXO:	38
A	TBE (10X)	49
B	GEL DE POLIACRILAMIDA 8%	57
C	SOLUCIONES DE REVELADO	57

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	CONTENIDO	PAGINA
1	Comparación de las clasificaciones de <i>Solanum</i> L. sección <i>Lycopersicon</i> (Mill.) (Fuente Peralta <i>et al.</i> , 2001).	8
2	Flor de tomate. (Fuente: http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/lycopersicon-esculentum/imagenes/flor.jpg (Consulta enero 2008).	9
3	Daño en producto procesado. (Fuente: http://www.conpapa.org.mx/portal/pdf/sistema/cfito_cockerelli.pdf consulta).	16
4	Daño en tubérculo. (http://www.panhandle.unl.edu/potato/assets/images/Potato_Psyllid_tubers_CSU.jpg).	16
5	Punta morada de la papa. (Fuente: http://www.colpos.mx/entomologia/images/puntamorada2.jpg ; consulta enero 2008).	17
6	Permanente del tomate. (Fuente: http://www.cesavem.org/divulgacion/paratrioza/FOLLETO%20PARATRIOZA.pdf ; consulta enero 2008).	19
7	Huevecillos (Fuente: www.cesavem.org ; consulta enero 2008).	21
8	Ninfa (Fuente: www.cesavem.org ; consulta enero 2008).	22
9	Adulto. Fuente: http://www.faunistik.net/DETINVERT/STERNORHYNCHA/PSYLINA/IMAGES/paratrioza.cockerelli_ad01.gif	24
10	Ciclo biológico Fuente: http://www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcs_mexico.nsf/id/ParatriozaPests_BCS ; consulta marzo 2009).	25
11	Extracción de ADN de <i>B. cockerelli</i> mediante el método directo. Carril 1,	33

2 y 3.

- | | | |
|-----------|---|-----------|
| 12 | Producto de PCR en gel de agarosa al 1.5%. Carriles: 1. Marcador de peso molecular 100pb; 2. Positivo de <i>B. cockerelli</i> del Estado de México; 3. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Michoacán; 4. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Morelos; 5. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de S.L.P.; 6. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Zacatecas. | 37 |
| 13 | Amplificación del producto de PCR de <i>B. cockerelli</i> . Carriles: 1. Marcador molecular de 100 pb; 2, 3. Producto de PCR de <i>B. cockerelli</i> , 4. Testigo negativo. | 38 |
| 14 | El árbol filogenético muestra la relación entre las especies de <i>B. cockerelli</i> . El árbol fue construido basado en los fragmentos amplificados del ITS4 del rRNA, usando el algoritmo NJ (Neighbor-Joining). | 39 |
| 15 | Producto de PCR en gel de acrilamida al 8%. Carriles: 1. Marcador de peso molecular 100pb; 2. Positivo de <i>B. cockerelli</i> del Estado de México; 3. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Michoacán; 4. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Morelos; 5. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de S.L.P.; 6. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Zacatecas. 7. Marcador de peso molecular 1kb. | 40 |
| 16 | Producto de PCR en gel de acrilamida al 8%. Carriles: 1. Marcador de peso molecular 100pb; 2. Positivo de <i>B. cockerelli</i> del Estado de México; 3. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Michoacán; 4. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Morelos; 5. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de S.L.P.; 6. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Zacatecas. | 41 |
| 17 | Producto de PCR en gel de acrilamida desnaturalizante al 8%. Carriles:

1. Marcador de peso molecular 100pb; 2. Positivo de <i>B. cockerelli</i> del Estado de México; 3. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Michoacán; 4. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Morelos; 5. Positivo de <i>B. cockerelli</i> de S.L.P.; 6.

Positivo de <i>B. cockerelli</i> de Zacatecas. | 42 |

ÍNDICE DE CUADROS

NUMERO	CONTENIDO	PÁGINA
1	Duración del Ciclo biológico de <i>Bactericera</i> (Paratrioza) <i>cockerelli</i> .	20
2	Manejo Químico.	26
3	Secuencia de nucleótidos del fragmento de PCR de <i>B. cockerelli</i> , amplificando la sección ITS4 del rDNA específico.	39

I INTRODUCCIÓN

Las especies hortícolas cultivadas de mayor importancia, se agrupan taxonómicamente en dos familias botánicas; Solanáceas y Cucurbitáceas, las cuales proporcionan una gama de frutos comestibles que se consumen en fresco, en seco, o bien, industrializados. Dentro de la familia de las solanáceas se encuentran como principales cultivos el tomate y el chile (De La Cruz, 2001).

El tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) es de las hortalizas que mayor importancia ha cobrado en nuestro país por las fuentes de trabajo y divisas económicas que genera su cultivo. En México se cultiva en todo el país en diversos sistemas de producción. Es importante señalar que el tomate es la hortaliza más cultivada y consumida a nivel mundial. Estas circunstancias se deben por un lado a su alto contenido de vitaminas y minerales y al consumo en fresco del fruto y el de sus productos derivados de su industrialización.

La producción de tomate se concentra principalmente en cinco estados de la república, destacando Sinaloa como principal estado productor (Muñoz *et al.*, 1995). Sinaloa con el 41 % de la producción seguido de: Baja California 11 %, Michoacán 9 %, Jalisco 7 %, San Luis Potosí 7 %, Baja California Sur 7%, Zacatecas 6 %, Estado de México 4 %, Morelos 4 %, y Tamaulipas 4 %. (SIAP, 2009).

Desafortunadamente en estas regiones pueden presentarse diversos problemas que reducen la producción y los beneficios para el agricultor. Entre los principales factores que merman la

producción se consideran a los factores ambientales, al manejo inadecuado del cultivo (tecnología deficiente), selección inadecuada de variedades para determinadas regiones, mal uso de agroquímicos y la presencia de plagas, en las diversas etapas de desarrollo del cultivo (Mendoza, 1999).

Entre los agentes causales de daños en tomate se encuentra el Pulgón saltador (*Bactericera cockerelli* Sulc). Este insecto puede ocasionar 2 tipos de daños: el directo y el indirecto. El primero es cuando el insecto se alimenta de la planta y succiona la savia y ocasiona principalmente, que la planta no se desarrolle y se torne de un color amarillo; el segundo es como vector de enfermedades (fitoplasma), pero este último solo está reportado para México, ya que en el resto del mundo solo está reportado el daño directo (Garzón, 2002).

El psílido del tomate *Bactericera* (=Paratrioza) *cockerelli* se ha convertido en un problema fitosanitario importante en los estados de Coahuila, San Luis Potosí, Guanajuato, Baja California, Sinaloa, en las últimas temporadas, originando un considerable aumento en los costos de producción, debido al alto número de aplicaciones (hasta 8) que se realizan para su control, y a pesar de lo anterior, no logran reducir los daños que este insecto provoca en los cultivos que ataca, ya que existen reportes en diferentes regiones donde las pérdidas pueden ser totales (Avilés *et al.*, 2005).

Este psílido es un insecto clave del tomate y la papa en muchas áreas de Norteamérica. En México su importancia ha tomado gran fuerza debido a que afecta cultivos hortícolas como el tomate, papa, tomate de cáscara y chile que constituyen la base de las hortalizas del país (López, 2002).

Debido a que esta plaga llega a ocasionar pérdidas del 60 % en la producción de tomate y por la importancia que representa para los productores de tomate, papa y chile, principalmente, se realizó el presente trabajo.

II OBJETIVO

Determinar la similitud de *Bactericera cockerelli* Sulc. en cinco estados de México.

III REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. El cultivo del tomate

3.1.1. Origen y Distribución

La palabra "jitomate" procede del náhuatl "xictli", ombligo y "tomātl", "tomate", que significa "tomate de ombligo". El tomate ya se cultivaba 700 años a.C. en México, y en el antiguo Perú antes de la formación del Imperio inca (Smith, 1994).

Los autores difieren en cuanto al origen del tomate *Solanum lycopersicum* L. En la información más reciente se dice que el tomate se originó muy probablemente en las tierras altas de la costa occidental de Sudamérica (Smith, 1994). Investigaciones posteriores han precisado que ésta y otras hortalizas se cultivaron en forma continua por las culturas que florecieron en la Cordillera de los Andes desde tiempos pre-incas. Estas investigaciones coinciden en asignar el origen del tomate a esta zona, apoyados no sólo en la antigüedad de las evidencias arqueológicas registradas en los ceramios prehispánicos hallados en la zona norte del actual Perú, sino también a la gran cantidad de variedades silvestres que se pueden hallar aún en campos y zonas eriazas de esta parte de Sudamérica. El tomate viajó a Europa desde Tenochtitlan, capital del imperio azteca, después de la conquista de los españoles, donde se le conocía como "xitomatl", "fruto con ombligo" (de donde proviene el nombre actual en muchos estados de México, "jitomate"). Si bien ambos centros de origen del tomate cultivado, Perú y México, han sido postulados y se ha proporcionado evidencia en uno u otro sentido, no existen pruebas concluyentes que apoyen de manera incontrovertida uno de tales sitios como el lugar donde el tomate ha sido domesticado a partir de su ancestro silvestre. Más aún, puede ser que este

cultivo haya sido domesticado independientemente por las culturas precolombinas que habitaban lo que actualmente es México y Perú (Peralta *et al.*, 2007).

3.1.2. Posición taxonómica.

De acuerdo a Zuloaga, 2009.

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Clase: Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Subfamilia Solanoideae

Tribu: Soloneae

Género: *Solanum*

Especie: *S. lycopersicum* L.

Nombre común: *Tomate*

3.1.3. Especies de tomate

Existen dos subgéneros con sus respectivas especies reconocidas por Bayley (1958):

- Eulycopersicon
 - *pimpinellifolium* (Jusl.) Mill.
 - *cheesmanii*, Riley.

- *paviflorum*
- *chmielewskii*
- *hirsutum* Humb. y Bompl.
 - *glabratum*
 - *typicum*
- Eriopersicon
 - *chilense* Dun.
 - *peruvianum* (L.) Mill.
 - *humifusum*
 - *gladulasum*
 - *pennellii*

Rick (1960) propone una clasificación infragenética basada principalmente en el cruce de las relaciones. Él reconoce nueve especies silvestres de tomate, clasificadas en dos complejos. El complejo *esculentum* incluye siete especies, principalmente autocompatibles, y se cruzan fácilmente con el tomate cultivado. Dentro de este grupo de tres especies, *L. esculentum*, *L. pimpinellifolium* y *cheesmaniae* L., en su mayoría glabras, frutas rojas, mientras que los otros tienen frutos verdes pubescentes. El *S. peruvianum* y *S. chilense*, que rara vez se cruzan con *L. esculentum* (Peralta et al., 2001).

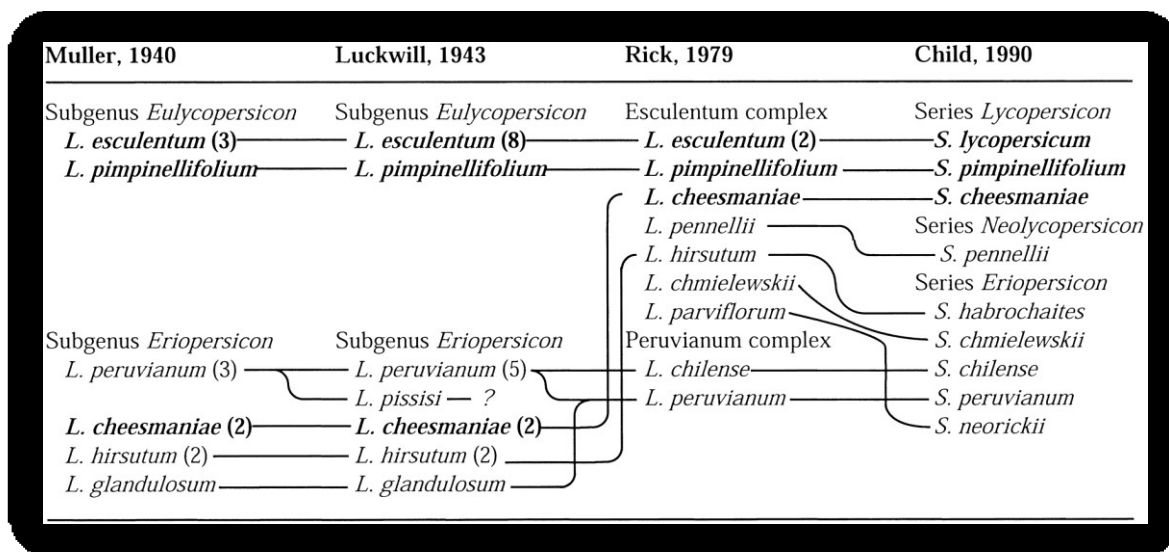


Figura 1. Comparación de las clasificaciones de *Solanum* L. sección *Lycopersicon* (Mill.) Wettst. Inciso *Lycopersicon*. En las especies en negrita los frutos van de color amarillo, rojo a naranja y los que no tienen negrita tienen frutos de color verde. Los números entre paréntesis representan el número de rangos infraespecíficos (subespecies, variedades y formas). Las líneas conectan taxones sinónimos.

3.1.4. Descripción botánica

El tomate es una planta herbácea perenne, cultivada como anual, sensible al frío. Las variedades precoces (las que florecen y fructifican más rápido) suelen alcanzar una longitud de 1,2 m; las tardías, en cambio, casi siempre son más grandes y llegan a los 2,5m de longitud. El hábito de crecimiento es muy diverso, cuando jóvenes todas las plantas son erguidas y en estado adulto son semierguidas o decumbentes; esto es, el tallo no es lo suficientemente rígido como para soportar el peso de las hojas, ramas secundarias y frutos, por lo que necesita de otra planta o alguna estructura para sostenerse. Por esta razón, es común ver las diversas estructuras (tutores o espalderas) que coloca el agricultor en los cultivos de tomates, para que la

planta se pueda sostener. El tallo es anguloso, pubescente, con algunos pelos glandulares; al principio su consistencia es herbácea y en estado adulto es leñoso. La ramificación del tallo es simpodial, es decir, las yemas axilares desarrollan ejes sucesivos, mientras que las yemas terminales producen flores o abortan. Las ramitas que se originan en las yemas axilares dan hojas en todos los nudos y terminan también en una inflorescencia. El sistema radicular es pivotante, muy denso y ramificado en los treinta primeros cm. Las hojas son alternas, bipinatisectas y pecioladas, con una longitud de 10 a 25 cm. El borde de los segmentos foliares es dentado. Las flores son hermafroditas, actinomorfas y péndulas, de 1 a 2 cm de largo y color amarillo brillante (Fig. 2).



¹ **Figura 2.** Flor del tomate

En las especies silvestres de tomate la flor es pentámera, mientras que en los tomates cultivados el número de segmentos de cada ciclo es muy diverso, observándose muchas variaciones, algunas de las cuales están asociadas a un gen que produce faciación. El cáliz está formado por 5 a 10 segmentos, lineales a lanceolados y persistentes. Su tamaño va aumentando a medida que se va desarrollando el fruto. La corola es amarilla, rotada, con el tubo corto, dividida en 5 o más lóbulos, con numerosos pelos glandulares en la cara dorsal, cinco o más estambres

¹<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/lycopersicon-esculentum/imagenes/flor.jpg>

adheridos al tubo de la corola, de filamentos cortos y anteras conniventes, dehiscentes por hendiduras longitudinales. El pistilo es único, formado por la unión de 5 o 6 carpelos. El ovario es bilocular (si bien existen hasta 10 lóculos en ciertas variedades cultivadas) con la placenta central carnosa. Los pedicelos presentan un pequeño estrangulamiento en la parte media que corresponde a la zona de abscisión. Las flores se disponen en cimas axilares paucifloras, cada una de las cuales lleva normalmente de 5 a 6 flores, pero a veces hasta 30.

Tomate de la variedad "corazón de buey" visto desde arriba, desde abajo y en corte transversal. Se pueden observar los 10 lóculos, la placenta en cada uno de ellos y las semillas adheridas a tales placentas.

El fruto es una baya. En las especies silvestres de tomate el fruto es bilocular, mientras que en las variedades cultivadas es bilocular o 30-locular, siendo lo más frecuente, de 5 a 9 lóculos. En la epidermis de los frutos se desarrollan pelos y glándulas que desaparecen cuando aquéllos llegan a la madurez. En el ápice del fruto suelen observarse restos del estilo. La forma del fruto es variable, generalmente depreso-globoso u oblongo. Presentan numerosas semillas, pequeñas, aplanadas, amarillento-grisáceas, velludas, embebidas en una masa gelatinosa formada por el tejido parenquimático que llena las cavidades del fruto maduro. El tomate, al igual que sus congéneres silvestres, es una especie diploide con 24 cromosomas en sus células somáticas.

3.2. *Bactericera cockerelli* Sulc.

3.2.1. Antecedentes

En México, se tienen antecedentes de este insecto desde 1947, en donde se reporta su presencia en los estados de Durango, Tamaulipas y Michoacán; posteriormente se localizó en el

Estado de México, Guanajuato y 12 estados más. Se le ha llamado “pulgón saltador” por la similitud que guardan con los áfidos o pulgones, y que en un pasado reciente se han confundido con ellos. No obstante, el daño que causan en chiles, papas y tomates con la toxina que inyecta, no han sido de importancia económica, lo que sí es de cuidado es la transmisión de un patógeno llamado fitoplasma (Garzón *et al.*, 1986; Delgadillo *et al.*, 1999; citados por Bujanos, 2005).

En México, se ha encontrado en Coahuila, Chihuahua, Durango, Baja California (Norte), Estado de México, Guanajuato, Aguascalientes, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Puebla, San Luis Potosí, Sonora y Sinaloa sobre cultivos de papa, tomate y chile (Velásquez *et al.* 2005, García 2007). Trabajos recientes manifiestan la existencia de biotipos de *B. cockerelli*, que los distingue por su capacidad reproductiva y de propagación al invadir en forma rápida cultivos de tomate en California y Baja California, México; generándose abundantes poblaciones y como consecuencia pérdidas mayores al 50%. Asimismo, dichas razas muestran niveles de resistencia mayores que los encontrados en las poblaciones nativas de Texas (Liu y Trumble 2007). Entre los problemas más relevantes generados por *B. cockerelli*, está su capacidad para inyectar una toxina que provoca modificaciones en el color normal de las hojas, tornándolas amarillas o moradas, por ello dicho padecimiento se conoce como “el amarillamiento del psílido”, lo que impide el desarrollo normal de la planta y como consecuencia su muerte (Servín *et al.*, 2008).

Esta enfermedad ha diezariado la producción de tomates en México en un 45 %, y posiblemente sea el responsable del mismo daño en papas, chiles y tomates de cáscara a nivel nacional, causando actualmente pérdidas, quizás más considerables que los geminivirus transmitidos por la mosquita blanca en los cultivos de tomate y chile (Bujanos, 2005).

3.2.2. Posición taxonómica

De acuerdo a Domínguez, 2000.

Phyllum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Homóptera

Suborden: Sternorrhyncha

Superfamilia: Psylloidea

Familia: Psyllidae

Género: *Bactericera*

Especie: *B. cockerelli* Sulc.

Nombre común: Psílido del tomate

3.2.3. Fitoplasmas Asociados a Punta Morada de la papa en México

PPT, Grupo 16Sr I (Amarillamiento del aster). PHS, Grupo 16Sr II (Escoba de bruja del cacahuete) (Leyva-López *et al.*, 2002).

3.2.4. Otros nombres científicos

Paratrioza cockerelli Sulc.

3.2.4. Nombres comunes

Psílido del tomate, Psílido de la papa y Psílido de la papa y tomate (López, 2002).

3.2.5. Importancia económica de *Bactericera cockerelli*

Sinaloa es considerado en México y Latinoamérica como la entidad eminentemente agrícola donde se concentra la más alta producción de hortalizas. La superficie sembrada en la temporada 2002-2003 ha sido de 23,215 hectáreas para tomate, 10,344 hectáreas para chile Bell, Pepino 4 673 hectáreas, berenjena con 1,188 hectáreas. Además de otros cultivos como ejote, chícharo, melón, cebolla, elote, entre otros, en sus diferentes tipos y variedades (Valenzuela *et al.*, 2003). En el Distrito de riego No. 75 Río Fuerte, durante el ciclo Otoño-Invierno 2004-2005, se sembraron 208,210 hectáreas bajo condiciones de riego, de las cuales 3,334 hectáreas se destinaron al cultivo de chiles, 12,535 hectáreas se plantaron con tomate y 6,835 hectáreas con tomatillo o tomate de cáscara (CNA-SAGARPA, 2005, citado por Kikushima, 2005). Los problemas fitosanitarios representan un factor limitativo para la producción de hortalizas en esta región, destinándose año con año más del 30 % de los costos de producción para su manejo.

3.2.6. Origen y Distribución

Este insecto fue descubierto por primera vez en Estados Unidos por Cockerell, en el Estado de Colorado, y para su reconocimiento Sulc la bautizó científicamente como *Trioza cockerelli*, aunque más tarde se le cambió de nombre a *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) y últimamente como *Bactericera cockerelli* Sulc. El origen de este insecto según investigadores de USA., se adjudica

al oeste de Norteamérica, aunque Cranshaw (2002), menciona que este insecto es nativo de México y el sur de los Estados Unidos, es altamente migratorio, que pasa el invierno en México y en el sureste de los Estados Unidos, las migraciones al norte se presentan en mayo y junio provocadas por las altas temperaturas. Se cree que los movimientos migratorios de regreso (Norte a Sur) son en septiembre y octubre (Cranshaw, 2002, citado por Kikushima, 2005).

Según Pletsch (1947) y Tuthill (1943); citados por Avilés *et al.* (2002), en los estados Unidos esta plaga se encuentra distribuida en quince estados que son: Arizona, California, Colorado, Idaho, Kansas, Minnesota, Nebraska, Nevada, Nuevo México, Dakota del Norte y del Sur, Oklahoma, Texas Utahy Wyoming. En Canadá en tres estados: Alberta, Saskatchewan y Columbia; En México se encuentra distribuida en 17 estados y son zonas donde se cultivan papa, tomate y chile principalmente. Se tiene información que en los Estados de San Luis Potosí, Baja California Norte, Guanajuato, Michoacán, Estado de México, Morelos y en Coahuila, esta plaga ha presentado daños de consideración en los cultivos de papa, tomate y chile (Jiménez *et al.*, 1992) mencionan que en Chapingo Estado de México, al pulgón saltador *Paratrioza cockerelli* (Sulc) se le encuentra desde dos semanas después de haberse sembrado el tomatillo *Physalis ixocarpa* Brot., es decir, de fines de abril hasta principios de junio. En el Estado de Sinaloa (Avilés *et al.*, 2002), refieren la presencia de los estados inmaduros de este insecto en muestras colectadas para el monitoreo de mosquita blanca en el Valle de Culiacán durante el ciclo otoño-invierno 2001-2002, sin embargo, no se tiene información acerca de la distribución, abundancia y daños ocasionados por este insecto en los años siguientes.

3.2.7. Hospederos

El pulgón saltador tiene un amplio rango de hospederos cultivados y silvestres. Este insecto ataca a las solanáceas, principalmente chile (*Capsicum annuum*), Papa (*Solanum tuberosum*) y jitomate (*Solanum lycopersicum*) son los preferidos por las hembras para ovipositar, se considera que el ciclo biológico de este insecto no varía en los cultivos de papa y tomate; sin embargo, el estadio ninfal es más prolongado en aquellas especies de plantas que no pertenecen a la misma familia, como es el caso de algunas malezas que son hospederas, aunque el pulgón saltador se encuentre principalmente en las Solanáceas, también ataca *Amaranthaceae*, *Asclepiadaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Violaceae*, *Quenopodiaceae*, *Convolvulaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Lycophyllaceae*, *Malvaceae*, *Menthaceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*, *Salicaceae*, *Scrophulariaceae* y *Zygophyllaceae* (Garzón, 2002a y 2003, citado por Franco, 2005).

3.2.8. Agente causal

El psílido de la papa (*Paratrioza cockerelli* Sulc.) es un insecto picador chupador que pertenece a la familia Psyllidae (Hemiptera). El insecto causa dos tipos de daños, el toxinífero o directo y el indirecto como transmisor de un fitoplasma. En caso de papa; el daño directo ocurre cuando el insecto se alimenta de la papa y le inyecta una toxina que permanece en el tubérculo-semilla y la planta se torna de un color amarillo (Figura 3). Las plantas dañadas crecen en forma erecta, principalmente las hojas más jóvenes. Los folíolos se enrollan hacia el haz y adquieren una coloración amarilla o púrpura en los bordes de las hojas. El tallo presenta una consistencia más leñosa con entrenudos cortos y en ocasiones con tubérculos aéreos. Los tubérculos dañados pueden presentar en el interior una coloración parda tan fuerte que puede llegar a inutilizarlos.

La toxina provoca que los brotes de la papa sean delgados (Figura 4), como hilos, evitando su desarrollo. Los síntomas de brotes de hilo se confunden con los síntomas que provoca el fitoplasma que causa la Punta Morada de la Papa (PMP). Si las ninfas del psílido son eliminadas, los síntomas de la enfermedad desaparecen (SAGARPA, 2007).



²Figura 3. Daño en hojas.



³Figura 4. Daño en tubérculo.

²http://www.panhandle.unl.edu/potato/assets/images/Potato_Psyllid_tubers_CSU.jpg

³http://www.panhandle.unl.edu/potato/assets/images/Potato_Psyllid_tubers_CSU.jpg

La Punta morada de la papa (PMP) (Fig. 5) fue detectada en México desde 1948, sin embargo su importancia fue insignificante en aquellos tiempos. El problema se ha incrementado en los últimos 10 años. En la actualidad afecta el 70% de las 65,000 Has, sembradas con papa en México. Dependiendo del grado de infección, los daños varían desde 20 a 100% en la pérdida del rendimiento comercial de tubérculos. En el 2002 se encontró por primera vez el psílido de la papa (*Paratrioza cockerelli*) en brotes esporádicos en lotes de producción de semilla de papa en Tapalpa. También se encontraron tubérculos-semilla con brotes de hilo de los cuales se aisló el fitoplasma de la PMP (SAGARPA, 2007).



⁴Figura 5. Punta morada de la papa

3.2.9. Umbral económico

No existen umbrales económicos o de acción para tomar decisiones de control del psílido del tomate. La información existente sobre la interacción vector-enfermedad-hospedante se menciona a continuación:

⁴ <http://www.colpos.mx/entomologia/images/puntamorada2.jpg>

En California, en el cultivo de papa se reporta que densidades de 3 a 5 ninfas por planta son capaces de producir síntomas iniciales del “amarillamiento por el psílido”, pero que se requieren ≥ 15 ninfas por planta para producir síntomas severos. Poblaciones relativamente bajas antes o durante el inicio de la formación de los tubérculos afectan la producción significativamente, pero una vez que los tubérculos se han formado las plantas toleran el daño. En esta región se han reportado pérdidas de rendimiento del 20 al 50%. También se reporta que los tubérculos producidos por plantas enfermas brotan prematuramente bajo almacenaje y no son adecuados para su uso como semilla. Se indica que la alimentación por los adultos tiene poco o ningún efecto en cualquier época del desarrollo del cultivo (Nava, 1997).

En el Bajío se determinaron las relaciones entre la edad de la planta de tomate en unidades calor y la incidencia de la enfermedad, así como entre la etapa fenológica de infección del permanente (Fig. 6) y el rendimiento de plantas individuales de tomate (cultivar Hayslip). Con base en esta información se determinó que el período crítico de infección se ubica entre la quinta y sexta floración, correspondientes entre las 630 y 710 unidades calor (temperatura base de 10 °C) acumuladas a partir del trasplante, respectivamente. También se determinó que un control eficiente del vector debe generar los siguientes niveles de incidencia de la enfermedad: 5, 10, 15, 20, 25 y 30% de plantas enfermas durante la primera, segunda, tercera, cuarta, quinta y sexta floración, respectivamente (Garzón *et al.*, 1992).



⁵Figura 6. Permanente del tomate

En la Comarca Lagunera, durante 1997, se determinaron las densidades de adultos del psílido del tomate en trampas amarillas pegajosas, la incidencia de plantas enfermas, la producción y calidad de los frutos en tres fechas de trasplante (11 de marzo, 10 de abril y 8 de mayo) de tomate, variedad Río Grande. Los promedios de capturas de adultos por trampa y los porcentajes de plantas enfermas se redujeron, mientras que el rendimiento y la calidad de los frutos tendieron a incrementarse a medida que se trasplantó el cultivo más tarde. Durante el 2003 se muestrearon seis predios de tomate en la Comarca Lagunera para evaluar la densidad de psílicos y su relación con la incidencia de plantas enfermas. Densidades bajas del insecto causaron porcentajes de plantas enfermas elevados (Garzón *et al.*, 1992).

⁵ <http://www.cesavem.org/divulgacion/paratrioza/FOLLETO%20PARATRIOZA.pdf>

3.2.10. Epidemiología y ciclo biológico

El ciclo de la paratrioza se cubre en 336 unidades calor (UC), a una temperatura mínima umbral de 7 °C, sin embargo, si se homologa la mínima umbral (10 °C) con la de cultivos como tomate y chile se deberá considerar 280 UC. Su ciclo biológico dura de 15 a 30 días aproximadamente.

Cuadro 1. Duración del Ciclo biológico de *Bactericera (Paratrioza) cockerelli*

Estadio	UC	Duración del ciclo (días)
Huevo a N ₁	72	5.50
N ₁ a N ₂	54	4.10
N ₂ a N ₃	48	3.60
N ₃ a N ₄	54	4.10
N ₄ a N ₅	48	3.60
N ₅ a adulto	80	6.10
Total	356	27

Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de México (CESAVEM).

3.2.10.1. Huevecillos

Son de forma ovoide de color anaranjado-amarillento, corion brillante, suspendido por un corto filamento o pedicelo, éstos se encuentran aislados uno de otro y en ocasiones pueden formar grupos de 5 a 10 huevecillos separados (Figura 7), cada hembra durante su vida deposita alrededor de 500 huevecillos, y son colocados en los márgenes de las hojas, en el envés de las hojas y en ocasiones en los tallos florales, requieren de 8-10 días para incubarse (Becerra, 1989; Cranshaw, 2002; citados por Kikushima, 2005).



⁶Figura 7. Huevecillos

3.2.10.2. Estadíos ninfales

Presentan cinco estadíos ninfales, que son en forma oval, aplanados dorsoventralmente, con ojos bien definidos. Las antenas presentan sencillas placoides (estructuras circulares con función olfatoria), las cuales aumentan en número y son más notorias conforme el insecto alcanza los diferentes estadíos. El perímetro del cuerpo presenta filamentos cerosos, los cuales forman un halo a su alrededor (Figura 8). Al observarse en el microscopio se puede apreciar una diferenciación entre los estadíos ninfales, éstos generalmente se localizan en el envés de las hojas (Daniels, 1934; citado por Kikushima, 2005).

⁶ http://www.conpapa.org.mx/portal/pdf/sistema/cfito_cockerelli.pdf



⁷Figura 8. Ninfa

Primer instar: Aplanado dorsoventralmente, de forma oval, cabeza y tórax fusionados (cefalotórax), antenas con segmentos basales cortos, gruesos y pico diferenciados, último segmento con una seta sensora larga, sencillas placoides poco diferenciadas; ojos poco diferenciados, estilete, casi del largo del cuerpo. Patas bien desarrolladas con segmentación poco evidente, segmentos tarsales con una uña poco desarrollada. Paquetes alares no visibles. Abdomen bien definido con segmentación poco evidente, círculo de poros anales externo poco diferenciados. Margen del cuerpo cubierto por una hilera de setas truncadas (Marín *et al.*, 1995; citados por Kikushima, 2005).

Segundo instar: Las divisiones entre cabeza, tórax y abdomen son evidentes. Dos sencillas placoides y dos setas sensoras. El clipeo, labro y estilete se encuentran diferenciados; hay presencia de ojos. Tórax con paquetes alares desarrollados, patas diferenciadas. Abdomen, con segmentación poco marcada, con los espiráculos de los primeros segmentos diferenciados, hay

⁷http://www.conpapa.org.mx/portal/pdf/sistema/cfito_cockerelli.pdf

presencia de círculos de poros anales externo e interno, así como el orificio anal. El margen del cuerpo es igual al estadio anterior (Marín *et al.*, 1995; citados por Kikushima, 2005).

Tercer instar: Cabeza con antenas con tres sencillas placoides diferenciadas y setas sensoras. Abdomen con los cuatro primeros pares de espiráculos diferenciados, así como los círculos de poros anales y el ano (Marín *et al.*, 1995; citados por Kikushima, 2005).

Cuarto instar: Cabeza con antenas con una sencilla más que en el estadio anterior, la antena se estrecha visiblemente hacia su parte media, de ahí en adelante es más angosta, con dos setas sensoras en su parte terminal; en ojos se hacen evidentes las omatidias. Tórax con patas segmentadas y un par de uñas visibles. Abdomen, la constricción entre tórax y abdomen es más notoria (Marín *et al.*, 1995; citados por Kikushima, 2005).

Quinto instar: Cabeza con antenas engrosadas en su base, reduciéndose sucesivamente hacia su parte terminal; en éstas se encuentran dos setas sensoras insertadas a diferentes niveles, la apical más gruesa y larga que la precedente; cuatro sencillas placoides diferenciadas. Tórax; paquetes alares anteriores presentan los ángulos humerales proyectados hacia la parte anterior del cuerpo, patas perfectamente desarrolladas con un solo tarso y un par de uñas (Marín *et al.*, 1995; citados por Kikushima, 2005).

3.2.10.3. Adulto

En 1914 Crawford realizó un estudio referente a la estructura externa de *Paratrioza cockerelli*, donde indicó que el adulto mide 1.4 mm de longitud, es de color café y presenta una banda de color blanco en la cabeza y tórax, las antenas miden de 0.52 a 0.70 mm de largo y presentan un órgano sensitivo en el cuarto segmento (Avilés *et al.*, 2002). Son alados y de apariencia totalmente diferente a las ninfas, tienen el aspecto de una cigarra pequeña, posee dos pares de

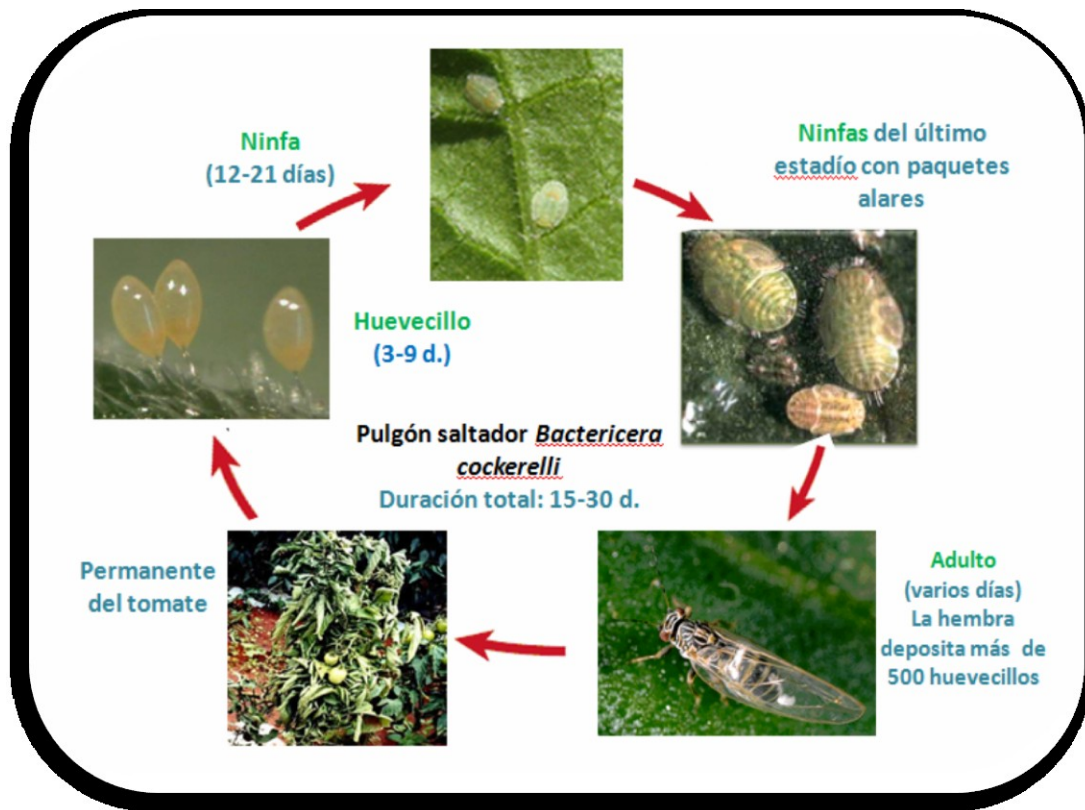
alas transparentes y son aproximadamente 1.5 veces más largos que el cuerpo y venación propia de la familia, la coloración del cuerpo es ámbar tendiendo a un café oscuro, la cabeza con una mancha café que marca la división con el tórax, ojos grandes de color café y antenas filiformes segmentadas en dos tonos de color. El tórax es blanco-amarillento con manchas café bien definidas (Figura 9). El abdomen de la hembra presenta cinco segmentos visibles más el segmento genital que es de forma cónica en vista lateral y en la parte terminal del abdomen. Los machos presentan seis segmentos visibles más el genital, este último segmento se encuentra plegado sobre la parte media dorsal del abdomen, al ver este insecto dorsalmente se distinguen las valvas genitales con estructura en forma de pinzas que son propios de este sexo. Los adultos no causan daños a los cultivos hospedantes (Ferguson *et al.*, 2001). Se cree que este insecto puede tener hasta 10 generaciones por año (Pletsch, 1947; Wallis, 1955; citados por Kikushima, 2005).

Una hembra madura puede poner más de 500 huevos durante un promedio de puesta de huevos plazo de 21 días.



⁸Figura 9. Adulto

⁸http://www.faunistik.net/DETINVERT/STERNORHYNCHA/PSYLLINA/IMAGES/paratrioza.cockerelli_ad01.gif



⁹Figura 10. Elaboración propia del ciclo biológico de *Bactericera cockerelli* con información basada en Marín *et al.*, 1995; citados por Kikushima, 2005.

⁹http://www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/id/ParatriozaPests_BCS

3.2.11. Manejo

Cuadro 2. Manejo Químico

INGREDIENTE ACTIVO	NOMBRE(S) COMERCIAL (ES)	GRUPO QUÍMICO	CAT. TOX	DOSIS/HA	ESTADO BIOLÓGICO CONTROLADO
Endosulfan	Thiodan, Algodan	Ciclodienos	II	1.5-2.0 l	Ninfa
Ometoato	Folimat	Fosforados	II	600-900 ml	Adulto y ninfa
Metamidofos	Tamaron, Maton, Tramofos	Fosforados	II	1.0-1.5 l	Adulto y ninfa
Esfenvalerato	Halmark	Piretroides	III	500 ml	Adulto y ninfa
Fenpropratin	Herald, Platino	Piretroides	II	400-500 ml	Adulto y ninfa
Bifentrina	Talstar	Piretroides	III	400-600 ml	Adulto y ninfa
Bifentrina + abamectina	Talstar extra	Piretroides + avermectinas	III	1.5-2.0 l	Adulto y ninfa
Cyflutrin	Baytroid	Piretroides	IV	500-750 ml	Adulto y ninfa
Imidacloprid + cyflutrin	Leverage	Cloronicotinoides + piretroides	III	250-300 ml	Adulto y ninfa
Acetamiprid	Rescate	Cloronicotinoides	IV	250-375 g	Adulto y ninfa
Thiacloprid	Calipso	Cloronicotinoides	III	200-250 ml	Adulto y ninfa
Clothianidin	Cluth	Cloronicotinoides	IV	150-200 g	Adulto y ninfa
Clorpirifos etil	Knocker, Lorsban, Magnum	Fosforados	III	1.0-1.5 l	Adulto, ninfas de 3er. y 4to. Estadio y huevecillo
Abamectina	Agrimec, Instar	Avermectinas	III	0.3-1.2 l	Adulto y ninfa
Amitraz	Acaroff. Mitoff	Triazapentadienos	IV	1.0-1.5 l	Huevecillo y ninfa
Pyriproxifen	Knack	Regulador de crecimiento	IV	0.3-0.5 l	Huevecillo y ninfa
Flufenoxuron	Cascade	Regulador de crecimiento	IV	0.5 l	Huevecillo y ninfa
Spiromesifen	Oberon	Regulador de crecimiento	IV	0.5 l	Huevecillo y ninfa
Flonicamid	Beleaf	Pyridinecarboxamides	IV	150 g	Adulto y ninfa
Extracto de ajo	Bio Crack	Alomonas	IV	1.0 - 3.0 l	Adulto y ninfa
Azadiractina (NEEM)	Aza – Direct	Alomonas	IV	1.0 - 3.0 l	Adulto y ninfa

Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de México (CESAVEM).

3.2.11.2. Manejo biológico

Se ha llevado a cabo un gran número de investigaciones en los últimos años en torno al control de ésta plaga, tanto en laboratorio como en invernadero y campo, para diseñar la estrategia de manejo de este insecto vector. Donde se ha probado el control biológico natural e inducido, desde años atrás existen reportes sobre la presencia de enemigos naturales como Eulophidae, *Tetrastichus* sp., que después fue descrito por B. D. Buurks como *T. triozae* (Pletsch, 1947; citado por Garzón, 2002^a). Otras especies son: *Metaphycus psyllidus*, *Hipodamia convergens*, *H. americana*, *H. lecontei*, *H. quinquesignata*, *H. tredecimpunctata*, *Chrysopa* spp., *Nabis ferus*, *Geocoris decoratus*, *Anthocoris melanocerus*, *Deraeocoris brevis*, *Orius tristicolor*. También existen reportes del uso de hongos entomopatógenos que influyen en la mortalidad y hábitos alimenticios de *Paratrioza cockerelli* (Garzón, 2002^a).

3.2.11.3. Manejo cultural

Es importante evitar en lo posible sembrar cerca de los terrenos cultivados con papa en el ciclo anterior, porque normalmente quedan muchos tubérculos pequeños o dañados que dan origen a plantas que sirven de hospederos a los primeros migrantes, ayudando así al establecimiento y desarrollo de la población, en caso de no ser posible, tratar de eliminar dichas plantas antes de que inicien las migraciones (Franco, 2005).

La preparación oportuna y adecuada del terreno ayuda a mantener el campo a sembrar libre de malezas que pudieran hospedar a la plaga. Por otra parte, la limpieza del campo y su periferia es necesaria ya que la maleza entre las plantas de papa además de competir por luz y nutrientes dificulta la penetración de las aplicaciones. La maleza en la periferia y caminos del campo son

hospederos de éste insecto, ya que frecuentemente no se realizan aplicaciones en dicha área (Franco, 2005).

3.2.12. Muestreo

No existe un plan de muestreo bien elaborado para este insecto. No obstante, en el Bajío se recomienda inspeccionar plantas de tomate para detectar huevecillos y marcar 10 de ellas, con el propósito de predecir y determinar el momento oportuno de aplicación de insecticidas contra ninfas de 1er y 3er instares. También se indica la necesidad de continuar con muestreos semanales enfocándose a la presencia de huevecillos y ninfas para evaluar la eficiencia de las aplicaciones de insecticidas (Garzón *et al.*, 1992). En California se recomienda el uso de redes entomológicas para la detección y captura de adultos. Se sugiere efectuar al menos 100 golpes de red por predio para evaluar las poblaciones de adultos. En California se recomienda la utilización de trampas amarillas con glicol etileno para la captura de adultos. Las trampas amarillas pegajosas recomendadas para el monitoreo de adultos de la MBHP pueden utilizarse para el monitoreo de adultos del psílido del tomate. El monitoreo de adultos con trampas amarillas se ha utilizado rutinariamente para el psílido del tomate desde 1997, en la Comarca Lagunera. Las trampas amarillas deben ser colocadas a la altura de la terminal de la planta y orientadas de tal manera que reciban luz directa (Al-Jabr, 1999).

3.3. Técnicas moleculares

3.3.1. Ácido desoxirribunucleico (ADN).

La purificación del ADN implica el rompimiento de la estructura que lo contiene, la separación de las proteínas, las membranas y las sales (Balbás, 2002).

3.3.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

El método se basa, en su forma más simple en la realización de tres reacciones sucesivas llevadas a cabo a distintas temperaturas. Estas reacciones se repiten cíclicamente entre veinte y cuarenta veces (Satz y Kornblihtt, 1993), la mezcla es calentada de 92° a 94° C, hasta lograr la separación de las dos cadenas que constituyen al ADN, hecho que se conoce como "desnaturalización". En el segundo paso, la temperatura se reduce para permitir el "apareamiento" de cada una de las dos cadenas cortas de nucleótidos, con cada una de las hebras separadas del ADN molde (Alberts *et al.*, 2002).

3.3.3. Secuenciación.

Se han descrito dos potentes métodos de secuenciación del ADN, rápidos y seguros: el método químico, y el método enzimático (Alberts *et al.*, 2002). Ambos descansan en el principio teórico de la generación de fragmentos de diferentes tamaños según la posición de cada nucleótido en la cadena del ADN, marcados con radiactividad o sustratos cromogénicos específicos (Balbás, 2002). El método enzimático, basado en la síntesis *in vitro* de ADN en presencia de nucleósidos trifosfatos terminadores de cadena, se ha convertido en el método más común para secuenciar el ADN (Alberts *et al.*, 2002).

3.3.4. Electroforesis

El término electroforesis se usa para describir la migración de una partícula cargada bajo la influencia de un campo eléctrico. Muchas moléculas importantes biológicamente (aminoácidos, péptidos, proteínas, nucleótidos, ácidos nucleicos) poseen grupos ionizables y existen en solución como especies cargadas, bien como cationes, o bien como aniones. Estas especies cargadas se van a separar en función de su carga cuando se aplica un voltaje a través de los

electrodos. Existen muchos tipos de electroforesis, que se engloban en dos categorías fundamentales: Electroforesis de frente móvil y Electroforesis de zona. Actualmente, sólo se utiliza la electroforesis de zona, en la cual la muestra se desplaza sobre un soporte sólido, como papel de filtro, celulosa o gel (agarosa, acrilamida...) y los componentes de la muestra migran en forma de pequeñas bandas, también llamadas zonas (Padilla *et. al.*, 2005).

La electroforesis en gel es una técnica muy utilizada para separar moléculas o fragmentos de moléculas de ácidos nucleicos. Los materiales más comunes para separar moléculas de ácidos nucleicos son polímeros como la poliacrilamida o la agarosa. Estos geles se colocan en la cubeta de electroforesis, sumergidos en un tampón de pH alrededor de 8. De esta forma, las moléculas de DNA o RNA sometidas a electroforesis se desplazarán al polo positivo ya que a pH superiores a 5 poseen carga negativa. Los geles se comportan como un tamiz molecular y permiten separar moléculas cargadas en función de su tamaño y forma. Así, moléculas de DNA de diferente tamaño, van a emigrar de forma distinta en un gel de electroforesis. La distancia recorrida por cada fragmento de DNA va a ser inversamente proporcional al logaritmo de su peso molecular. Es importante la utilización de marcadores de tamaño conocido porque nos permitirán calcular los pesos moleculares de las muestras de DNA problema (Padilla *et. al.*, 2005).

En el caso de los geles de agarosa, se le añade bromuro de etidio, sustancia que se intercala entre las bases del DNA y es fluorescente cuando se ilumina con luz ultravioleta. Tras la electroforesis, se visualiza el gel con una lámpara de luz UV, y se verán las bandas correspondientes a las muestras de DNA aplicado y los marcadores de peso molecular (Padilla *et. al.*, 2005).

3.3.4.1. Electroforesis desnaturalizante

La electroforesis en geles de poliacrilamida es uno de los métodos más utilizados para la purificación, análisis y caracterización de proteínas. La técnica permite separar moléculas cargadas y explota diferencias en movilidad cuando se les somete a la acción de un campo eléctrico. La electroforesis se lleva a cabo sobre un soporte inerte, generalmente sobre geles de poliacrilamida (PAGE). En la electroforesis desnaturalizante (SDS-PAGE), como su propio nombre indica, se utilizan agentes desnaturalizantes de proteínas, como pueden ser: detergentes (p.e. SDS), caótopos (p.e. urea) y agentes reductores (2- mercaptoetanol, DTT). Para la visualización de las proteínas se utilizan diferentes métodos de tinción, siendo el más habitual el azul de coomassie. En la SDS-PAGE, la separación es función del tamaño (masa molecular), lo que permite determinar el peso molecular de las proteínas. Para ello se compara la movilidad electroforética (R_f) de la proteína de peso molecular desconocido con el de proteínas de referencia de peso molecular conocido. En esta práctica, en la que se pretende que el alumno comprenda el fundamento teórico de esta técnica y sus aplicaciones, se llevará a cabo la separación de proteínas de hojas de *A. thaliana* mediante SDS-PAGE (Maldonado, 2009).

IV MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Material biológico

Se llevó a cabo la colecta de insectos de *Bactericera cockerelli* (Sulc) en cinco estados de la República Mexicana: Coatepec Harinas, Estado de México; Yurécuaro, Michoacán; Morelos; Villa de Arista, San Luis Potosí y Fresnillo, Zacatecas.

4.2. Extracción de ADN

Se utilizaron insectos adultos de *Bactericera cockerelli* (Sulc) preservados en alcohol al 70 %, provenientes de los cinco estados de México, antes mencionados.

Se colocó el insecto de *B. cockerelli* en una caja de Petri, se lavó 4 veces con agua destilada estéril, se le agregaron 50 µl de agua desionizada y libre de nucleasas. Por último, se maceró el insecto en un mortero previamente estéril y se extrajo el resultado de la maceración para ser depositado a un tubo de microcentrífuga.

4.3. Calidad del ADN

De la molienda del insecto, se verificó la calidad del ADN por medio de electroforesis, en un gel de agarosa al 1%.

Se midieron 20 ml de solución buffer TBE 1X (anexo 1), se le agregaron 0.3 g de agarosa y se calentó la mezcla en un matraz hasta disolver la agarosa. Se dejó enfriar y se agregó Bromuro de Etidio (95%). La mezcla se vertió en una cámara de electroforesis. La cámara se llenó con solución buffer de corrida TBE 1X. El ADN se colocó en los pozos, a razón de 8 µl de ADN y 2 µl de buffer de carga Promega®. El gel se sometió a 20 volts durante 20 minutos y después a 80

volts por 1 h. Pasado el tiempo se observó el gel en un fotodocumentador (Bio-Imaging Systems Mini Bis Pro).

4.4. Amplificación mediante PCR.

La amplificación molecular se realizó empleando iniciadores específicos para analizar la sección ITS4 del gen 28S rRNA, con los iniciadores específicos ITS4 F (5'- GCG AGG ACT CAG TTT CGT GT-3') e ITS5 R (5'-AGA GCT CGA CTC GGA TTG TC -3'), sugeridos por Hansen *et al.* (2008), los cuales generan un producto de amplificación para *Bactericera cockerelli*.

La amplificación se realizó en un volumen total de 25 μ L., conteniendo Buffer 1 X, Iniciador ITS4 0.2 mM, Iniciador ITS5 0.2 mM, $MgCl_2$ 25 μ M, Taq Polimerasa 1U, dNTP's 250 μ M, agua libre de nucleasas y 2 ng de ADN. Las condiciones de amplificación se procesaron en un Termociclador (Thermal Cycler 2720 *Applied Biosystems*) bajo el siguiente programa: Desnaturalización inicial a 95°C durante 9 minutos. Seguido de 35 ciclos de 94°C durante 1 minuto, 50°C durante 30 segundos, 72°C durante 1 minuto, con una extensión final de 72°C durante 7 minutos, el ADN se conservó a 4°C.

4.5. Purificación del producto de PCR

La purificación se efectuó utilizando el producto comercial WIZARD SV GEL Y PCR CLEAN-UP SYSTEM®.

Con ayuda de una lámpara de luz ultravioleta y un bisturí, se cortó el gel donde se encontraba el fragmento de ADN amplificado y se colocó en un tubo Eppendorf. A dicho tubo se le agregarán 10 μ L de solución Binding por cada 10 mg de gel. Se agitó y se incubará a 50-65 °C hasta que el gel se disolvió. Se insertó una minicolumna en un tubo colector, se transfirió la mezcla del gel

disuelto y se incubó a temperatura ambiente por 1 minuto. Se centrifugó a 16, 000 x g durante 1 minuto. El filtrado se descartó y se reinsertó la minicolumna en el tubo colector. Se adicionaron 700 μ L de solución de lavado (etanol adicionado). Se centrifugó a 16,000 x g por 1 minuto. Se descartó el filtrado y se reinsertó la minicolumna en el tubo colector. Se repitió el paso anterior pero ahora con 500 μ l de solución de lavado y se centrifugó a 16, 000 x g por 5 minutos. Se vació el tubo colector y la minicolumna se centrifugó por 1 minuto, se descartaron por evaporación todos los residuos de etanol. Se transfirió la minicolumna a un tubo de microcentrífuga y se agregaron 50 μ l de agua libre de nucleasas. Se incubó a temperatura ambiente por 1 minuto y se centrifugó a 16, 000 x g por 1 minuto. La minicolumna se descartó, el ADN se almacenó a -20°C .

Posteriormente el ADN purificado se corrió en un gel de agarosa al 1.5%. Cada pozo se cargó con 8 μ L de ADN más 2 μ L Buffer y se utilizó un marcador molecular de 100pb Promega®. Se utilizó el método anterior para llevar a cabo la electroforesis.

4.6. Secuenciación

Las muestras fueron secuenciadas en el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México usando un secuenciador: Genetic Analyzer 3100 (Applied Biosystem Corp).

4.7. Producto de PCR en gel de acrilamida al 8%.

El producto de PCR fue analizado en gel de acrilamida de la siguiente manera. Se midieron 11 ml de solución buffer TBE 10 X (anexo 2), se le agregaron 22 ml de acrilamida, 77 ml de agua, 400 μ l de APS y 80 μ l de Temed. La mezcla se vertió en una cámara de electroforesis vertical y

se llenó con solución buffer de corrida TBE 1X. El producto de PCR se colocó en los pozos, a razón de 2 μ l de ADN y 2 μ l de buffer de carga Promega®. El gel se sometió a 245 volts durante 2 horas. Al concluir el tiempo, el gel se sometió a la solución fijadora durante 15 minutos, a la solución de tinción durante 15 minutos y a la solución de revelado durante 5-15 minutos, aproximadamente (anexo 3). Pasado el tiempo se observó el gel en un fotodocumentador (Bio-Imaging Systems Mini Bis Pro).

4.8. Producto de PCR en gel de acrilamida desnaturalizante al 8%.

El producto de PCR fue analizado en gel de acrilamida (8%), sometiendo el producto de PCR a 95°C durante 3 minutos. A 175 ml de agua desinizada se le agregó: acrilamida (8%), Urea (8 M), solución buffer TBE 10 X (anexo 2), y 182 μ l de Temed. La mezcla se ajustó con agua desinizada a un volumen de 250 ml y se filtró la solución con un filtro de nitrocelulosa. Se vertió en una cámara de electroforesis vertical y se llenó con solución buffer de corrida TBE 1X. El producto de PCR se colocó en los pozos, a razón de 2 μ l de PCR. El gel se sometió a 245 volts durante 3 horas y media. Al concluir el tiempo, el gel se sometió a la solución fijadora durante 15 minutos, a la solución de tinción durante 15 minutos y a la solución de revelado durante 5-15 minutos, aproximadamente (anexo 3). Pasado el tiempo se observó el gel en un fotodocumentador (Bio-Imaging Systems Mini Bis Pro).

V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis de PCR

5.1.1. Visualización del producto de ADN

En la presente investigación se implementó un método rápido de obtención de DNA de *B. cockerelli*. Dicho método rápido permitió obtener DNA, de buena calidad para realizar la prueba de PCR. (Figura 11).

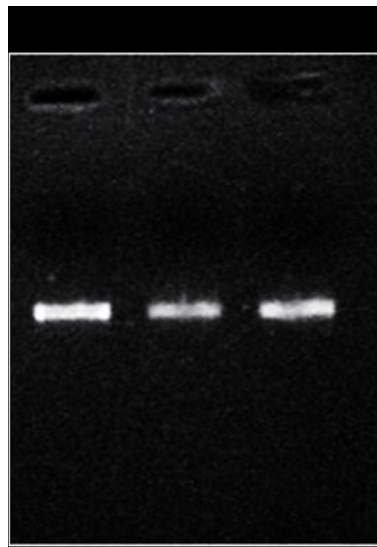


Figura 11. Obtención de ADN de *B. cockerelli* mediante el método directo. Carril 1, 2 y 3.

Con el método de obtención directo de ADN se logró identificar a *B. cockerelli*. Las ventajas que tiene usar este método en comparación con los métodos de extracción de DNA convencionales, usando protocolos establecidos se debe a que es rápido (menos de 24 horas) y económico, debido al ahorro de reactivos. Además del tiempo que se emplea.

5.1.2. Visualización del producto de PCR

Los iniciadores que se usaron son específicos para *Bactericera cockerelli* Sulc. Dichos

iniciadores permitieron la obtención de un producto de PCR bien definido, es decir, se observa un fragmento sencillo de la región ITS4 del rDNA. El tamaño de los fragmentos o bandas para cada especie fueron fácilmente identificables, ya que son aproximadamente de 441pb (Fig. 12). Lo cual coincide con lo reportado por Hansen *et al.* (2008).

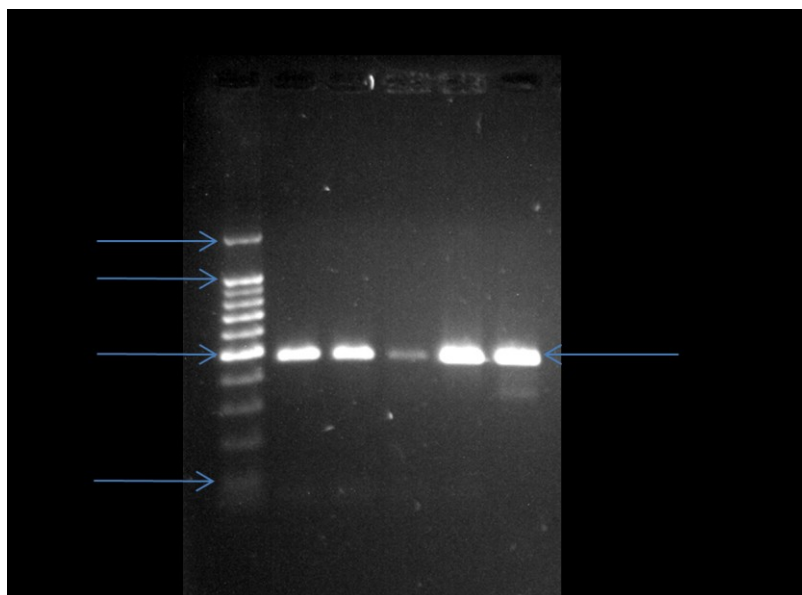


Figura 12. Producto de PCR en gel de agarosa al 1.5%. Carriles: **1.** Marcador de peso molecular 100pb; **2.** Positivo de *B. cockerelli* del Estado de México; **3.** Positivo de *B. cockerelli* de Michoacán; **4.** Positivo de *B. cockerelli* de Morelos; **5.** Positivo de *B. cockerelli* de S.L.P.; **6.** Positivo de *B. cockerelli* de Zacatecas.

5.1.3. Purificación del producto de PCR

El resultado de la purificación se observó en un gel de agarosa al 1.5 %, utilizando un marcador molecular de 100pb. Usando un Fotodocumentador Bio-imaging Systems MiniBisPro (Fig. 13).

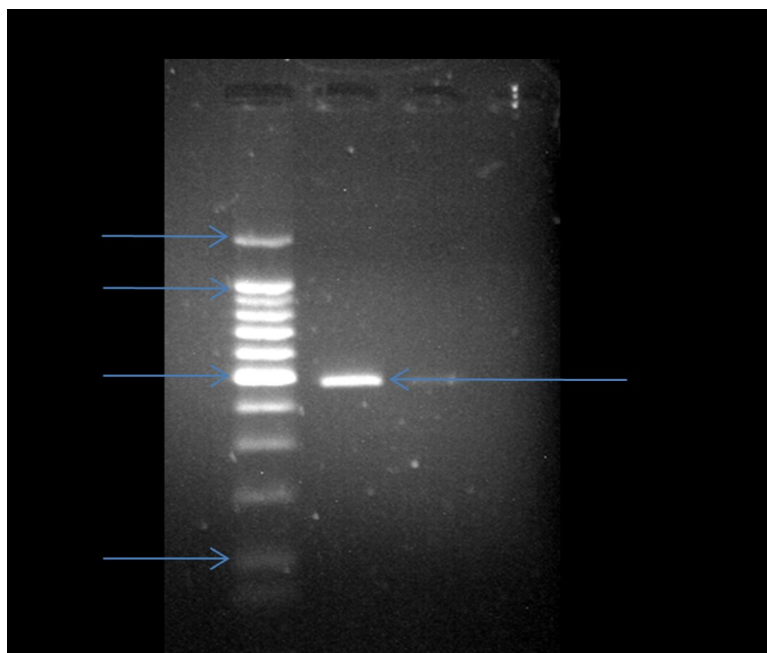


Figura 13. Amplificación del producto de PCR de *B. cockerelli*. Carriles: **1.** Marcador molecular de 100 pb; **2, 3.** Producto de PCR de *B. cockerelli*, **4.** Testigo negativo.

5.1.4. Secuenciación de nucleótidos

La identidad del organismo se confirmó mediante la alineación de la secuencia de nucleótidos. La cual mostró un 100% de similaridad (Cuadro 3). Esto se llevó a cabo para corroborar que efectivamente se trabajó con el organismo de interés correcto, basados en Hansen *et al.* (2008).

Cuadro 3. Secuencia de nucleótidos del fragmento de PCR de *B. cockerelli*, amplificando la sección ITS4 del rDNA específico.

```
GGGTCGGTCGTTTCCGTTGGTCACGCGACCAGCGTTGCGTCTTCGGGCGTGATGTTGAT
TCGTGTGCGCCACGGCGGCCGTCCGGGCTATGTTTCATCCGGCCGGACCGATTTTCCTCG
CCGCAGTGGAACGTCGCGACTCGCTGGGAAGCGGTCTACGCGGTCCGGGTGGAGCTCG
GTTTTGACGGGTCCCCGGGAGGGGAGCGCCCTGACTAGCCGAACCCGGGCCAGCTGG
CCGGAGTCCCGGCGGTAGTTGAACGCACGTGGTTTGGATACGCTCTCCTGTGTGGGGCG
TGCCGAGTCGGCGGATGGTATTTCTCGCGTCGGCTGGGTTTGACGGTCTCTCGATCGTCT
TCCCGGTCGGGTGACGGGGGCCGTTTCGTCGGCGTCCGATGGCGCCGTATCCCGAACCA
GTCTGCGACGACAATCCGAGTCGAGCTCTA
```

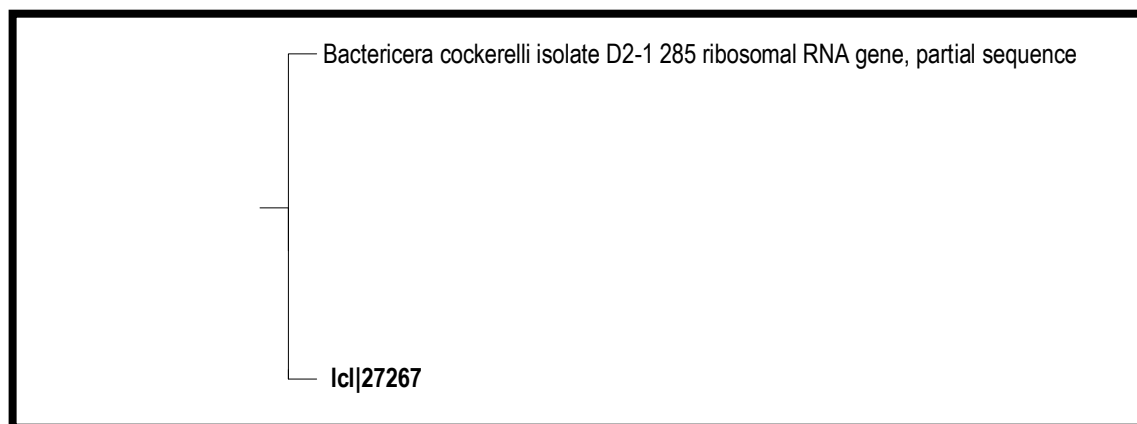


Figura 14. El árbol filogenético muestra la relación entre las especies de *B. cockerelli*. El árbol fue construido basado en los fragmentos amplificados del ITS4 del rRNA, usando el algoritmo **NJ** (Neighbor-Joining).

5.1.5. Visualización del producto amplificado en gel de acrilamida al 8%

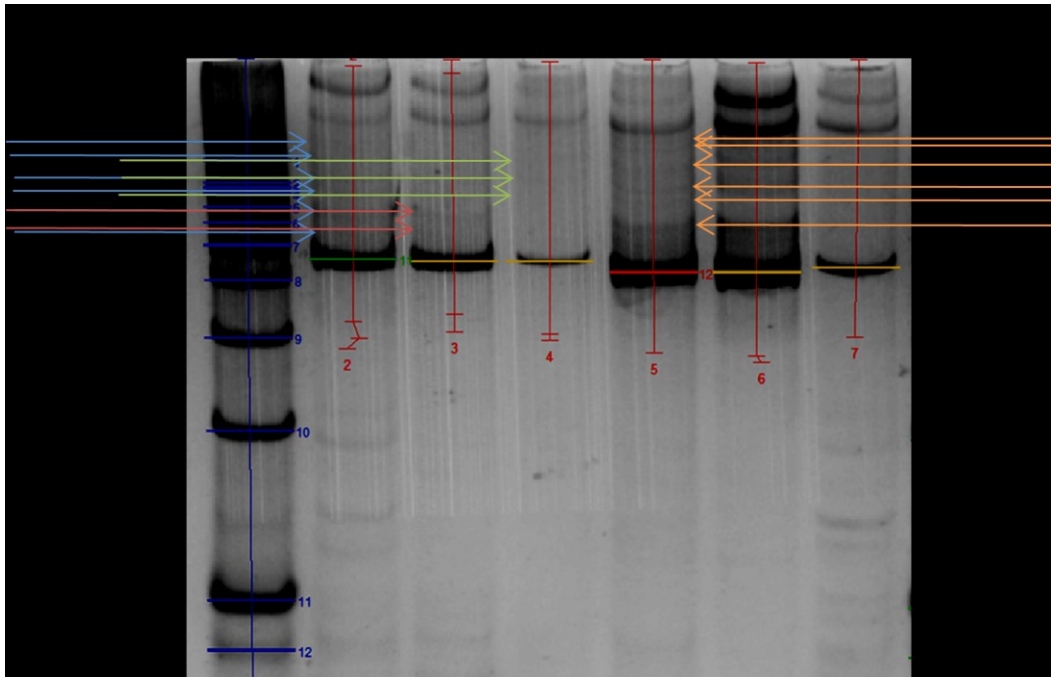


Figura 15. Producto de PCR en gel de acrilamida al 8%. Carriles: 1. Marcador de peso molecular 100pb; 2. Positivo de *B. cockerelli* del Estado de México; 3. Positivo de *B. cockerelli* de Michoacán; 4. Positivo de *B. cockerelli* de Morelos; 5. Positivo de *B. cockerelli* de S.L.P.; 6. Positivo de *B. cockerelli* de S.L.P.; 7. Positivo de *B. cockerelli* de Zacatecas.

5.1.6. Visualización del producto amplificado en gel de acrilamida al 8%.

En la imagen se aprecian bandas en ciertas regiones por lo que se observa que existe diferencia en las bandas, al menos, en los insectos provenientes del Estado de México, San Luis Potosí y Zacatecas, con respecto a los otros organismos y entre ellos.

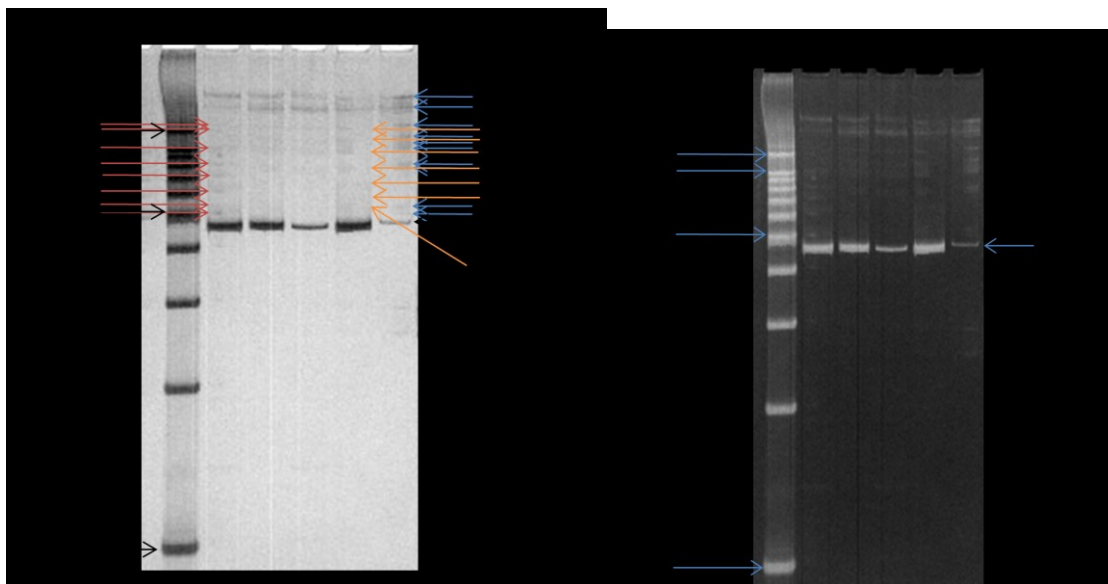


Figura 16. Producto de PCR en gel de acrilamida al 8%. Carriles: **1.** Marcador de peso molecular 100pb; **2.** Positivo de *B. cockerelli* del Estado de México; **3.** Positivo de *B. cockerelli* de Michoacán; **4.** Positivo de *B. cockerelli* de Morelos; **5.** Positivo de *B. cockerelli* de S.L.P.; **6.** Positivo de *B. cockerelli* de Zacatecas.

5.1.7. Visualización del producto de PCR en gel de acrilamida desnaturizante al 8%

En la imagen se perciben bandas que no están bien definidas pero se pueden apreciar diferencias en el número y posición de bandas en los insectos provenientes del Estado de México, Michoacán, Morelos y San Luis Potosí, con respecto a los provenientes de Zacatecas y entre ellos mismos.

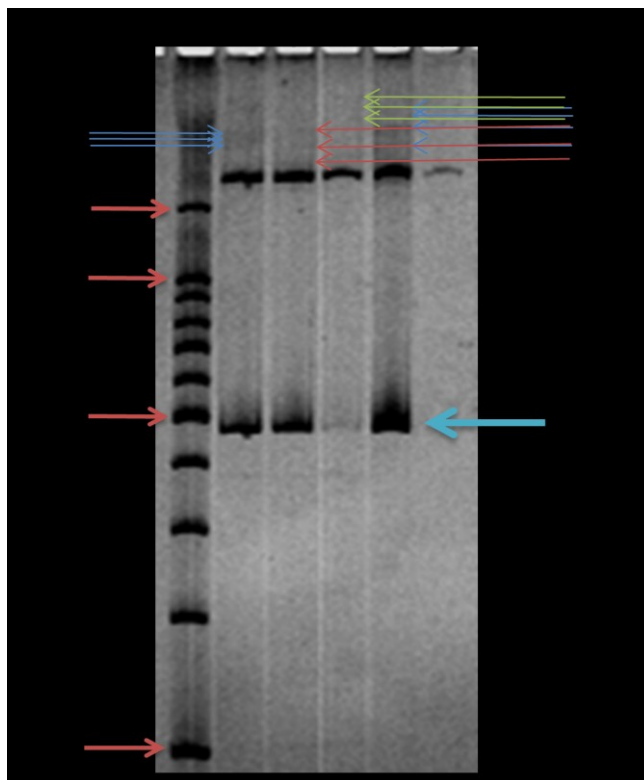


Figura 17. Producto de PCR en gel de acrilamida desnaturalizante al 8%. Carriles: **1.** Marcador de peso molecular 100pb; **2.** Positivo de *B. cockerelli* del Estado de México; **3.** Positivo de *B. cockerelli* de Michoacán; **4.** Positivo de *B. cockerelli* de Morelos; **5.** Positivo de *B. cockerelli* de S.L.P.; **6.** Positivo de *B. cockerelli* de Zacatecas.

VI CONCLUSIONES

La amplificación molecular con los iniciadores específicos para *Bactericera cockerelli* Sulc. ITS4 e ITS5, permitió obtener los resultados esperados, ya que amplifico un fragmento de 441 pb (Figura 13), lo cual coincide con lo reportado por Hansen *et al.* (2008).

El diagnóstico de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) mediante PCR, amplificando la región ITS4 del rDNA, permitió observar que existen diferencias genéticas entre individuos de la misma especie, pero de diferentes estados de México, mediante la aparición de otras bandas en al menos tres de los cinco estados.

La separación de los productos amplificados de la técnica en geles de poliacrilamida dio mejores resultados que en geles de agarosa, por lo que se recomienda realizarlos en este tipo de trabajos.

En cinco estados de México, pueden existir biotipos de *Bactericera cockerelli* Sulc. A esto podemos atribuir que el grado de agresividad o daño se debe a la preferencia de ataque a los cultivos de: chile, papa, tomate, y algunas solanáceas silvestres. Todos ellos pertenecientes a la familia de las Solanáceas. Por lo tanto la alimentación varía y mientras unos transmiten bacterias otros transmiten alguno de los tres grupos de fitoplasma reportados en México.

V Citas bibliográficas

Avilés, G. M. C., Domínguez, A. F., Wong, P. J. J., Pérez, V. J. J., Velarde, F. S. 2005. Control químico del Psilido del tomate *Bactericera cockerelli* Sulc, en el cultivo de chile Bell, en La Cruz de Elota, Sinaloa. Segunda convención mundial del Chile 2005. Pp. 38.

Balbas, P. 2002. De la biología molecular a la Biotecnología. Trillas. México. pp. 5

Castaños, C. M. 2000. Horticultura manejo simplificado. Primera reimpresión. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp 1.

De La Cruz, T. J. 2001. Chile Habanero Características y Tecnología de Producción. Ed. del Centro de Investigación Regional del Sureste. 74 p.

Delgadillo S., F., E. Cárdenas S., G. Valdovinos., R. García Q., D. Nieto A., y J.A. Garzón T. 1999. Alteraciones histológicas causadas por fitoplasma asociado al "Permanente" del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Guanajuato. Resumen del Cong. Nal. de Fitopatología p. 320.

Domínguez, R. R. 2000. Taxonomía I. Protura a Homóptera. Claves y Diagnósis. Notas del Curso de Taxonomía de Insectos. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp 226-269.

Ferguson, G.; Bancos, E.; Fraser, H. 2001. Papa psila - Una nueva plaga en el invernadero de tomates y pimientos. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Ontario, Canadá.

Franco, P. M. A. 2005. Efectividad biológica de thiamethoxam para el control de pulgón verde (*Myzus persicae* Sulzer) y pulgón saltador (*Paratrioza cockerelli* Sulc.) en Chile, en Salvatierra, Guanajuato. Tesis de Licenciatura del Departamento de Fitotécnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. pp 14.

Garzón T., J. A., A. Becerra F., A. Marín J., C. Mejía A. y K. F. Byerly M. 1992. Manejo integrado de la enfermedad "permanente" del tomate, *Lycopersicon lycopersicum* (L) Karst, en El Bajío. En:

Urías-M., C., Rodríguez-M., R. y Alejandre-A., T. (de.). Afidos como vectores de virus en México, contribución a la ecología y control de áfidos en México. Volumen Y. Centro de Fitopatología, C. P. pp. 116-129.

Garzón T., J.A., C.A. Garza y R. Bujanos M. 1986. Determinación del insecto vector de la enfermedad del “permanente de tomate” (*Lycopersicon esculentum* Mill) en la región del Bajío. XIII Cong. Nal. de Fitopatología. SMF. Tuxtla Gutierrez, Chis. P. 30.

Garzón, T. J. A. 2002^a. *Paratrioza cockerelli* Sulc. y su relación con enfermedades en papa (*Solanum tuberosum*) y tomate (*Lycopersicon lycopersicum* Mill.). Ex Fawnl, en México. In: J.Z. Castellanos y F. Guerra O Hart. Memorias del XI Congreso Nacional de Productores de papa León, Guanajuato, México. pp. 58-75.

González, I. A. 1991. El jitomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) aspectos relevantes para su cultivo en México. Tesis de Licenciatura del Departamento de Fitotécnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. pp 19.

A. K. Hansen,* J. T. Trumble, R. Stouthamer, and T. D. Paine. 2008. A New Huanglongbing Species, “*Candidatus Liberibacter psyllaurous*,” Found To Infect Tomato and Potato, Is Vectored by the Psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Department of Entomology, University of California, Riverside, Riverside, California. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Sept. 2008, p. 5862–5865 Vol. 74, No. 18

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1992. El sector alimentario de México. México.

Kikushima, T. J. M. 2005. El Psílido del tomate *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (= *Paratrioza cockerelli*) una nueva plaga de Importancia económica en el Norte de Sinaloa. Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, Estado de Mexico. Universidad Autónoma de Chapingo. Pág.: 1-3.

López F. C. I. 2002. Estudios sobre el Psílido de la papa (*Paratrioza cockerelli*) en la región del bajío. In Memoria del XI Congreso Nacional de Papa. Pp.: 98-109.

Liu, D. and J. T. Trumble. 2007. Comparative fitness of invasive and native populations of the potato psyllid (*Bactericera cockerelli*). Entomologica Experimentalis et applicata 123:35-42.

Liu, D., L. Johnson, and J.T. Trumble. 2006. Differential responses to feeding by the tomato/potato psyllid between two tomato cultivars and their implications in establishment of injury levels and potential of damaged plant recovery. Insect Science 13: 195-204.

Liu, D. and J.T. Trumble. 2006. Ovipositional preferences, damage thresholds and detection of the tomato / potato psyllid (*Bactericera cockerelli* [Sulc]) on selected tomato acesions. Bulletin of Entomological Research. 96:197-204.

Liu, D., J.T. Trumble and R. Stouthamer. 2006. Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western North America. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 118: 177-183.

Liu, D. and J.T. Trumble. 2005. Interactions of plant resistance and insecticides on the development and survival of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae). *Crop Protection* 24: 111-117.

Maldonado A. A. M. y Jorrín N., J. V. 2009. Electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida. Análisis de proteínas de hojas de *Arabidopsis thaliana*. *Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Severo Ochoa, 14071-Córdoba*. <http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biol-mol/pdfs/16%20ELECTROFORESIS%20GELES%20PAA.pdf> Consulta 22 de agosto de 2009.

Mendoza Z. C. 1999. Enfermedades fungosas de hortalizas. Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, Estado de Mexico. Universidad Autónoma de Chapingo.

Padilla, C.A.P.; Diez, J.D.; Martínez, E.G.; Bárcena J.A.R.; García, C.A. 2005. Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico. *Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Severo Ochoa, 14071-Córdoba*

Peralta, I.E. and D.M. Spooner. 2007. History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae). pp 1-27. In: Genetic Improvement of Solanaceous Crops, Vol. 2: Tomato. M.K. Razdan and A.K. Mattoo (eds.), Science Publishers, Enfield, USA.

Peralta I.E. and D.M. Spooner. 2001. Granule-bound starch synthase (GBSSI) gene phylogeny of wild tomatoes (*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst. subsection *Lycopersicon*). *American Journal of Botany*. 2001;88:1888-1902.

Rueda B, Ma. C. 2002 Estandarización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de las bacterias cuarentenadas *Xylella fastidiosa* Wills *et al* y *Ralstonia solanacearum* r3. Tesis de licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. Pp.5-32

Satz M, L. y Kornblihtt A. R. 1993. La Reacción en Cadena de la Polimerasa. El método y sus aplicaciones. Ciencia hoy. Argentina 4: 1-5.

SAGARPA. 2007. Generación y adaptación de tecnología para el manejo integrado del vector (*Paratrioza cockerelli* Suchl); en los cultivos hortícolas. Asociación de Productores de Papa de Tapalpa. Comité Estatal de Sanidad Vegetal. Programa de Sanidad Vegetal.

Sambrook J. and D. W. Russell. 2001. Molecular Cloning (A laboratory Manual). Third edition. COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, Cold Spring Harbor, New York.

Servín R., A. Tejas, y A. Cota. 2008. Primer Reporte de *Bactericera cockerelli* Sulc, en Plantaciones Hortícolas de Baja California Sur, México. SOUTHWESTERN ENTOMOLOGIST. VOL. 33, NO. 3 SEP. 2008.

Smith, Andrew F. 1994. The tomato in America : early history, culture, and cookery. University of South Carolina Press, Columbia, S.C, USA. ISBN 1-57003-000-6

CITAS ELECTRÓNICAS

<http://www.sdr.gob.mx/beta1/contenidos/CadenasAgropecuarias/docs/909148.235.138.1322-08-2007plagas%20hortalizas.pdf> (Consultada el 18 de abril de 2008).

http://www.conpapa.org.mx/portal/pdf/sistema/cfito_cockerelli.pdf (Consultada el 18 de abril de 2008).

http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?seq_no_115=205258
(Consultada el 18 de abril de 2008).

http://www.panhandle.unl.edu/potato/html/potato_psyllid.htm (Consultada el 18 de abril de 2008).

http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Solanum_lycopersicum&action=edit§ion=1.
(Consultada el 18 de abril de 2008).

http://www.conpapa.org.mx/portal/pdf/sistema/cfito_cockerelli.pdf (Consultada el 18 de abril de 2008).

<http://www.cesavem.org/divulgacion/paratrioza/FOLLETO%20PARATRIOZA.pdf>. (Consultada el 18 de abril de 2008).

<http://es.wikipedia.org/wiki/Tomate>. (Consultada el 18 de abril de 2008).

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/lycopersicon-esculentum/imagenes/flor.jpg> (Consultada el 18 de abril de 2008).

<http://www.colpos.mx/entomologia/images/puntamorada2.jpg> (Consultada el 18 de abril de 2008).

<http://www.cesavem.org/divulgacion/paratrioza/FOLLETO%20PARATRIOZA.pdf> (Consultada el 18 de abril de 2008).

http://www.faunistik.net/DETINVERT/STERNORHYNCHA/PSYLLINA/IMAGES/paratrioza.cockerelli_ad01.gif (Consultada el 18 de abril de 2008).

http://www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/id/ParatriozaPests_BCS (Consultada el 18 de abril de 2008).

ANEXOS

ANEXO 1.

TBE (10X)

TRIS	1 M
EDTA	20 mM
Ac. Bórico	1 M

ANEXO 2.

GEL DE POLIACRILAMIDA 8%

Acrilamida más bisacrilamida 29:1

Acrilamida 40 %.

TBE 10X

Agua destilada

APS 25 %

TEMED

Anexo 3.

Soluciones de revelado

- 1) Fijadora: Etanol al 10% + Ácido Acético al 1%.
- 2) De tinción: Plata al 0.1%.
- 3) Reveladora: NaOH al 3% + Formaldehído (250:1)

-
1. Tesista. Maestría en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo.
 2. Director de Tesis. Profesor-Investigador de la Universidad Autónoma Chapingo.