

***Bactericera cockerelli* vector de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, morfometría y haplotipos en poblaciones de México**

Ernesto Cerna Chávez¹
Mariana Beltrán Beache²
Yisa María Ochoa Fuentes³
Omegar Hernández Bautista⁴
Juan Carlos Delgado Ortiz^{5§}

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro núm. 1923, Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315. (jabaly1@yahoo.com). ²Universidad Autónoma de Aguascalientes-Centro de Ciencias Agropecuarias-Departamento de Fitotecnia. Posta zootécnica, Jesús María, Aguascalientes, México. CP. 20900. (beltranmariana89@gmail.com). ³Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro núm. 1923, Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. (yisa8a@yahoo.com). ⁴Departamento de I+D, CULTA SA de CV. Boulevard Luis Echeverría Álvarez 1700, Col. Altavista, El Mante, Tamaulipas. (omegarhbautista@gmail.com). ⁵CONACYT-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Departamento de Parasitología Agrícola. Calzada Antonio Narro núm. 1923, Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315. (jdelgado@conacyt.mx).

§Autor para correspondencia: jdelgado@conacyt.mx.

Resumen

Bactericera cockerelli es una plaga de importancia económica en solanáceas en México, por los amarillamientos que causa en los cultivos, así como por la transmisión de *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Se describen variantes genéticas de este insecto, las cuales se relacionan con su capacidad para fungir como vector. En México, la distribución de *B. cockerelli* es muy amplia y se carece de información acerca de sus características morfológicas y genéticas. El objetivo de esta investigación fue caracterizar morfológica y genéticamente a *B. cockerelli* y detectar la presencia de *Ca. L. solanacearum* en poblaciones de *B. cockerelli* de las zonas productoras de solanáceas en México. Para lo cual se muestrearon 35 localidades de 13 estados, sobre cultivos de chile, tomate, berenjena y papa, bajo diferentes sistemas de producción. Se midieron las variables largas de cuerpo (LC), largas de abdomen (LAB) y ancho de abdomen (AAB) en insectos de cada población, se detectó la presencia de *Ca. L. solanacearum* en los 13 estados muestreados, donde los machos presentaron el mayor porcentaje de insectos positivos. La presencia de *Ca. L. solanacearum* no se vio influenciada por el hospedero o el sistema de producción, sino por la presencia de *B. cockerelli*.

Palabras claves: *Ca. L. solanacearum*, berenjena, haplotipo, psílido de la papa.

Recibido: febrero de 2021

Aceptado: mayo de 2021

Introducción

Bactericera cockerelli (Hemiptera: Triozidae), conocido también como salerillo, pulgón saltador o psilido de la papa, es una plaga de importancia económica en México, Estados Unidos de América y Nueva Zelanda (Munyanza, 2010). Su importancia radica en los daños generados, de tipo toxinífero y por la transmisión de procariontes (Ramírez *et al.*, 2012) como *Candidatus Liberibacter solanacearum*, patógeno de importancia económica en cultivos de solanáceas en México, Honduras, Guatemala, Belice, Estados Unidos de América, Nueva Zelanda, Europa, Noruega, Nicaragua, España, Francia, Suecia, Finlandia y Canadá (Munyanza, 2013; Hong y Civerolo, 2014; Loiseau *et al.*, 2014; Delgado-Ortiz *et al.*, 2019; Haapalainen *et al.*, 2018; Henrickson *et al.*, 2019).

Las infecciones por *Ca. L. solanacearum* han provocado pérdidas millonarias en la industria por la reducción de la producción y calidad de los cultivos (Gudmestad y Secor, 2007). Además de papa, éste patógeno afecta tomate, chile pimiento y otras especies de cultivos de solanáceas (Liefing *et al.*, 2009). En tomate se han generado reducciones en la producción hasta en 60% si se presenta sola o hasta 100% si se presenta en conjunto con fitoplasmas, mermando la calidad del fruto y su valor comercial (Delgado-Ortiz *et al.*, 2019). Provoca un aumento en los gastos de manejo del cultivo y control del vector (Gudmestad y Secor, 2007; Greenway y Rondon, 2018).

En México los cultivos que han sido afectados por *Ca. L. solanacearum* son el cultivo de la papa, chile y tomate en los estados de Sinaloa, Coahuila, Michoacán y en el Estado de México (Camacho-Tapia *et al.*, 2011; Munyanza *et al.*, 2007, 2009a, 2009b; Rubio *et al.*, 2011). Estudios sobre la variabilidad genética entre poblaciones de *B. cockerelli* de EUA, han revelado la presencia de dos biotipos que coinciden con la separación geográfica de las poblaciones analizadas, por lo que se denominaron biotipo Occidental (encontrado en Sur de California) y biotipo Central (presente en Colorado y Nebraska) pertenecientes a la misma especie (Liu *et al.*, 2005; Jackson *et al.*, 2009).

La separación de biotipos en insectos se atribuye a la variación entre poblaciones de la misma especie, que pueden incluir características morfológicas, genéticas y fisiológicas: como la capacidad de sobrevivir, reproducirse o causar enfermedades en diferentes hospederos (Shufrán y Payton, 2009). Un nivel más específico en la clasificación de *B. cockerelli*, es la de haplotipos; la cual se ha empleado con la finalidad de entender la dinámica poblacional temporal y espacial del psilido mediante análisis genéticos de un solo individuo (Swisher *et al.*, 2012), definiendo un haplotipo como la forma genética que difiere de cualquier otra forma por variaciones en su secuencia de ADN en al menos un nucleótido (Templeton, 2006), donde específicamente, se han descrito cuatro haplotipos de *B. cockerelli* (Western, Central, Northwestern y Southwestern) en Norte y Centro América (Swisher *et al.*, 2012; 2013; 2014).

La distribución de *B. cockerelli* en México es muy amplia y diversos ejemplares han sido colectados en varias zonas de importancia agrícola de Durango, Tamaulipas, Ciudad de México, Michoacán, San Luis Potosí, Morelos, Coahuila, Chihuahua, Nayarit, Jalisco, Baja California, Guanajuato, Aguascalientes, Zacatecas y Sinaloa (Pletsch, 1947; Vega *et al.*, 2008), sin existir registro acerca de sus características morfológicas y genéticas.

Por lo cual el objetivo de esta investigación fue analizar individuos de *B. cockerelli* de diversas poblaciones, provenientes de zonas productoras de solanáceas en México, para obtener su caracterización morfológica y genética, así como detectar la presencia de *Ca. L. solanacearum*.

Materiales y métodos

Se realizó un recorrido por los estados de Aguascalientes (Ags), Zacatecas (Zac), Jalisco (Jal), Guanajuato (Gto), Hidalgo (Hgo), Puebla (Pue), San Luis Potosí (SLP), Nayarit (Nay), Nuevo León (NL), Durango (Dgo), Michoacán (Mich), Coahuila (Coah) y Tamaulipas (Tamps) de junio a septiembre de 2017, colectado ejemplares de *B. cockerelli* presentes en cultivos de solanáceas, bajo distintos sistemas de producción (Cuadro 1).

Cuadro 1. Sitios de colecta de *B. cockerelli*, hospedero y sistema de producción.

Población	Localidad	Estado	Cultivo	Sistema de producción
1	Ojocaliente	Zac	Tomate	Invernadero
2	½ Kilo	Ags	Berenjena	Macrotúnel
3	La finca de Adobe, El Taray	Ags	Chile	Cielo abierto
4	Los Laureles, Villa Hidalgo	Jal	Tomate	Cielo abierto
5	El Reparito, Villa Hidalgo	Jal	Chile	Invernadero
6	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Ags	Chile	Cielo abierto
7	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Ags	Tomate	Cielo abierto
8	Potrero de Vaquerías, Calvillo	Ags	Chile	Cielo abierto
9	Rancho Nuevo de la Luz, León	Gto	Chile	Cielo abierto
10	San Francisco del Rincón	Gto	Papa	Cielo abierto
11	Rancho Nuevo de la Luz, León	Gto	Chile, tomate	Cielo abierto
12	Ciudad Guzmán	Jal	Tomate	Invernadero
13	San Agustín Metzquititlan	Hgo	Chile	Cielo abierto
14	San Cristóbal	Hgo	Chile	Cielo abierto
15	La gallera, Tlaola	Pue	Chile	Cielo abierto
16	San Juan Tianguismanalco	Pue	Chile	Invernadero
17	San Juan Tianguismanalco	Pue	Chile	Cielo abierto
18	La víbora, Villa de Arista	SLP	Chile	Cielo abierto
19	Bocas	SLP	Tomate	Cielo abierto
20	Santa Fe, Moctezuma	SLP	Chile	Macrotúnel
21	Campechana, Villa de Cos	Zac	Chile, tomate	Cielo abierto
22	Las Catarinas, Fresnillo	Zac	Papa	Cielo abierto
23	La Laborcilla, Calera de Víctor Rosales	Zac	Tomate	Cielo abierto
24	Santa María del Oro	Nay	Chile, tomate	Invernadero
25	San Rafael	NL	Papa	Cielo abierto

Población	Localidad	Estado	Cultivo	Sistema de producción
26	Navidad	NL	Papa	Cielo abierto
27	San Rafael	NL	Tomate	Malla sombra
28	Labor de Abajo, Poanas	Dgo	Chile	Cielo abierto
29	La Borrega, Poanas	Dgo	Chile	Cielo abierto
30	Héctor Márquez, Poanas	Dgo	Tomate	Invernadero
31	El Refugio, Durango	Dgo	Chile	Cielo abierto
32	Cocucho, Charapan	Mich	papa	Cielo abierto
33	Saltillo	Coah	Tomate	Invernadero
34	Hidalgo	Tamps	Chile	Cielo abierto

La captura de los insectos se realizó empleando un aspirador manual, mientras que en los sitios donde la presencia de insectos adultos fue limitada, se procedió a coleccionar follaje infestado con ninfas y huevecillos de *B. cockerelli*, siendo colocados en tubos de con etanol al 70%.

Para la caracterización morfométrica de *B. cockerelli* se analizaron de forma individual un promedio de 36 adultos colectados de *B. cockerelli* al azar de cada población, para determinar sus dimensiones externas, las variables: la longitud del cuerpo (LC), largo de abdomen (LAB), ancho de abdomen (AAB), largo de ala (LA), ancho de ala (AA) y longitud de antenas (LAN) fueron tomadas con ayuda del programa Dino-Capture 2 en un microscopio estereoscópico SMZ-711 (Motic®).

La preparación de los insectos adultos conservados en etanol 70% consistió en colocarlos en una mezcla de glicerol al 90% para proceder a su montaje sobre portaobjetos exponiendo las partes del insecto a medir. Los datos obtenidos se analizaron por sexo y una comparación de medias entre ambos sexos, con el programa R Studio versión 3.3, realizando una comparación de medias mediante una prueba de Tukey, $p \leq 0.05$.

Mientras que para la determinación de haplotipos de *B. cockerelli*, a los insectos que previamente se tomaron las medidas corporales e incluyendo ninfas de algunas poblaciones, se extrajo ADN de forma individual empleando la técnica descrita por Doyle y Doyle (1990) modificada. Los haplotipos de *B. cockerelli* se determinaron utilizando los iniciadores CO1 F3 ('5-TACGCCATACTAGCAATCGG-3') y CO1 R3 ('5-GAGTAACGTCGTGGTATTCC-3') que amplifican una región de 500 pb del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa subunidad I (Swisher *et al.*, 2012) mediante PCR de punto final, en la reacción de PCR se emplearon 4 μ l de Taq&Go^T Mastermix (MP Biomedicals), 0.5 μ l de cada primer a 10 μ M y 1 μ l (50 ng) de ADN.

El programa de reacción fue una desnaturalización inicial de 98 °C durante 30 s, seguida por 30 ciclos de 98 °C por 10 s, alineación a 56 °C por 20 s y extensión a 72°C por 30 s, seguidos de una extensión final de 72 °C durante 7 min, en un termociclador Therm 1000 MaxyGeneTM, Axygen®. Los amplicones generados se secuenciaron en ambos sentidos por Macrogen, EUA, las secuencias obtenidas se alinearon con el programa Bio Edit y se compararon con el programa BLAST® del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), por sus siglas en inglés.

Para la detección de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en *B. cockerelli*, se emplearon los iniciadores Lso TX 16/23 F (5'-AATTTTAGCAAGTTCTAAGGG-3') y Lso TX 16/23 R (5'-GGTACCTCCCATATCGC-3') que amplifican una región conservada de 383pb entre el 16S y 23S del ADN ribosomal de '*Ca. L. solanacearum*' (Ravindran *et al.*, 2011). La reacción de PCR para Lso TX 16/23 F/Lso TX 16/23 R se llevó a cabo con 4 µl de Taq&Go^T Mastermix (MP Biomedicals), 0.5 µl de cada iniciador a 10 µM y 1 µl de ADN (50 ng), ajustando a un volumen final de reacción de 20 µl.

La reacción fue realizada bajo las siguientes condiciones del termociclador (Therm 1000 MaxyGeneTM, Axygen[®]): desnaturalización inicial de 98 °C durante 30 s; seguida por 35 ciclos de 98 °C por 10 s, 56 °C por 20 s para su alineación y una extensión de 72 °C por 30 s, seguidos de una extensión final de 72 °C durante 7 min. Se seleccionaron productos de PCR representativos de cada población de estudio para secuenciar en MacroGene USA, con la finalidad de respaldar los resultados obtenidos.

Resultados y discusión

Para la caracterización morfométrica de *B. cockerelli* se analizó un total de 28 poblaciones de las cuales se obtuvieron las dimensiones corporales de las seis variables seleccionadas (LC, LAB, AAB, LA, AA, LAN). En el análisis de las variables para las hembras (Cuadro 2), destacan que los mayores registros en las variables LC, LAB, LA, AA y AAB fueron determinados en las poblaciones 2, 6 y 8, mientras que para la variable LAN, las mayores dimensiones fueron registradas en las poblaciones 23 y 26. Destacando la población 34 colectada en Hidalgo, Tamaulipas, que registró las menores dimensiones en las variables LC, LAB, AAB y AA, mientras que la población 14, fue la que presentó menor LA, así como la población 20 (Moctezuma, SLP) que presentaron la menor LAN.

Cuadro 2. Morfometría de hembras de *B. cockerelli* colectados en campo.

Población*	Característica morfológica**					
	LC	LAB	AAB	LA	AA	LAN
2	2.05 a	1.048 a	0.72 b	2.649 ab	1.025 bc	0.84 bcde
3	1.969 abcde	0.977 ab	0.682 bc	2.649 ab	1.002 bc	0.879 bcd
4	1.973 abcd	0.972 ab	0.663 bc	2.604 abc	1.035 bc	0.862 bcd
5	1.801 def	0.861 bcd	0.585 bcd	2.606 abc	1.001 bc	0.889 bc
6	2.012 ab	0.958 ab	0.701 b	2.665 a	1.058 b	0.912 b
7	1.956 abcde	0.942 ab	0.632 bcd	2.622 abc	1.027 bc	0.855 bcd
8	1.749 def	0.894 bcd	0.943 a	2.378 bc	1.321 a	0.832 bcde
9	1.951 abcdef	0.946 ab	0.654 bc	2.618 abc	1.013 bc	0.802 cde
10	1.89 abcdef	0.952 ab	0.681 bc	2.428 bc	0.959 bc	0.787 cde
11	1.82 cdef	0.893 bcd	0.611 bcd	2.413 bc	0.933 bc	0.778 de
12	1.834 bcdef	0.89 bcd	0.626 bcd	2.443 bc	0.928 bc	0.789 cde
13	1.711 ef	0.831 bcd	0.614 bcd	2.331 bc	0.912 bc	0.766 de
14	1.817 cdef	0.935 ab	0.608 bcd	2.281 c	0.879 c	0.718 de
15	1.556 ef	0.552 d	0.529 cd	2.412 bc	0.915 bc	0.717 de

Población*	Característica morfológica**					
	LC	LAB	AAB	LA	AA	LAN
16	1.849 bcdef	0.917 b	0.614 bcd	2.461 bc	0.948 bc	0.806 cde
17	1.869 abcdef	0.933 ab	0.607 bcd	2.406 bc	0.929 bc	0.766 de
18	1.802 def	0.879 bcd	0.634 bcd	2.383 bc	0.912 bc	0.773 de
19	1.848 bcdef	0.903 bcd	0.606 bcd	2.414 bc	0.931 bc	0.726 de
20	1.808 def	0.844 bcd	0.596 bcd	2.427 bc	0.95 bc	0.667 e
22	1.981 abcd	0.929 ab	0.681 bc	2.637 abc	1.038 bc	0.712 de
23	1.926 abcdef	0.905 bc	0.673 bc	2.573 abc	1.006 bc	1.79 a
26	2.001 abc	0.963 ab	0.68 bc	2.641 abc	1.019 bc	1.83 a
27	1.595 ef	0.64 cd	0.511 cd	2.662 ab	1.002 bc	0.788 cde
28	1.802 def	0.805 bcd	0.53 cd	2.469 abc	0.897 bc	0.813 bcde
30	1.956 abcdef	0.904 bcd	0.647 bcd	2.648 abc	1.051 bc	0.85 bcde
32	1.919 abcdef	0.876 bcd	0.624 bcd	2.608 abc	1.011 bc	0.759 de
34	1.47 f	0.587 d	0.409 d	2.308 bc	0.88 c	0.7 de
35	1.9 abcdef	0.842 bcd	0.551 cd	2.508 abc	0.962 bc	0.732 de

*= las poblaciones 1, 21, 24, 25, 29, 31 y 33 no se incluyeron en el análisis al no contar con adultos para la toma de datos. **= las medias (mm) con la misma letra dentro de cada variable no muestran diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

Las variables LC, LAB, AAB y LAN en hembras de *B. cockerelli* presentaron mayor separación de grupos estadísticamente similares, con variaciones de hasta 0.5 mm entre poblaciones. Las primeras tres variables se relacionan directamente, dado que LAB influye en el tamaño de LC, mientras que las variables LAB y AAB se relacionan con la carga de huevecillos en las hembras al momento de su captura; respecto a LAN, esta variable responde a otro estímulo, dado que no se observa comportamiento que corresponda al tamaño de LC, por lo que LAN puede estar influenciado por la disponibilidad de alimento más que por el tamaño del insecto, encontrando LAN de menores tamaños en insectos con LC elevados o viceversa.

Para las variables LA y AA la separación de grupos fue menor, por lo que se determina como una variable de tamaño estable entre las poblaciones de hembras analizadas. Las diferencias entre la morfometría, el desarrollo del ciclo biológico y la fisiología en poblaciones de *B. cockerelli*, además de factores climáticos y de alimentación, también se pueden ser influenciados por la exposición a insecticidas o por el sexo, donde el mayor tamaño de las hembras y ciclos de vida cortos corresponden a poblaciones más susceptibles (Cerna-Chávez *et al.*, 2018; Hardstone *et al.*, 2010).

En el análisis de las poblaciones de los machos (Cuadro 3), la población 34, coincide con el análisis de las hembras al registrar las menores dimensiones en las variables LC, LAB y LAN. Mientras que la variable LC mostró ser una variable más homogénea, siendo las poblaciones 2 y 6 las que registraron las mayores dimensiones en las variables LAB, AAB, LA y AA, resultando las poblaciones 23 y 26 con la mayor LAN en los machos analizados.

Cuadro 3. Morfometría de machos de *B. cockerelli* colectados en campo.

Población *	Variable morfológica**					
	LC	LAB	AAB	LA	AA	LAN
2	2.001 a	0.995 a	0.615 a	2.608 a	0.991 ab	0.912 bc
4	1.894 a	0.871 ab	0.535 ab	2.56 ab	0.996 ab	0.903 bc
5	1.708 ab	0.779 ab	0.514 b	2.561 ab	0.978 c	0.89 bc
6	1.968 a	0.941 ab	0.667 a	2.614 a	1.086 a	0.852 bc
7	2.014 a	0.973 a	0.571 ab	2.557 abc	0.988 ab	0.867 bc
8	1.92 a	0.915 ab	0.565 ab	2.536 abc	0.989 ab	0.81 c
9	1.939 a	0.926 ab	0.593 a	2.477 abc	0.999 ab	0.864 bc
10	1.803 a	0.868 ab	0.554 ab	2.349 c	0.917 c	0.803 c
11	1.766 a	0.849 ab	0.502 b	2.252 c	0.933 c	0.815 c
12	1.639 abc	0.706 bc	0.457 bc	2.314 c	0.867 c	0.846 bc
13	1.686 ab	0.783 ab	0.506 b	2.315 c	0.897 c	0.807 c
14	1.778 a	0.85 ab	0.522 b	2.286 c	0.862 c	0.744 c
15	1.45 bc	0.573 c	0.458 bc	2.293 c	0.9 c	0.763 c
16	1.821 a	0.868 ab	0.492 b	2.386 bc	0.908 c	1.135 b
17	1.736 ab	0.797 ab	0.511 b	2.301 c	0.8765 c	0.835 bc
18	1.709 ab	0.812 ab	0.511 b	2.311 c	0.881 c	0.839 bc
19	1.783 a	0.829 ab	0.456 bc	2.356 bc	0.878 c	0.725 c
20	1.769 a	0.792 ab	0.462 bc	2.36 bc	0.977 c	0.755 c
22	1.94 a	0.899 ab	0.523 ab	2.575 ab	0.994 ab	0.741 c
23	1.912 a	0.865 ab	0.543 ab	2.546 abc	0.964 c	1.755 a
26	1.899 a	0.895 ab	0.57 ab	2.513 abc	0.949 c	1.731 a
27	1.985 a	0.946 ab	0.584 ab	2.559 abc	1.005 ab	0.716 c
28	2.082 a	1.096 a	0.729 a	2.255 c	0.856 c	0.577 c
30	1.643 abc	0.714 abc	0.539 bc	2.507 abc	0.968 c	0.808 c
32	1.753 ab	0.789 ab	0.451 ab	2.476 abc	0.94 c	0.798 c
34	1.436 c	0.575 c	0.409 c	2.277 c	0.866 c	0.733 c
35	1.787 a	0.793 ab	0.469 bc	2.43 bc	0.928 c	0.724 c

* = las poblaciones 1, 3, 21, 24, 25, 29, 31 y 33 no se incluyeron en el análisis al no contar con adultos para la toma de datos. ** = las medias (mm) con la misma letra dentro de cada variable no muestran diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

En una comparación entre las dimensiones registradas por los insectos de ambos sexos, las hembras registraron mayor tamaño para las variables analizadas Anova (F27, 658; $p \leq 0.05$): LC (1.870a, 1.824b); LAB (0.898a, 0.851b); AAB (0.635a, 0.532b); LA (2.509a, 2.441b); AA (0.986a, 0.949b) y LAN (0.888a, 0.895a) para hembras y machos respectivamente.

En las variables analizadas las hembras presentaron un tamaño superior (± 0.1 mm), siendo el largo de antenas (LAN) la única variable donde no se observó diferencia significativa entre sexos, Vargas *et al.* (2013) determinaron que la longitud de las antenas se ve afectada en el insecto según el hospedero en el que se desarrolla, mientras que no pudieron asociar la longitud de las antenas al sexo.

La ubicación geográfica y condiciones ambientales no se contemplan como una determinante en el tamaño corporal de las poblaciones de *B. cockerelli* evaluadas, ya que dentro del mismo estado se encuentran poblaciones en dos o tres de los principales grupos mencionados, además de que dichas condiciones se ven alteradas por el sistema de producción bajo el cual se desarrollan.

Sin embargo, la morfometría si es influenciada por el hospedero, donde las mayores proporciones corporales se ubican en insectos alimentados en el cultivo de berenjena, mientras que en papa, chile y tomate, no se observa un comportamiento determinado. Se ha registrado un aumento en la fecundidad, la tasa de sobrevivencia, así como un menor tiempo para completar su ciclo de vida cuando se desarrolla *B. cockerelli* en berenjena que en pimiento bajo condiciones de laboratorio (Yang y Liu, 2009).

Los adultos de *B. cockerelli* son pequeños, variando de 1.3-1.9 mm (Liu y Trumble, 2007), pero esta característica puede variar dependiendo de la planta huésped, el origen geográfico de las poblaciones, sexo y si la medición fue realizada con individuos de campo o laboratorio (Butler y Trumble, 2012), Vargas *et al.* (2013) demostraron que la morfometría de adultos y ninfas de *B. cockerelli* se ve afectada por el cultivar de tomate en que desarrolla.

Los estudios de morfometría son una herramienta que ha demostrado ser muy efectiva para analizar la variación resultante de la fisiología de los individuos (variación del tamaño), propia de la población y probablemente genético (variación de la forma) (Jaramillo *et al.*, 2002), la variación morfométrica se puede utilizar para discriminar ‘poblaciones fenotípicas’, definidas como grupos con un crecimiento, mortalidad y tasas de reproducción similares (Cadrin, 2000).

En la determinación de haplotipos de *B. cockerelli*, en los productos de PCR se generaron los amplicones esperados de 500 pb (Figura 1), posterior a la secuenciación, se obtuvo una secuencia de bases idéntica entre las muestras analizadas. Tras la comparación de secuencias en la base de datos del NCBI, se obtuvo un 100% de similitud con el haplotipo Central (Swisher *et al.*, 2012).

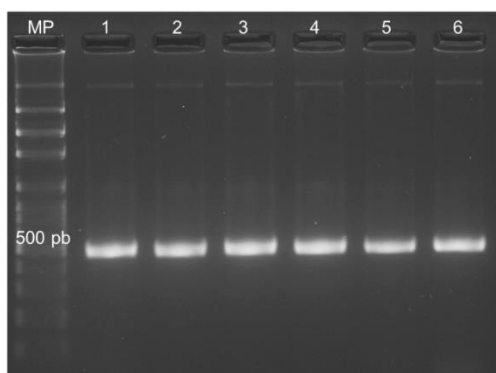


Figura 1. Amplificados obtenidos de *B. cockerelli*.

Producto a un peso de 500 pb con los iniciadores CO1 F3/CO1 R3. MP: 100 pb, carril 1: población 8; carril 2: población 18; carril 3: población 24; carril 4: población 28; carril 5: Población 32 y carril 6: población 34; donde cada producto representa a un solo individuo de cada población.

El haplotipo Central se ha localizado en los estados de Wyoming, Nebraska, Texas y Washington en USA; el Salvador, Honduras y Nicaragua en Centro América; en México se ha ubicado en los estados de Toluca y Querétaro (Swisher *et al.*, 2013). El haplotipo Central de *B. cockerelli* difiere en un solo nucleótido (SNP) con el haplotipo Western en el residuo 51 donde presenta una citosina en sustitución de una timina, así como 16 SNPs con el Northwestern (Swisher *et al.*, 2012) y dos SNPs con el haplotipo Southwestern (Swisher *et al.*, 2014).

En este estudio, se detecta la presencia del haplotipo Central en los estados de Aguascalientes, Jalisco, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Michoacán, Zacatecas, Nuevo León, Coahuila, Nayarit, San Luis Potosí y Tamaulipas. Liu *et al.* (2005), reportan dos biotipos de *B. cockerelli* en el centro y occidente de Estados Unidos de América a los cuales Chapman *et al.* (2012) separó en Central y Western mediante análisis de fusión de alta resolución y secuenciación de ADN del gen *mtCOI*, estos biotipos presentaron una variación de un nucleótido en la posición 297 de un amplificado de 421 pares de bases, donde el biotipo Central presenta una guanina (G) y el biotipo Western una adenina (A), declarando al biotipo Central el biotipo nativo y al Western como el biotipo invasivo.

De acuerdo con los estudios realizados por Montiel *et al.* (2016), el biotipo Central (Texas y Nebraska) y el haplotipo Southwestern están estrechamente relacionados, mientras que el biotipo Western, diverge de estas poblaciones, pero se relaciona con una aparente nueva población del noroeste, la cual puede haber surgido a partir de este biotipo.

Para la determinación de *Ca. L. solanacearum* en las poblaciones de *B. cockerelli*, se analizaron un total de 862 insectos; 348 hembras, 415 machos y 99 ninfas (obtenidas de 35 poblaciones de 13 estados), de las cuales 80.17% de las hembras fueron positivas a *Ca. L. solanacearum*, mientras que en los machos se determinó la presencia de la bacteria en 84.57% (Cuadro 4).

Cuadro 4. Detección de *Ca. L. solanacearum* en poblaciones de *B. cockerelli*.

Población	Estado	Porcentaje de insectos positivos a ' <i>Ca. L. solanacearum</i> '	Insectos *	
			H	M
1	Zacatecas	5/5 (100)	N	
2	Aguascalientes	33/33 (100)	18/18	15/15
3	Aguascalientes	3/3 (100)	3/3	
4	Jalisco	35/35 (100)	14/14	21/21
5	Jalisco	0/36 (0)	0/18	0/18
6	Aguascalientes	35/35 (100)	16/16	19/19
7	Aguascalientes	36/36 (100)	12/12	24/24
8	Aguascalientes	32/32 (100)	10/10	22/22
9	Guanajuato	36/36 (100)	11/11	25/25
10	Guanajuato	35/35 (100)	12/12	23/23

Población	Estado	Porcentaje de insectos positivos a ' <i>Ca. L. solanacearum</i> '	Insectos*	
			H	M
11	Guanajuato	36/36 (100)	20/20	16/16
12	Jalisco	27/36 (75)	4/9	23/27
13	Hidalgo	16/16 (100)	10/10	6/6
14	Hidalgo	36/36 (100)	7/7	29/29
15	Puebla	13/13 (100)	1/1	12/12
16	Puebla	0/14 (0)	0/6	0/8
17	Puebla	28/36 (77.7)	20/23	8/13
18	SLP	26/26 (100)	14/14	12/12
19	SLP	24/24 (100)	17/17	7/7
20	SLP	17/36 (47.2)	13/22	4/14
21	Zacatecas	23/23 (100)		N
22	Zacatecas	13/18 (72.2)	6/10	7/8
23	Zacatecas	36/36 (100)	17/17	17/19
24	Nayarit	13/13 (100)		N
25	Nuevo León	12/12 (100)		N
26	Nuevo León	23/23 (100)	15/15	8/8
27	Nuevo León	36/36 (100)	16/16	20/20
28	Durango	3/3 (100)	2/2	1/1
29	Durango	3/4 (75)		N
30	Durango	0/5 (0)	0/3	0/2
31	Durango	0/6 (0)		N
32	Michoacán	17/17 (100)	12/12	5/5
33	Coahuila	36/36 (100)		N
34	Tamaulipas	12/35 (34.2)	4/13	8/22
35	Puebla	24/36 (66.6)	5/17	19/19

*H= hembras; M= machos; N= ninfas.

Las ninfas de *B. cockerelli* resultaron ser excelentes portadoras de *Ca. L. solanacearum*, al encontrarse positivas 100% las poblaciones donde no fue posible la captura de insectos adultos. En todos los estados muestreados, se obtuvo al menos una población de *B. cockerelli* positiva a *Ca. L. solanacearum*, lo cual brinda un amplio panorama acerca de la distribución y relación entre el vector y '*Ca. L. solanacearum*'.

En relación con el hospedero sobre el cual se recolectaron las poblaciones de *B. cockerelli*; 92.3% de las poblaciones procedentes de tomate, indicaron positivo a *Ca. L. solanacearum*; mientras que 83.3% de las muestras procedentes de chile se determinaron positivas a la bacteria. En el caso de las poblaciones colectadas en el cultivo de papa, 100% de las muestras fueron positivas.

Siendo que las poblaciones que resultaron negativas a *Ca. L. solanacearum* bajo sistemas de producción a cielo abierto fueron la población 16, 30 y 31 (Puebla y Durango respectivamente) y la población 5 colectada en invernadero. Thinakaran *et al.* (2015) han reportado la preferencia del haplotipo Central en campo sobre diferentes hospederos, siendo mayor el favoritismo en cultivos de papa y tomate sobre pimiento, berenjena y *Solanaum elaeagnifolium* (trompillo), donde las oviposturas se ven favorecidas en el cultivo de papa, mientras que bajo condiciones de laboratorio la preferencia a berenjena sobre el cultivo de tomate y el resto de los hospederos es superior.

Cadena (1993) reportó la presencia de la punta morada de la papa en lotes comerciales de Guanajuato, Nuevo León, Coahuila, Valle de Toluca (Estado de México), Michoacán, Tlaxcala, Hidalgo y Puebla. Coincidiendo con las poblaciones de *B. cockerelli* positivas a *Ca. L. solanacearum* de los estados de Guanajuato, Nuevo León, Coahuila, Michoacán, Hidalgo y Puebla en este estudio, lo cual indica que la enfermedad lleva décadas presente en estas zonas, con la posibilidad de haberse dispersado hacia otras regiones y cultivos, lo cual es respaldado por el resto de las poblaciones de *B. cockerelli* positivas colectadas en los estados de Zacatecas, Aguascalientes, Jalisco, Durango, Nayarit, San Luis Potosí y Tamaulipas.

Investigaciones de Secor y Rivera (2004) documentaron los síntomas de la punta morada en la región papera de Saltillo, Coahuila, cuyo agente etiológico fue determinado por Munyaneza *et al.* (2007) quien además lo relaciono con la presencia del vector y cuyo reporte incluye al estado de Nuevo León, mientras que Rubio *et al.* (2011) detectaron a *Ca. L. solanacearum* en la región papera de Toluca, donde también encontraron la presencia del vector. En el cultivo de tomate, *Ca. L. solanacearum* ya había sido reportada en los estados de Michoacán (Hernández, 2013) y Sinaloa (Munyaneza *et al.*, 2009a) y en chile pimiento en Sinaloa, México (Munyaneza *et al.*, 2009b).

El grado de tecnificación en la producción de cultivos, generalmente influye en la incidencia de plagas y enfermedades y la severidad del ataque (Jirón-Rojas *et al.*, 2016) y de acuerdo con los resultados de este estudio se puede inferir que tanto el vector como la bacteria son capaces de adaptarse a cualquier sistema de producción al cual tengan acceso. Presentándose ambos, vector y patógeno, en lotes de producción a cielo abierto, mallasombra, macrotúnel e invernadero.

La población proveniente de la localidad de Potrero de Vaquerías, Calvillo, Aguascalientes en cultivo de chile a cielo abierto, que resultó negativa a *Ca. L. solanacearum*, la cual se encontró contigua a un predio de tomate, cuyo nivel de infestación era considerablemente más elevado que en chile, disminuyendo la posibilidad de que los insectos capturados portaran la bacteria. La población proveniente de El Refugio, Durango, en chile a cielo abierto, en número de insectos obtenidos fue limitada, lo cual disminuyó la probabilidad de tomar aquellos portadores de la bacteria.

El resto de las muestras negativas a *Ca. L. solanacearum* fueron las provenientes de invernaderos en las localidades de San Juan Tianguismanalco, Puebla y Héctor Márquez, Poanas, Durango, en chile y tomate respectivamente, concluyendo que estas poblaciones no han estado en contacto con individuos u hospederos portadores de la bacteria.

Conclusiones

La morfometría presentada de las 28 poblaciones de *B. cockerelli* analizadas representa un gran avance en la caracterización de este importante vector en las principales zonas productoras de solanáceas en México, además de haberse determinado la presencia de *Ca. L. solanacearum* en las poblaciones de *B. cockerelli* provenientes de trece estados de México. Siendo que todas las poblaciones de *B. cockerelli* se identificaron como haplotipo Central.

Agradecimientos

Al PhD. Julien Levy de la Universidad de TEXAS A&M por su valiosa aportación como revisor del presente trabajo. Y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo al proyecto de Cátedras-CONACYT 1048.

Literatura citada

- Butler, C. D. and Trumble, J. T. 2012. The potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc) Hemiptera: Triozidae): life history, relationship to plant diseases, and management strategies. *Terrestrial arthropod reviews*. 5(1):87-111. <https://doi.org/10.1163/187498312X634266>.
- Cadena, H. M. A. 1993. La punta morada de la papa en México: Incidencia y búsqueda de resistencia. *Agrociencia*. 4(2):247-256.
- Cadrin, S. X. 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in fish Biology and Fisheries*. 10(1):91-112. <https://doi.org/10.1023/A:1008939104413>.
- Camacho-Tapia, M.; Rojas-Martínez, R. I.; Zavaleta-Mejía, E.; Hernández-Deheza, M. G.; Carrillo-Salazar, J. A.; Rebollar-Alviter, A. and Ochoa-Martínez, D. L. 2011. Aetiology of chili pepper variegation from Yurécuaro, México. *J. Planth Pathol*. 93(2):331-335. <http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v93i2.1187>.
- Cerna-Chávez, E.; Hernández-Bautista, O.; Ochoa-Fuentes, Y. M.; Landeros-Flores, J.; Aguirre-Uribe, L.A. y Hernández-Juárez, A. 2018. Morfometría de inmaduros y tablas de vida de *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) de poblaciones del noreste de México. *Rev. Colomb. Entomol*. 44(1):53-60. <http://dx.doi.org/10.25100/socolen.v44i1.6543>.
- Chapman, R. I.; Macias-Velasco, J. F.; Arp, A. P. and Bextine, B. R. 2012. Using quantitative real time PCR melt curve analysis of partial CO1 sequence for rapid biotype differentiation of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Southwest. entomology*. 37(4):475-484. <https://doi.org/10.3958/059.037.0405>.
- Delgado-Ortíz, J. C.; Beltrán-Beache, M.; Cerna-Chávez, E.; Aguirre-Uribe, L. A.; Landero-Flores, J.; Rodríguez-Pagaza, Y. y Ochoa-Fuentes, Y. 2019. *Candidatus liberibacter solanacearum* patógeno vascular de solanáceas: Diagnóstico y control. *Rev. Especial. Cienc. Químico-Biológicas*. 22(1):1-12. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.177>.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12(1):13-15.
- Greenway, G. A. and Rondon, S. 2018. Economic impacts of zebra chip in idaho, oregon, and washington. *American. J. Potato Res*. 95(4):362. [Doi:10.1007/s12230-018-9636-2](https://doi.org/10.1007/s12230-018-9636-2).
- Gudmestad, N. C. and Secor, G. A. 2007. Zebra chip: a new disease of potato. *Nebraska Potato Eyes*. 19(1):1-4.

- Hardstone, M. C.; Huang, X.; Harrington, L. C. and Scot, J. G. 2010. Differences in development, glycogen, and lipid content associated with cytochrome P450-mediated permethrin resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: culicidae). *J. Medical Entomol.* 47(2):188-198. Doi: 10.1603/me09131.
- Henrickson, A.; Kalischuk, M.; Lynn, J.; Meers, S.; Johnson, D. and Kawchuk, L. 2019. First report of zebra chip on potato in Canada. *Plant Disease.* 103(5):1016-1016. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1576-PDN>.
- Hong, L. and Civerolo, E. L. 2014. Genomics of plant-associated bacteria D. C. Gross, A. lichens-park y C. Kole. Springer. New York. 203-234 p. Doi:10.1007/978-3-642-55378-3-9.
- Jackson, B. C.; Goolsby, J.; Wzykowski, A.; Vitovsky, N. and Bextine, B. 2009. Analysis of genetic relationships between potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) populations in the united states, Mexico and guatemala using ITS2 and inter simple sequence repeat (ISSR) data. *Plant Sci.* 61(1):1-5.
- Jirón-Rojas, R. L.; Nava-Camberos, U.; Jiménez-Díaz, F.; Alvarado-Gómez, O. G.; Ávila-Rodríguez, V. y García-Hernández, J. L. 2016. Densidades de *Bactericera cockerelli* (Sulc) e incidencia del “permanente del tomate” en diferentes condiciones de producción del tomate. *Southwestern Entomol.* 41(4):1085-1094.
- Liefting, L. W.; Sutherland, P. W.; Ward, L. I.; Paice, K. L.; Weir, B. S. and Clover, G. R. 2009. A new ‘*Candidatus liberibacter*’ species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease.* 93(3):208-214. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-3-0208>.
- Liu, D. and Trumble, J. T. 2007. Comparative fitness of invasive and native populations of the potato psyllid (*Bactericera cockerelli*). *Entomologia Experimentalis et Applicata.* 123(1):35-42. Doi:10.1111/j.1570-7458.2007.00521.x.
- Liu, D.; Trumble, J. T. and Stouthamer, R. 2005. Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western north America. *Entomologia experimentalis et applicata.* 118(3):177-183. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00383.x>.
- Loiseau, M.; Garnier, S.; Boirin, V.; Merieau, M.; Leguay, A.; Renaudin, I.; Renvoisé, J. P. and Gentil P. 2014. First report of ‘*Candidatus liberibacter solanacearum*’ in Carrot in France. *Plant Disease.* 98(6):839-839. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-13-0900-PDN>.
- Montiel, A. L.; Hail, D.; Macias-Velasco, J. F.; Powell, C. M. and Bextine, B. R. 2016. The mitochondrial genome of the potato psyllid, *Bactericera cockerelli* sulc., and differences among potato psyllid populations of the United States. *Southwestern Entomologist.* 41(2):347-360. Doi:10.3958/059.041.0211.
- Munyanza, J. E.; Sengoda, V. G.; Garzón, T. J. A. and Cárdenas, V. O. G. 2009a. First report of “*Candidatus liberibacter solanacearum*” in tomato plants in Mexico. *Plant Disease.* 93(10):1076-1076. Doi:10.1094/PDIS-93-10-1076A.
- Munyanza, J. E.; Crosslin, J. M. and Upton, J. E. 2007. Association of *bactericera cockerelli* (Homoptera: *psyllidae*) with “zebra chip”, a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *J. Econ. Entomol.* 100(3):656-663. Doi: 10.1603/0022-0493(2007)100[656:aobchp]2.0.co;2.
- Munyanza, J. E. 2010. Psyllids as vectors of emerging bacterial diseases of annual crops. *Southwestern entomologist.* 35(3):417-477. <https://doi.org/10.3958/059.035.0335>.
- Pletsch, D. J. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc) its biology and control. *Montana Agricultural Experiment Station. Bulletin.* 446.

- Ramírez-Davila, J. F.; Porcayo-Camargo, E.; Sánchez-Pale, J. R. and Vázquez-García, L. M. 2012. Spatial behavior comparison of *bactericera cockerelli* sulc. (Hemiptera: triozidae) in Mexico. Neotropical Entomol. 41(1):9-16. <https://doi.org/10.1007/s13744-012-0019-y>
- Ravindran, A.; Levy, J.; Pierson, E. and Gross, D. C. 2011. Development of primers for improved PCR detection of the potato zebra chip pathogen '*Candidatus liberibacter solanacearum*'. Plant Disease. 95(12):1542-1546. Doi:10.1094/PDIS-05-11-0386.
- Rubio, C.; Almeyda, L.; Cadena, H. and Lobato, S. 2011. Relation between *Bactericera cockerelli* and presence of *candidatus liberibacter psyllauros* in commercial fields of potato. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 2(1):17-28.
- Secor, G. A. and Rivera-Varas, V. V. 2004. Emerging diseases of cultivated potato and their impact on latin America. Rev. Latinoamericana de la Papa. 1(1):1-8.
- Shufran, K. A. and Payton, T. L. 2009. Limited genetic variation within and between Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotypes in the United States. J. Econ. Entomol. 102(1):440-445. Doi:10.1603/029.102.0157.
- Swisher, K. D.; Arp, A. P.; Bextine, B. R.; Álvarez, E. A.; Crosslin, J. M. and Munyaneza, J. E. 2013. Haplotyping the potato psyllid, *Bactericera cockerelli*, in Mexico and central America. Southwestern Entomol. 38(2):201-208. <https://doi.org/10.3958/059.038.0205>.
- Swisher, K. D.; Henne, D. C. and Crosslin, J. M. 2014. Identification of a fourth haplotype of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in the United States. Fournal Insect Sci. 14(1):1-7. Doi: 10.1093/jisesa/ieu023.
- Swisher, K. D.; Munyaneza, J. E. and Crosslin, J. M. 2012. High resolution melting analysis of the cytochrome oxidase I gene identifies three haplotypes of the potato psyllid in the United States. Environ. Entomol. 41(4):1019-1028. <https://doi.org/10.1603/EN12066>.
- Templeton, A. 2006. Scope and basic premises of population genetics. In: Templeton, A. R. (Ed.). Populations genetics and micro evolutionary theory. John Wiley and Sons, Inc. US. 1-18. p Doi:10.1002/0470047356.ch1.
- Thinakaran, J.; Pierson, E. A.; Longnecker, M.; Tamborindeguy, C.; Munyaneza, J. E.; Rush, C. M. and Henne, D. C. 2015. Settling and ovipositional behavior of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: triozidae) on solanaceous hosts under field and laboratory conditions. J. Econ. Entomol. 108(3):904-916. Doi:10.1093/jee/tov058.
- Vargas-Madríz, H.; Bautista-Martínez, N.; Vera-Graziano, J.; García-Gutiérrez, C. and Chavarín-Palacio, C. 2013. Morphometrics of eggs, nymphs, and adults of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: triozidae), grown on two varieties of tomato under greenhouse conditions. Florida Entomologist. 96(1):71-79. <https://doi.org/10.1653/024.096.0110>.
- Vega, G. M. T.; Rodríguez, J. C.; Díaz, G. O.; Bujanos, M. R.; Mota, S. D.; Martínez, C. J. L.; Lagunes, T. A. and Garzón, T. A. 2008. Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones mexicanas del salerillo, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: triozidae). Agrociencia. 42(4):463-471.
- Yang, X. B. and Liu, T. X. 2009. Life history and life tables of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) on eggplant and bell pepper. Environ. Entomol. 38(6):1661-1667. Doi:10.1603/022.038.0619.