

Estrategias de manejo del complejo zebra chip - punta morada en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.)

Management strategies for the zebra chip - purple top complex in potato crops (*Solanum tuberosum* L.)

José Jonathan Guadarrama Velázquez¹, Alberto Flores Olivas¹, Gustavo Alberto Frías Treviño¹, Isidro Humberto Almeyda León^{2*}

¹Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, CP 25315, Saltillo, Coahuila, México. ^{2*}Campo Experimental General Terán, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Km. 31 Carr. Montemorelos-China, CP 67400, General Terán, Nuevo León, México.

*Autor para correspondencia: almeyda.isidro@inifap.gob.mx

RESUMEN

La bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* y el fitoplasma *Candidatus Phytoplasma* spp., son patógenos asociados al complejo Zebra Chip-Punta Morada de la Papa. El manejo del citado complejo está dirigido al control de su principal vector el psílido *Bactericera cockerelli* (Sulc). El objetivo del presente trabajo fue generar una estrategia de manejo del complejo Zebra Chip-Punta Morada de la Papa y de su vector, integrando el uso de inductores de resistencia, microorganismos y la aplicación de insecticidas. Los tratamientos evaluados fueron T1: Aplicación de inductores de resistencia, microorganismos e insecticidas, T2: Aplicación de microorganismos e insecticidas y T3: Solamente aplicación de insecticidas. La presencia o ausencia de la bacteria y del fitoplasma, se determinó mediante la técnica de PCR a partir del ADN extraído de plantas de papa colectadas a los 40 y 70 días después de la siembra, de tubérculos utilizados como semilla y los colectados a la cosecha, así como de especímenes adultos de *B. cockerelli* colectados antes y durante el desarrollo del cultivo. La bacteria, fue detectada en insectos adultos del vector a los 70 días después de la siembra y en los tubérculos colectados a la cosecha, el fitoplasma no fue detectado en ninguna fecha de muestreo. El porcentaje de incidencia del complejo fue del 7, 9 y 13% para los tratamientos 3, 1 y 2 respectivamente. El porcentaje de manchado del tubérculo fue del 8.6, 36.2 y 37.8 para los tratamientos 3, 2 y 1 respectivamente. Estos resultados nos permiten inferir que el manejo del complejo ZC-PMP en siembras de papa a nivel comercial es totalmente factible mediante el uso combinado de inductores de resistencia, microorganismos y productos sintéticos, ya que se obtiene producción con calidad comercial aceptable y además se reduce el costo de cultivo hasta en un 48.3% en relación a cuando solo se aplican insecticidas.

ABSTRACT

The bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* and the phytoplasma *Candidatus Phytoplasma* spp., are pathogens associated with the Zebra Chip-Purple Top of the Potato complex. The management of the aforementioned complex is aimed at controlling its main vector, the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). The objective of this work was to generate a management strategy for the Zebra Chip-Purple Top of the Potato complex and its vector, integrating the use of resistance inducers, microorganisms and the application of insecticides. The treatments evaluated were T1: Application of resistance inducers, microorganisms and insecticides, T2: Application of microorganisms and insecticides, and T3: Only application of insecticide. The presence or absence of the bacterium and phytoplasma was determined using the PCR technique from the DNA extracted from potato plants collected 40 and 70 days after sowing, from tubers used as seed and those collected to harvest. As well as adult specimens of *B. cockerelli* collected before and during the development of the crop. The bacteria were detected in adult insects of the vector 70 days after sowing and in the tubers collected at harvest, the phytoplasma was not detected on any sampling date. The percentage incidence of the complex was 7, 9 and 13% for treatments 3, 1 and 2 respectively. The percentage of tuber spotting was 8.6, 36.2 and 37.8 for treatments 3, 2 and 1 respectively. The results allow us to infer that the management of the ZC-PT complex in potato crops at a commercial level is very feasible through the combined use of resistance inducers, microorganisms and synthetic products, since production with acceptable commercial quality is obtained, and reduce the cost of cultivation by up

Palabras claves: Papa, enfermedades, manejo sustentable.

INTRODUCCIÓN

En México, la papa (*Solanum tuberosum* L.) se siembra en una superficie aproximada de 60,000 ha bajo condiciones de riego y temporal, con una producción anual de 1 784,000 t (SIAP, 2020). La producción es afectada por diversos problemas fitosanitarios, el más importante es el complejo Zebra Chip (ZC) - Punta Morada de la Papa (PMP), el cual está asociado a *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso) y *Candidatus Phytoplasma* spp. (CaPhy) (Munyanza, 2012). CaLso es una bacteria α -proteobacteria gram-negativa, no cultivable *in vitro*, limitada al sistema vascular del floema, es un parásito obligado de plantas e insectos, y presenta transmisión horizontal y vertical (Munyanza *et al.*, 2008; Secor *et al.*, 2009; Munyanza, 2012; Bertolini *et al.*, 2015). Esta bacteria es un bacilo de entre 2 y 3 μm de largo y 0.2 a 0.3 μm de ancho. CaPhy tampoco se ha podido cultivar en laboratorio, carece de varias funciones biosintéticas, y en general tienen un diámetro medio de entre 200 y 800 nm (Marcone *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2005; Bai *et al.*, 2006; Oshima *et al.*, 2013). CaLso y CaPhy son transmitidos principalmente por el psílido *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Psyllidae) (Almeyda-León *et al.*, 2008; Butler y Trumble, 2012; Munyanza, 2012; Ciubotaru *et al.* 2018), aunque también se encuentran implicadas en la transmisión de CaPhy algunas especies de chicharritas de los géneros *Empoasca* y *Aceratagallia* (Almeyda-León *et al.*, 2008). La bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* se encuentra distribuida en América Central, México, Estados Unidos y Nueva Zelanda (Munyanza *et al.*, 2007, Munyanza, 2012). En México las pérdidas ocasionadas por este patógeno, oscilan entre el 30 y 95%; en la mayoría de las regiones productoras de papa de Coahuila, Nuevo León y Guanajuato, se tiene hasta un 95% de incidencia de la bacteria, ya sea como una infección simple y/o asociada con CaPhy (Flores-Olivas, 2013; González *et al.*, 2014; Melgoza *et al.*, 2018).

El principal método de manejo del complejo ZC-PMP es mediante el control químico del vector de CaLso y CaPhy, el psílido *B. cockerelli* (Butler y Trumble, 2012; Munyanza, 2012). Sin embargo, hay nuevas alternativas de manejo que no han sido enfocadas hacia su vector si no al uso de semillas certificadas, variedades resistentes o tolerantes y rotación de cultivos. Estas son acciones importantes para evitar la introducción y el establecimiento de la enfermedad de manera temprana en el cultivo o en una región. A principios del siglo pasado (1901), fue descubierta la Inducción de Resistencia (IR) de plantas a patógenos con estudios de inmunización, realizados por Ray y Beauverie (Conrath, 2006). Los inductores de resistencia no deben ser considerados como sustituto de insecticidas, sino como un elemento adicional de una estrategia de manejo integrado integrado (Lyon y Newton, 1999). Zaynab *et al.* (2018), mencionan que la aplicación de metabolitos secundarios activa de manera natural los mecanismos de defensa de las

to 48.3% compared to when only insecticides are applied.

Keywords: Potato, diseases, sustainable management.

INTRODUCTION

In Mexico, the potato (*Solanum tuberosum* L.) is planted on an approximate area of 60,000 ha under irrigated and rainfed conditions, with an annual production of 1,784,000 t (SIAP, 2020). Production is affected by various phytosanitary problems, the most important being the Zebra Chip (ZC) - Purple Top of the Potato (PTP) complex, which is associated with *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso) and *Candidatus Phytoplasma* spp. (CaPhy) (Munyanza, 2012). CaLso is a gram-negative α -proteobacteria bacteria, not cultivable *in vitro*, limited to the phloem vascular system, it is an obligate parasite of plants and insects, and presents horizontal and vertical transmission (Munyanza *et al.*, 2008; Secor *et al.*, 2009; Munyanza, 2012; Bertolini *et al.*, 2015). This bacterium is a bacillus between 2 and 3 μm long and 0.2 to 0.3 μm wide. CaPhy has also not been able to be grown in the laboratory, it lacks several biosynthetic functions, and in general, they have an average diameter of between 200 and 800 nm (Marcone *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2005; Bai *et al.*, 2006; Oshima *et al.*, 2013). CaLso and CaPhy are mainly transmitted by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Psyllidae) (Almeyda-León *et al.*, 2008; Butler and Trumble, 2012; Munyanza, 2012; Ciubotaru *et al.*, 2018), although some species of leafhoppers of the genera *Empoasca* and *Aceratagallia* are also involved in the transmission of CaPhy (Almeyda-León *et al.*, 2008). The bacterium *Candidatus Liberibacter solanacearum* is distributed in Central America, Mexico, the United States and New Zealand (Munyanza *et al.*, 2007, Munyanza, 2012). In Mexico, the losses caused by this pathogen range between 30 and 95%; In most of the potato-producing regions of Coahuila, Nuevo León and Guanajuato, there is up to a 95% incidence of the bacteria, either as a simple infection and/or associated with CaPhy (Flores-Olivas, 2013; González *et al.*, 2014; Melgoza *et al.*, 2018).

The main method of managing the ZC-PTP complex is through chemical control of the CaLso and CaPhy vector, the psyllid *B. cockerelli* (Butler and Trumble, 2012; Munyanza, 2012). However, there are new management alternatives that have not been focused on its vector but on the use of certified seeds, resistant or tolerant varieties and crop rotation. These are important actions to avoid the introduction and establishment of the disease early in the crop or in a region. At the beginning of the last century (1901), the Induction of Resistance (IR) of plants to pathogens was discovered with immunization studies, carried out by Ray and Beauverie (Conrath, 2006). Resistance inducers should not be considered as a substitute for insecticides, but as an additional element of an integrated management strategy (Lyon and Newton, 1999). Zaynab *et al.* (2018) mention that the application of secondary metabo-

plantas. Flores-Olivas (2013) y Beltrán *et al.* (2015), señalan que la inducción de resistencia de las plantas mediante aplicación de metabolitos secundarios juega un papel importante en el manejo de cualquier complejo fitosanitario. Flores-Olivas (2013), reportó un aumento enzimático en la actividad de la Fenilalanina Amonio Liasa (PAL) en las plantas de papa en respuesta a la aplicación de alcaloides ricos en afinina para el control de *CaLso* y *CaPhy*. Asimismo, la aplicación de microorganismos como *Trichoderma* spp. y diversas especies de *Bacillus* spp. presentan una interacción en el desarrollo de inducción de resistencia, estimulando la síntesis de ácido jasmónico, ácido salicílico y fitoalexinas entre otros compuestos que actúan como señalizadores (Ongena *et al.*, 2007; Infante *et al.*, 2009; Santoyo *et al.*, 2012; Rojas-Solís *et al.*, 2013).

En México se ha reportado un incremento del 50% en el uso de insecticidas para el control del psílido *B. cockerelli*, realizando hasta 70 aplicaciones por ciclo, lo cual afecta características fisicoquímicas y bromatológicas del producto, las características edafológicas, el medio ambiente, la resistencia del insecto y la reducción considerable de enemigos naturales, lo cual ocasiona incremento de los costos de producción (Hernández *et al.*, 2018). La aplicación de inductores de resistencia es una alternativa que se puede integrar de manera efectiva en el manejo del complejo ZC-PMP para reducir de manera significativa dicho problema, de manera tal, que la producción de papa se pueda realizar de forma menos dependiente de los insecticidas y sea redituable para el productor, el consumidor y el medio ambiente. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue generar un programa integral de manejo de *CaLso* y *CaPhy* asociados al complejo ZC-PMP, así como de su vector mediante el uso de inductores de resistencia, microorganismos y la aplicación de insecticidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

La investigación se llevó a cabo en el predio “El Rancho”, ubicado en la localidad de Parres el Guarda, perteneciente a la Alcaldía Tlalpan de la Ciudad de México, con coordenadas 19° 07' 46" N, 99° 10' 09" O. Los análisis moleculares se realizaron en el laboratorio de Parasitología Molecular de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN) en Buenavista, Saltillo, Coahuila, con coordenadas 25° 21' 17" N, 101° 01' 57" O.

Obtención de material biológico

Para el estudio, se utilizó semilla de papa certificada libre de patógenos de la variedad Fianna. Especímenes adultos de *B. cockerelli* se colectaron antes y durante el establecimiento del cultivo. Se recolectaron folíolos a los 40 y 70 días después de la siembra (DDS), así como tubérculos a la cosecha (10 tubérculos por tratamiento). Los folíolos, tubérculos (utilizados como semilla y los colectados a la co-

lites naturalmente activan los mecanismos de defensa de las plantas. Flores-Olivas (2013) and Beltrán *et al.* (2015) point out that the induction of plant resistance through the application of secondary metabolites plays an important role in the management of any phytosanitary complex. Flores-Olivas (2013) reported an enzymatic increase in the activity of Phenylalanine Ammonium Lyase (PAL) in potato plants in response to the application of alkaloids rich in affinin to control *CaLso* and *CaPhy*. Likewise, the application of microorganisms such as *Trichoderma* spp. and various species of *Bacillus* spp. present an interaction in the development of resistance induction, stimulating the synthesis of jasmonic acid, salicylic acid and phytoalexins among other compounds that act as signaling (Ongena *et al.*, 2007; Infante *et al.*, 2009; Santoyo *et al.*, 2012; Rojas-Solís *et al.*, 2013).

In Mexico, an increase of 50% has been reported in the use of insecticides to control the psyllid *B. cockerelli*, making up to 70 applications per cycle, which affects the physicochemical and bromatological characteristics of the product, the soil characteristics, the environment, the insect resistance and the considerable reduction of natural enemies, which causes increase in production costs (Hernández *et al.*, 2018). The application of resistance inducers is an alternative that can be effectively integrated into the management of the ZC-PTP complex to significantly reduce this problem; in such a way, that potato production can be carried out in a less dependent way on the insecticides and is profitable for the producer, the consumer and the environment. Therefore, the objective of this research was to generate an integrated management program for *CaLso* and *CaPhy* associated with the ZC-PT complex, as well as its vector using resistance inducers, microorganisms and the application of insecticides.

MATERIALS AND METHODS

Location of the experiment

The investigation was carried out on the “El Rancho” property, located in the town of Parres el Guarda, belonging to the Tlalpan Mayor's Office of Mexico City, with coordinates 19° 07' 46" N, 99° 10' 09" W. The molecular analyzes were carried out in the Molecular Parasitology laboratory of the “Antonio Narro” Autonomous Agrarian University (UAAAN) in Buenavista, Saltillo, Coahuila, with coordinates 25° 21' 17" N, 101° 01' 57" W.

Obtaining biological material

For the study, certified pathogen-free potato seed of the Fianna variety was used. Adult specimens of *B. cockerelli* were collected before and during culture establishment. Leaflets were collected at 40 and 70 days after sowing (DAS), as well as tubers at harvest (10 tubers per treatment). The leaflets, tubers (used as seed and those collected at harvest), as well as insects were analyzed using the Polymerase Chain Reaction (PCR) to determine the absence or presence of *CaLso* and *CaPhy* before and during the crop cycle.

secha), así como los insectos se analizaron mediante la Reacción en Cadena de la Polime-rasa (PCR) para determinar la ausencia o presencia de *CaLso* y *CaPhy* antes y durante el ciclo de cultivo.

Establecimiento del ensayo

El experimento de campo se estableció en una superficie de 1.5 ha. Se evaluaron tres tratamientos con tres repeticiones bajo un diseño de bloques completos al azar. La siembra se realizó a una distancia de 20 cm entre tubérculos y de 92 cm entre surcos para tener una densidad aproximada de 27,000 plantas en una superficie de 0.5 ha para cada tratamiento. Cada unidad experimental (parcela) consistió en 10 surcos de 92 cm de ancho por 180 m de largo con una separación de 1 m entre parcelas.

Tratamiento sustentable (T1)

Consistió en la aplicación de inductores de resistencia a base de Alcamidas de origen orgánico, microorganismos [*Bacillus subtilis* (SEBM1) y *Trichoderma* (AN27)] e insecticidas organosintéticos. A la siembra se aplicaron los microorganismos SEBM1 y AN27, en el área foliar se aplicaron inductores e insecticidas solos y mezclados realizando 15 aplicaciones durante el ciclo en intervalos de 7 días, registrándose fecha, ingrediente, dosis, tipo de aplicación y costo de aplicación (Cuadro 1).

Tratamiento empresarial (T2)

Consistió en la aplicación del microorganismo *Bacillus subtilis* (SEBM1) e insecticidas. Al momento de la siembra se aplicó *B. subtilis* (SEBM1) y en el área foliar se aplicaron insecticidas de forma individual y en combinación. En total se realizaron 18 aplicaciones durante el ciclo, en intervalos de 5 días registrándose fecha, ingrediente, dosis, tipo de aplicación y costo de aplicación (Cuadro 2).

Tratamiento convencional (T3)

Consistió solamente en la aplicación de insecticidas organosintéticos. Los insecticidas se aplicaron de manera individual y en combinación de acuerdo al programa propuesto por el productor. En total, se realizaron 31 aplicaciones durante el ciclo, a intervalos de 3.5 días, registrándose fecha, ingrediente, dosis, tipo de aplicación y costo de aplicación (Cuadro 3). Los tratamientos se aplicaron con una aspersora de 800 L, calibrada a 200 psi con boquillas tipo cono lleno del número dos, con una separación entre ellas de 45 cm., el volumen de aplicación fue de 600 L por ha. También se realizó un registro del costo para cada tratamiento con la finalidad de conocer el costo real del manejo de ZC y PMP.

Colecta de muestras para detección de *Calso* y *CaPhy*

En plantas se recolectaron folíolos del estrato medio y superior de la planta a los 40 y 70 DDS, muestreando cinco puntos por cada unidad experimental. Cada punto consistió

Sustainable treatment (T1)

It consisted of the application of resistance inducers based on Alcamides of organic origin, microorganism [*Bacillus subtilis* (SEBM1 and AN27)] and organosynthetic insecticides. At sowing, the microorganisms SEBM1 and AN27 were applied, inducers and insecticides were applied alone and mixed in the foliar area, making 15 applications during the cycle at 7-day intervals, recording date, ingredient, dose, type of application and application cost (Table 1).

Business treatment (T2)

It consisted of the application of the microorganism *Bacillus subtilis* (SEBM1) and insecticides. At the time of sowing *B. subtilis* (SEBM1) was applied and insecticides were applied individually and in combination to the leaf area. In total, 18 applications were made during the cycle, at 5-day intervals, recording date, ingredient, dose, type of application and application cost (Table 2).

Conventional treatment (T3)

It consisted only of the application of organosynthetic insecticides. The insecticides were applied individually and in combination according to the program proposed by the producer. In total, 31 applications were made during the cycle, at intervals of 3.5 days, recording date, ingredient, dose, type of application and application cost (Table 3).

The treatments were applied with an 800 L sprayer, calibrated at 200 psi with number two full cone nozzles, with a separation between them of 45 cm. The application volume was 600 L per ha. A cost record was also made for each treatment in order to know the real cost of managing ZC and PTP.

Collection of samples for detection of *Calso* and *CaPhy*

In plants, leaflets were collected from the middle and upper stratum of the plant at 40 and 70 DAS, sampling five points for each experimental unit. Each point consisted of five linear m or the equivalent of 25 plants considering one leaflet per plant, thus obtaining 125 leaflets, which is equivalent to a sample composed of 375 leaflets per experimental unit.

The tubers were collected in the same way, for each point, 10 tubers were selected, giving a total of 50 tubers per repetition and 150 per treatment. Sampling of *B. cockerelli* during the cultivation cycle was carried out in each experimental unit, taking the five central furrows as a useful plot in which 20 swabs were carried out every 20 linear m for the collection of adults. For the sampling of eggs and nymphs of the psyllid, five points were taken per experimental unit based on the NOM-041-FITO-2002 standard of the Ministry of Agriculture, Livestock, Rural Development, Fisheries and Food (SAGARPA, 2002) and

Cuadro 1. Descripción del tratamiento correspondiente a la propuesta de manejo sustentable
Table 1. Description of the treatment corresponding to the sustainable management proposal (T1).

Aplicación	Fecha	Producto	Dosis/Ha	Época y/o tipo de aplicación	Costo (\$)
1	03/06/2019	AN27	1.0 L	Siembra	300.00
		SEBM1	1.0 L	Siembra	550.00
		Alcamida	1.0 L	Siembra	680.00
2	03/07/2019	Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
		Deltametrina + Imidacloprid	1.0 L	Foliar	700.00
3	10/07/2019	Alcamida	1.0 L	Foliar	680.00
		Cipermetrina	1.0 L	Foliar	200.00
4	17/07/2019	SEBM1	1.0 L	Foliar	550.00
		Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
		Alcamida	1.0 L	Foliar	680.00
5	24/07/2019	Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
		Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
6	31/07/2019	SEBM1	1.0 L	Foliar	550.00
		Alcamida	1.0 L	Foliar	680.00
7	07/08/2019	Flupyradifurone	0.5 L	Foliar	700.00
		Cymoxanil	1.5 Kg	Foliar	525.00
		Propamocarb + Fluopicolide	1.0 L	Foliar	700.00
8	14/08/2019	SEBM1	1.0 L	Foliar	550.00
		Deltametrina + Imidacloprid	1.0 L	Foliar	700.00
		Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
(T1).					
9	21/08/2019	Tiactoprid	200 mL	Foliar	450.00
		Alcamida	1.0 L	Foliar	680.00
		Propamocarb + Fosetil Al	1.0 L	Foliar	500.00
10	28/08/2019	Cipermetrina	1.0 L	Foliar	200.00
11	04/09/2019	Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
12	11/09/2019	Alcamida	1.0 L	Foliar	680.00
		Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
		Cipermetrina	1.0 L	Foliar	200.00
13	18/09/2019	Cymoxanil	1.5 Kg	Foliar	525.00
		Propamocarb + Fluopicolide	1.0 L	Foliar	850.00
		Deltametrina + Imidacloprid	1.0 L	Foliar	700.00
14	25/09/2019	Spiromesifen	250 mL	Foliar	500.00
		Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
		Alcamida	1.0 L	Foliar	680.00
15	02/10/2019	Cipermetrina	1.0 L	Foliar	200.00
		Cipermetrina	1.0 L	Foliar	200.00
				Costo total	17,384.00

Cuadro 2. Descripción del tratamiento correspondiente al manejo empresarial (T2).
Table 2. Description of the treatment corresponding to business management (T2).

Aplicación	Fecha	Producto	Dosis/ Ha	Época y/o tipo de aplicación	Costo (\$)
1	03/06/2019	Penflufen	0.5 L	Siembra	1,800.00
		Fluoxastrobin	1.0 L	Siembra	1,550.00
		Bacillus sp	2.5 Kg	Siembra	1,500.00
		Fluopyram	0.5 L	Siembra	2,500.00
		Flupyradifurone	1.0 L	Foliar	1,400.00
2	28/06/2019	Propamocarb + Fenamidona	1.0 L	Foliar	450.00
		Deltametrina	125 mL	Foliar	125.00
3	03/07/2019	Deltametrina + Imidacloprid	1.0 L	Foliar	700.00
		Propineb	2.0 Kg	Foliar	320.00
4	08/07/2019	Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
		Propamocarb + Fosetil Al	1.0 L	Foliar	800.00
5	14/07/2019	Propineb	2.0 Kg	Foliar	320.00
		Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
6	20/07/2019	Deltametrina	125 mL	Foliar	125.00
		Fosetil Aluminio	1.0 Kg	Foliar	350.00
7	26/07/2019	Propineb	2.0 Kg	Foliar	320.00
		Terbuconazole	500 mL	Foliar	750.00
		Tiacloprid	200 mL	Foliar	400.00
8	01/08/2019	Propamocarb + Fenamidona	1.0 L	Foliar	450.00
		Spiromesifen	250 mL	Foliar	500.00
9	07/08/2019	Flubendiamide	250 mL	Foliar	550.00
		Propineb	2.0 Kg	Foliar	320.00
10	13/08/2019	Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
		Propamocarb + Fenamidona	1.0 L	Foliar	450.00
11	19/08/2019	Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
		Propineb	2.0 Kg	Foliar	320.00
12	25/08/2019	Deltametrina	125 mL	Foliar	125.00
		Fosetil Aluminio	1.0 Kg	Foliar	350.00
13	31/08/2019	Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
		Propineb	2.0 Kg	Foliar	320.00
		Terbuconazole	500 mL	Foliar	750.00
14	06/09/2019	Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
		Propamocarb + Fosetil Al	1.0 L	Foliar	800.00
15	12/09/2019	Spiromesifen	250 mL	Foliar	500.00
		Propineb	2.0 Kg	Foliar	320.00
16	18/09/2019	Flubendiamide	250 mL	Foliar	550.00
		Fosetil Aluminio	1.0 Kg	Foliar	350.00
17	24/09/2019	Deltametrina	125 mL	Foliar	125.00
		Propamocarb + Fenamidona	1.0 L	Foliar	450.00
18	30/09/2019	Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
		Propineb	2.0 Kg	Foliar	320.00
Costo total					23,531.00

Cuadro 3. Descripción del tratamiento correspondiente al manejo convencional (T3).
Table 3. Description of the treatment corresponding to commercial treatment (T3).

Aplicación	Fecha	Producto	Dosis/ Ha	Época y/o tipo de aplicación	Costo (\$)
1	03/06/2019	Pyraclostrobin	1.0 L	Siembra	1,650.00
		TCMTB 30	1.5 L	Siembra	8,250.00
		Fluazinam	1.0 L	Siembra	1,800.00
		Tiofanato metílico	1.5 Kg	Siembra	660.00
		Fluopyram	0.5 L	Siembra	2,500.00
2	25/06/2019	Monocrotofos	1.0 L	Foliar	200.00
		Metamidofos	1.0 L	Foliar	200.00
		Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
3	28/06/2019	Metamidofos	1.0 L	Foliar	200.00
		Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
4	02/07/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Deltametrina	125 mL	Foliar	125.00
5	05/07/2019	Clorotalonil	2.0 L	Foliar	360.00
		Diclorvos	1.0 L	Foliar	180.00
6	09/07/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
7	12/07/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
8	16/07/2019	Acefate	0.5 Kg	Foliar	240.00
		Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
9	19/07/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
10	23/07/2019	Clorotalonil	2.0 L	Foliar	360.00
		Diclorvos	1.0 L	Foliar	180.00
11	26/07/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Profenofos	250 mL	Foliar	250.00
		Abametina	250 mL	Foliar	225.00
12	30/07/2019	Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
		Abametina	250 mL	Foliar	225.00
13	02/08/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Spiromesifen	250 mL	Foliar	500.00
14	06/08/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Propamocarb + Fluopicolide	1.0 L	Foliar	700.00
15	09/08/2019	Mancozeb	2.0 Kg	Foliar	200.00
		Cipermetrina	1.0 L	Foliar	200.00
16	13/08/2019	Propamocarb + Fluopicolide	1.0 L	Foliar	850.00
		Pirimetanil	0.5 L	Foliar	1,250.00
		Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
17	16/08/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Acefate	0.5 Kg	Foliar	240.00
18	20/08/2019	Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
		Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
19	23/08/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00

		Deltametrina	125 ml	Foliar	125.00
20	27/08/2019	Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
		Monocrotofos	1.0 L	Foliar	200.00
21	30/08/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Deltametrina	125 mL	Foliar	125.00
22	03/09/2019	Clorotalonil	2.0 L	Foliar	360.00
		Abametina	250 mL	Foliar	225.00
23	06/09/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Diclorvos	1.0L	Foliar	180.00
24	10/09/2019	Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
		Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
25	13/09/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Profenofos	250 mL	Foliar	250.00
		Abametina	250 mL	Foliar	225.00
26	17/09/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Diclorvos	1.0 L	Foliar	180.00
		Deltametrina	125 mL	Foliar	125.00
27	20/09/2019	Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
		Spirotetramat	250 mL	Foliar	537.00
28	24/09/2019	Mancozeb	2.0 Kg	Foliar	200.00
		Cipermetrina	1.0 L	Foliar	200.00
29	27/09/2019	Propineb	1.0 Kg	Foliar	160.00
		Imidacloprid + Betacyflutrin	250 mL	Foliar	240.00
30	01/10/2019	Clorotalonil	2.0 L	Foliar	360.00
		Monocrotofos	1.0 L	Foliar	200.00
31	04/10/2019	Cymoxanil	1.0 Kg	Foliar	300.00
		Profenofos	250 mL	Foliar	250.00
Costo total					33,638.00

de 5 m lineales o el equivalente a 25 plantas considerando un foliolo por planta, obteniendo así un total de 125 folíolos, lo cual, equivale a una muestra compuesta de 375 folíolos por unidad experimental. Los tubérculos se recolectaron de la misma manera, para cada punto se seleccionaron 10 tubérculos, dando un total de 50 tubérculos por repetición y 150 por tratamiento. El muestreo de *B. cockerelli* durante el ciclo de cultivo, se realizó en cada unidad experimental tomando los cinco surcos centrales como parcela útil en lo que se realizaron 20 redazos cada 20 m lineales para la recolecta de adultos. Para el muestreo de huevos y ninfas del psílido, se tomaron cinco puntos por unidad experimental con base a la norma NOM-041-FITO-2002 de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2002) y se observó el envés de las hojas ubicadas en la parte media y baja de 10 plantas. Las muestras vegetales (folíolos y tubérculos) se colocaron en bolsas de cierre hermético dentro de hieleras y los insectos en tubos Eppendorf en alcohol al 70% para su traslado al laboratorio de Parasitología Molecular de la UAAAN y posterior análisis.

Extracción del ADN vegetal y de insectos

La extracción del ADN de las plantas se realizó mediante la técnica del CTAB al 3% reportada por Dellaporta *et al.* (1983), con algunas modificaciones. La extracción del ADN de los insectos se realizó mediante la técnica propuesta por Doyle y Doyle (1990).

observed the underside of the leaves located in the middle and lower part of 10 plants. The plant samples (leaflets and tubers) were placed in hermetically sealed bags inside coolers and the insects in Eppendorf tubes in 70% alcohol for transfer to the Molecular Parasitology laboratory of the UAAAN and subsequent analysis.

Extraction of plant and insect DNA

The extraction of DNA from the plants was carried out using the 3% CTAB technique reported by Dellaporta *et al.* (1983), with some modifications. The extraction of DNA from the insects was carried out using the technique proposed by Doyle and Doyle (1990).

CaLso detection

It was carried out using the endpoint PCR technique to amplify a fragment of approximately 669 bp of the gene that encodes 16S rDNA of *CaLso* (Delgado-Ortiz *et al.*, 2019) was amplified from DNA extracted from vegetal material and insects. Primers CL514F (5'-CTCTAAGATTTTCGGTTGGTT-3') and CL514R (5'-TATATCTATCGTTGCACCAG-3') were used (Crosslin and Bester 2009). The PCR reactions were performed in a final volume of 25 μ L containing: 12.5 μ L of Taq&GoT Mastermix (MP Biomedicals), 1.5 μ L of each indicator (10 μ M), 100 ng of DNA and 8.5 μ L of sterile H₂O. The amplification program was: An initial denaturation cycle at 95 °C for 5 min, followed by 42 cycles at 95 °C for 30 s, 51

Detección de *CaLso*

Se realizó por medio de la técnica de PCR punto final, para amplificar un fragmento de aproximadamente 669 pb del gen que codifica para 16S ADNr de *CaLso* (Delgado-Ortiz *et al.*, 2019) a partir de ADN extraído del material vegetal y de insectos. Se usaron los iniciadores CL514F (5'-CTCTAAGATTTTCGGTTGGTT-3') y CL514R (5'-TATATCTATCGTTGCACCAG-3') (Crosslin y Bester 2009). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 25 μ L conteniendo: 12.5 μ L de Taq&GoT Mastermix (MP Biomedicals), 1.5 μ L de cada indicador (10 μ M), 100 ng de ADN y 8.5 μ L de H₂O estéril. El programa de amplificación fue: Un ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C por 5 min, seguido de 42 ciclos a 95 °C por 30 s, 51 °C por 30 s y 72 °C por 1 min, y un ciclo de extensión final a 72 °C 10 min.

Detección de *CaPhy*

Se realizó mediante la técnica de PCR anidado, para amplificar fragmentos de aproximadamente 1830 pb y 1250 pb del gen que codifica para el 16S ADNr genoma de *CaPhy*. Se implementó la técnica de PCR directa y PCR secuencial. En la PCR directa se utilizaron los iniciadores P1/P7 (5'-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT3'/5'-CGTCCTTCATCGGCTCTT-3'). En la PCR secuencial se utilizaron los iniciadores P1/P7 en el primer ciclo de amplificaciones, mientras que en el segundo ciclo de amplificaciones se utilizaron los iniciadores R16mF2/R16mR1 (5'-CATGCAAGTCGAACGGA-3'/5'-CTTAACCCCAATCATCGA-3') y R16F2/MMR (5'-GAAACGACTGCTAAGA-3'/5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAAC-3'). Las reacciones se conformaron en un volumen final de 25 μ L conteniendo: 50 ng de ADN, iniciador 12.5 pM para cada uno, 2 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP's, solución amortiguadora para PCR (1X) y Taq ADN polimerasa (1.5 U). Con los iniciadores P1/P7, el programa de amplificación fue el siguiente: Un ciclo a 94 °C por 2 min; 35 ciclos; a 94 °C por 1 min, 50 °C por 1 min, 72 °C por 2 min y un ciclo final a 72 °C por 10 min. Con los iniciadores R16mF2/R16mR1 el programa de amplificación fue el siguiente: Un ciclo a 94 °C por 2 min; 35 ciclos, a 94 °C por 1 min, 60 °C por 1 min, 72 °C por 1.5 min y un ciclo final de 72 °C por 10 min. Con los iniciadores R16F2/MMR el programa utilizado fue: Un ciclo de desnaturalización a 94 °C por 2 min; 35 ciclos a 94 °C por 1 min, 55 °C por 1 min, 72 °C por 30 s y un ciclo final a 72 °C por 10 min. Los productos de PCR se fraccionaron en geles de agarosa al 1.5% teñidos con bromuro de etidio (0.5 μ g mL⁻¹), y se corrieron en solución TAE 1X a 80 V durante 40 min y posteriormente se analizaron en el UVP GelDoc-It Imaging System Ultraviolet M-26X Transilluminator.

°C for 30 s and 72 °C for 1 min, and a final extension cycle at 72 °C 10 min.

CaPhy detection

It was carried out using the nested PCR technique to amplify fragments of approximately 1830 bp and 1250 bp of the gene that encodes the 16S rDNA *CaPhy* genome were amplified. The direct PCR and sequential PCR technique were implemented. In the direct PCR, the primers P1/P7 (5'-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT3'/5'-CGTCCTTCATCGGCTCTT-3') were used. In the sequential PCR, the primers P1/P7 were used in the first cycle of amplifications, while in the second cycle of amplifications the primers R16mF2/R16mR1 (5'-CATGCAAGTCGAACGGA-3'/5'-CTTAACCCCAATCATCGA-3') and R16F2/MMR (5'-GAAACGACTGCTAAGA-3'/5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAAC-3') were used. The reactions were set up in a final volume of 25 μ L containing: 50 ng of DNA, 12.5 pM primer for each, 2 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP's, PCR buffer solution (1X) and Taq DNA polymerase (1.5 U). With primers P1/P7, the amplification program was as follows: One cycle at 94 °C for 2 min; 35 cycles; at 94 °C for 1 min, 50 °C for 1 min, 72 °C for 2 min and a final cycle at 72 °C for 10 min. With the R16mF2/R16mR1 primers, the amplification program was as follows: One cycle at 94 °C for 2 min; 35 cycles, at 94 °C for 1 min, 60 °C for 1 min, 72 °C for 1.5 min and a final cycle of 72 °C for 10 min. With the R16F2/MMR initiators the program used was: A denaturation cycle at 94 °C for 2 min; 35 cycles at 94 °C for 1 min, 55 °C for 1 min, 72 °C for 30 s and a final cycle at 72 °C for 10 min. The PCR products were fractionated on 1.5% agarose gels stained with ethidium bromide (0.5 μ g mL⁻¹), and run in 1X TAE solution at 80 V for 40 min and subsequently analyzed on the UVP GelDoc-It Imaging System Ultraviolet M-26X Transilluminator.

Incidence and severity of ZC-PTP

The evaluations of the incidence of ZC and PTP, as well as the severity of tuber spotting, were carried out at harvest based on NOM-041- FITO-2002 (SAGARPA 2002). One hundred tubers were collected per treatment, and a cross section was made next to the stolon to observe symptoms. The incidence percentage was recorded according to the presence or absence of typical symptoms of the complex, the severity was evaluated using an arbitrary scale described by Flores-Olivas in 2013 (Table 4).

Behavior of temperature and relative humidity during the crop cycle

Temperature and relative humidity were recorded during crop development with the help of a thermohyrometer to establish or infer their effect on the

Incidencia y severidad de ZC – PMP

Las evaluaciones de incidencia de ZC y PMP, así como la severidad del manchado de los tubérculos se realizaron a la cosecha con base en la NOM-041-FITO-2002 (SAGARPA 2002). Se recolectaron 100 tubérculos por tratamiento, a los cuales se le realizó un corte transversal junto al estolón para observación de síntomas. El porcentaje de incidencia se registró de acuerdo a la presencia o ausencia de síntomas típicos del complejo y la severidad se evaluó mediante una escala arbitraria descrita por Flores-Olivas en el 2013 (Cuadro 4).

presence of vectors, as well as on the incidence and severity of ZC-PTP.

Cuadro 4. Incidencia de ZC-PMP en planta y severidad de manchado de tubérculos.

Table 4. Incidence of ZC-PTP in plants and severity of tuber spotting.

Incidencia de ZC-PMP en planta		Severidad del manchado del tubérculo	
Descripción	Porcentaje	Escala	Porcentaje
Planta sana	0%	A	0
Presencia de tubérculos aéreos	25%	B	1-10
Presencia de tubérculos aéreos y proliferación de brotes	50%	C	11-65
Exceso de brotes y planta quebradiza	75%	D	66-89
Planta muerta	100%	E	90-99
		F	100

Comportamiento de temperatura y humedad relativa durante el ciclo del cultivo

Se realizó el registro de temperatura y humedad relativa durante el desarrollo del cultivo con ayuda de un termohigrómetro para establecer o inferir su efecto sobre la presencia de vectores, así como en la incidencia y severidad de ZC-PMP.

RESULTADOS

Detección de *CaLso* y *CaPhy* por PCR en tubérculo-semilla de papa y en insectos.

No se detectó mediante PCR-punto final a los patógenos *CaLso* y *CaPhy* en los tubérculos utilizados para la siembra. De esta manera, se considera que se cumplió con una de las estrategias de manejo del complejo ZC-PMP que es el uso de tubérculo-semilla libre de patógenos. En los insectos recolectados en maleza previo al establecimiento del estudio en campo, tampoco se detectó la presencia de *CaLso* ni de *CaPhy*.

Detección de *CaLso* y *CaPhy* durante el ciclo de cultivo.

No se detectó presencia de *CaLso* ni de *CaPhy* mediante PCR punto final a partir del ADN extraído de muestras de plantas de papa colectadas a 40 y 70 DDS. Tampoco se detectó *CaLso* ni *CaPhy* en el ADN extraído de insectos adultos recolectados a 40 DDS en diferentes tratamientos evaluados. Sin embargo, si se detectó *CaLso* a partir del ADN extraído de psílidos adultos colectados a 70 DDS. Ninguno de los dos patógenos fueron detectados en

RESULTS

Detection of *CaLso* and *CaPhy* by PCR in potato seed tuber and insects

The pathogens *CaLso* and *CaPhy* were not detected by endpoint PCR in the tubers used for planting. In this way, it is considered that one of the management strategies of the ZC-PTP complex was fulfilled, which is the use of pathogen free tuber-seed. In the insects collected in weeds prior to the establishment of the field study, the presence of *CaLso* or *CaPhy* was not detected either.

Detection of *CaLso* and *CaPhy* during the crop cycle

The presence of *CaLso* or *CaPhy* was not detected by endpoint PCR from the DNA extracted from the potato plant samples collected at 40 and 70 DAS. Neither *CaLso* nor *CaPhy* was detected in the DNA extracted from adult insects collected at 40 DAS in the different treatments evaluated. However, *CaLso* was detected from DNA extracted from adult psyllids collected at 70 DAS. Neither of the two pathogens were detected in eggs and nymphs of the insect on all sampling dates. (Figure 1).

Detection of *CaLso* and *CaPhy* in tubers

The detection of *CaLso* in the tubers collected at harvest was positive in the three treatments evaluated. However, the presence of *CaPhy* was not detected in any of the tubers analyzed (Figure 2), which allows us to infer that the psyllid, is efficient in the transmission of the bacteria, but is not efficient in the transmission of the phytoplasma.

huevecillos y ninfas del insecto en todas las fechas de muestreo (Figura 1).

Detección de *CaLso* y *CaPhy* en tubérculos

La detección de *CaLso* en los tubérculos recolectados a la cosecha fue positiva en los tres tratamientos evaluados. Sin embargo, no se detectó la presencia de *CaPhy* en ninguno de los tubérculos analizados (Figura 2), lo cual permite inferir que el psílido es eficiente en la transmisión de la bacteria, pero no lo es para la transmisión del fitoplasma.

Incidence and severity of ZC-PMP in tubers

At harvest, an incidence of 13, 16 and 7% of *CaLso* and a severity of 37.8, 36.2 and 8% were recorded in the tubers harvested for T1 (Sustainable Treatment), T2 (Business Treatment) and T3 (Conventional Treatment) respectively (Figure 3). These results allow us to infer a control of the ZC-PTP complex of 93, 87 and 84% in T3, T1 and T2 respectively.

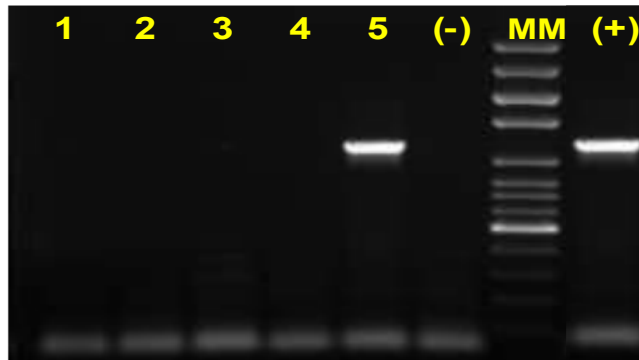


Figura 1. Detección de *CaLso* por PCR punto final a partir del ADN extraído de huevos, ninfas y adultos de *B. cockerelli* colectados a los 70 DDS. Carril (MM): Marcador de peso molecular 1 Kb, Carril (+): Control positivo (669 pb), Carril (-): Control negativo, Carril 1: Ninfas colectadas en el tratamiento sustentable, Carril 2: Ninfas colectadas en el tratamiento empresarial, Carril 3: Ninfas colectadas en el tratamiento comercial, Carril 4: Muestra compuesta de huevecillos, Carril 5: Muestra compuesta de 10 adultos.

Figure 1. Detection of *CaLso* by endpoint PCR from DNA extracted from eggs, nymphs and adults of *B. cockerelli* collected at 70 DAS. Lane (MM): 1 Kb molecular weight marker, Lane (+): Positive control (669 bp), Lane (-): Negative control, Lane 1: Nymphs collected in the sustainable treatment, Lane 2: Nymphs collected in the treatment business, Lane 3: Nymphs collected in the commercial treatment, Lane 4: Sample composed of eggs, Lane 5: Sample composed of 10 adults.

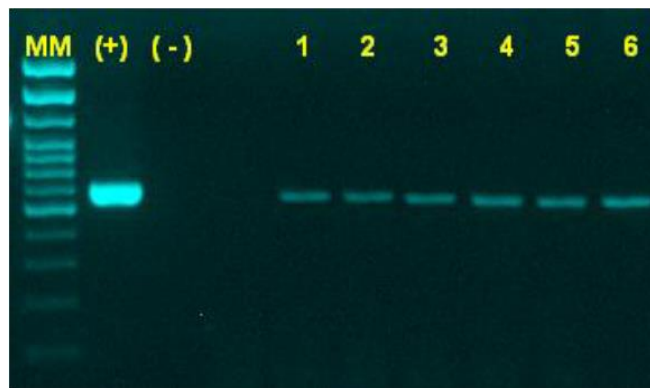


Figura 2. Detección de *CaLso* por PCR punto final a partir del ADN extraído de tubérculos. Carril MM: Marcador de peso molecular 1 Kb, Carril (+): Control positivo (669 pb), Carril (-): Control negativo, Carriles 1 y 2: Tubérculos colectados en el tratamiento sustentable, Carriles 3 y 4: Tubérculos colectados en el tratamiento empresarial, Carriles 5 y 6: Tubérculos colectados en el tratamiento comercial.

Figure 2. Detection of *CaLso* by endpoint PCR from DNA extracted from tubers. Lane MM: 1 Kb molecular weight marker, Lane (+): Positive control (669 bp), Lane (-): Negative control, Lanes 1 and 2: Tubers collected in the sustainable treatment, Lanes 3 and 4: Tubers collected in the business treatment, Lanes 5 and 6: Tubers collected in the commercial treatment.

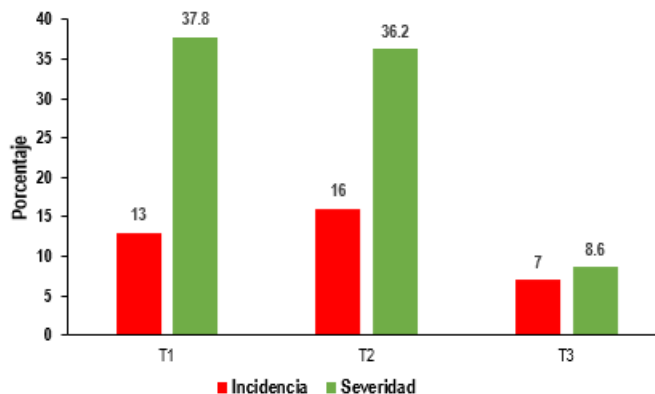


Figura 3. Porcentaje de incidencia y severidad de síntomas de ZC - PMP en tubérculos de papa en el tratamiento sustentable (T1), tratamiento empresarial (T2) y tratamiento comercial (T3).

Figure 3. Percentage of incidence and severity of ZC - PTP symptoms in potato tubers in the sustainable treatment (T1), business treatment (T2) and commercial treatment (T3).

Incidencia y severidad de ZC - PMP en tubérculos

A la cosecha se registró una incidencia del 13, 16 y 7% de *CaLso* y una severidad del 37.8, 36.2 y 8% en los tubérculos cosechados para el T1 (Tratamiento sustentable), T2 (Tratamiento empresarial) y T3 (Tratamiento convencional) respectivamente (Figura 3). Estos resultados permiten inferir un control del complejo ZC-PMP del 93, 87 y 84% en el T3, T1 y T2 respectivamente.

Comportamiento de temperatura y humedad relativa durante el ciclo de cultivo

La temperatura promedio diaria registrada en la zona de estudio durante el desarrollo del cultivo fue de 13 °C, y una humedad relativa promedio del 80%. Estos valores de temperatura y humedad relativa pudieron tener influencia en la baja densidad poblacional del psílido, ya que se requieren temperaturas promedio más altas (25 °C), para que se incrementen las poblaciones del insecto y la eficiencia de transmisión de *CaLso* y *CaPhy*. Por la tanto, al existir baja concentración de los patógenos en las plantas, la incidencia de los síntomas del complejo ZC-PMP disminuye.

Costos por tratamiento

El menor costo para el manejo del complejo ZC-PMP se obtuvo con el tratamiento considerado como sustentable (T1: \$ 17 384.00), lo cual, representa una reducción del 48.3 % en comparación con el tratamiento convencional (T3: \$ 33 638.00), y del 26.1% en comparación con el tratamiento empresarial (T2: \$ 23 531.00).

DISCUSIÓN

La introducción de *CaLso* a una región se origina principalmente por el uso de semillas infectadas como lo mencionan Almeyda-León *et al.* (2008), Munyaneza *et al.* (2008), Secor *et al.* (2009), Munyaneza *et al.* (2010), Munyaneza (2012) y Bertolini *et al.* (2015). En Nueva

Behavior of temperature and relative humidity during the growing cycle

The average daily temperature recorded in the study area during crop development was 13 °C, and an average relative humidity of 80%. These values of temperature and relative humidity could have influenced the low population density of the psyllid, since higher average temperatures (25 °C) are required for the insect populations and the transmission efficiency of *CaLso* and *CaPhy* to increase. Therefore, as there is a low concentration of pathogens in plants, the incidence of ZC-PTP complex symptoms decreases.

Treatment costs

The lowest cost for the management of the ZC-PTP complex was obtained with the treatment considered sustainable (T1: \$17,384.00), which represents a reduction of 48.3% compared to the conventional treatment (T3: \$33,638.00) and 26.1% compared to the business treatment (T2: \$23,531.00).

DISCUSSION

The introduction of *CaLso* to a region originates mainly from the use of infected seeds as mentioned by Almeyda-León *et al.* (2008), Munyaneza *et al.* (2008), Secor *et al.* (2009), Munyaneza *et al.* (2010), Munyaneza (2012) and Bertolini *et al.* (2015). In New Zealand Pitman *et al.* (2011) report that the transmission of *CaLso* from tuber seed to plant is feasible. To rule out infection of the tuber used as seed by *CaLso* and *CaPhy*, endpoint PCR analyzes were performed and it was confirmed that the plant material used as seed was free of the pathogens. Rondon *et al.* (2012) point out the existence of migration of the psyllid from the surrounding areas towards the newly emerged crop, for this reason, before sowing, monitoring was carried out on host plants such as *Baccharis salicifolia*, located at the edge of

Zelanda Pitman *et al.* (2011) reportan que la transmisión de *CaLso* de semilla tubérculo a planta es factible. Para descartar la infección del tubérculo utilizado como semilla por *CaLso* y *CaPhy*, se realizaron análisis de PCR punto final y se corroboró que el material vegetal utilizado como semilla estaba libre de los patógenos. Rondon *et al.* (2012) señalan la existencia de migración del psílido de las zonas aledañas hacia el cultivo recién emergido, por esta razón, antes de la siembra se realizaron monitoreos en plantas hospederas como *Baccharis salicifolia*, ubicadas en el borde de las parcelas y se registró la presencia de *B. cockerelli*, pero no se detectó a *CaLso* ni a *CaPhy* en los insectos colectados. A los 40 DDS, se realizó un muestreo directo en las parcelas de estudio para recolectar huevos, ninfas y adultos de *B. cockerelli*, así como folíolos de la planta para detectar mediante PCR punto final la presencia de *CaLso* y *CaPhy* en el psílido y en la planta, con resultados negativos de la presencia de los patógenos en ambos casos. Al respecto se sabe que la presencia de *CaLso* y *CaPhy* en una región o cultivo, depende de la presencia del psílido, así como de la abundancia o concentración del inóculo dentro del mismo (Goolsby *et al.* 2012). En virtud a lo anterior, se puede inferir que al menos a los 40 DDS, la población colectada del insecto correspondía a generaciones propias de la zona del cultivo, las cuales fueron negativas en su análisis para la detección de los patógenos antes de la siembra. A los 70 DDS, se confirmó la presencia de *CaLso* en adultos de *B. cockerelli*, pero no se detectó en huevos y ninfas, esto probablemente fue debido a que los psíldos infectivos provenían de cultivos aledaños ocasionando la infección por el complejo ZC-PMP en las parcelas de estudio, este tipo de eventos son la causa de la dispersión sustancial de algunas enfermedades como lo reportaron Henne *et al* en 2012. Se conoce que los adultos son más eficientes para la transmisión de la bacteria que las ninfas en sus diferentes estadios (Buchman *et al.*, 2001; Cooper *et al.*, 2014), esto se puede deber a que los adultos tienen la capacidad de emigrar de plantas infectadas a plantas sanas de las cuales se alimentan, generando una transmisión horizontal como lo mencionan Munyaneza en 2012, Haapalainen en 2014 y Ciubotaru *et al* en 2018. Lo anterior, se corroboró en este estudio, ya que tanto los huevos como las ninfas colectadas en las parcelas de estudio a los 70 DDS no presentaron la presencia de *CaLso*, pero si en los adultos, probablemente provenientes de cultivos u otros hospederos infectados. Este tipo de evento es lo que causa la adquisición y dispersión de la enfermedad tal y como ocurrió en este trabajo, corroborando lo que mencionan Pitman *et al.* (2011) y Palomo *et al.* (2017). La falta de expresión de síntomas en la planta durante las primeras etapas de desarrollo del cultivo, probablemente se debió a la baja densidad poblacional del psílido, y a la ausencia del patógeno en el insecto. Lo anterior, puede estar asociado a las condiciones climáticas presentes en la zona de estudio durante las etapas tempranas del cultivo (temperaturas promedio de 13 °C y 80% de humedad relati-

the plots and the presence of *B. cockerelli* was recorded, but *CaLso* and *CaPhy* were not detected in the collected insects. At 40 DAS, direct sampling was carried out in the study plots to collect eggs, nymphs and adults of *B. cockerelli*, as well as leaflets of the plant to detect by endpoint PCR the presence of *CaLso* and *CaPhy* in the psyllid and in the plant, with negative results for the presence of pathogens in both cases. In this regard, it is known that the presence of *CaLso* and *CaPhy* in a region or crop depends on the presence of the psyllid, as well as the abundance or concentration of the inoculum within it (Goolsby *et al.* 2012). Based on the above, it can be inferred that at least at 40 DAS, the collected population of the insect corresponded to generations typical of the crop area, which were negative in their analysis for the detection of pathogens before sowing. At 70 DAS, the presence of *CaLso* was confirmed in adults of *B. cockerelli*, but it was not detected in eggs and nymphs, this was probably because the infective psyllids came from nearby crops, causing infection by the ZC-PMP complex in study plots, these types of events are the cause of the substantial spread of some diseases as reported by Henne *et al* in 2012. It is known that adults are more efficient at transmitting the bacteria than nymphs in their different stages (Buchman *et al.*, 2001; Cooper *et al.*, 2014), this may be due to the fact that adults have the ability to emigrate from infected plants to healthy plants on which they feed, generating horizontal transmission as mentioned by Munyaneza (2012), Haapalainen (2014) and Ciubotaru *et al.* (2018). The above was corroborated in this study, since both the eggs and nymphs collected in the study plots at 70 DAS did not present the presence of *CaLso*, but they did in the adults, probably coming from crops or other infected hosts. This type of event is what causes the acquisition and spread of the disease as occurred in this work, corroborating what Pitman *et al.* (2011) and Palomo *et al.* (2017) mention.

The lack of expression of symptoms in the plant during the first stages of crop development was probably due to the low population density of the psyllid, and the absence of the pathogen in the insect. The above may be associated with the climatic conditions present in the study area during the early stages of cultivation (average temperatures of 13 °C and 80% relative humidity). In this regard, Workneh *et al.* (2010) indicate that *CaLso* decreases its reproduction at temperatures below 15 °C, which coincides with the low concentration of the bacteria recorded in this work, both in the psyllid and in the plant at 40 DAS. The EPPO (2009), Munyaneza *et al.* (2011), Beltrán *et al.* (2015) and Contreras-Rendón *et al.* (2016) mention that the delay in symptom expression is generated by the viability of the plant in the translocation and distribution of the bacteria within the vascular tissue, depending on its growth. These conditions are considered a significant factor in the low population density recorded for *B. cockerelli* since it requires 15 to 30 days to complete a cycle. Regarding the same, Gómez *et al.* (2008) and EPPO (2013) point out that *B. cockerelli* requires 336 heat units to complete a cycle, which, for the area were

va). Al respecto, Workneh *et al.* (2010), indican que *CaLso* disminuye su reproducción a temperaturas por debajo de los 15 °C, lo cual coincide con la baja concentración de la bacteria registrada en este trabajo, tanto en el psílido como en la planta a los 40 DDS. La EPPO (2009), Munyaneza *et al.* (2011), Beltrán *et al.* (2015) y Contreras-Rendón *et al.* (2016), mencionan que el retardo de expresión de síntomas se genera por la viabilidad de la planta en la translocación y distribución de la bacteria dentro del tejido vascular, en función al crecimiento de la misma. Estas condiciones se consideran como un factor significativo en la baja densidad poblacional registrada para *B. cockerelli* ya que requiere de 15 a 30 días para completar un ciclo. Sobre lo mismo Gómez *et al.* (2008) y la EPPO (2013) señalan que *B. cockerelli* requiere de 336 unidades calor para completar un ciclo, las cuales, para la zona se obtuvieron en 25 días, teniendo como base una temperatura mínima de 7 °C y máxima de 35 °C con humedad relativa entre 60 y 70%. En general, los tiempos en la expresión de los síntomas están muy relacionados con los factores involucrados con el crecimiento y desarrollo tanto de plantas como de insectos y con la capacidad del vector para poder transmitir al patógeno. Por esta razón, los síntomas se expresaron con mayor magnitud en los tubérculos, y se asume que la infección se llevó a cabo posterior a los 70 DDS por psíldos infectados provenientes de zonas aledañas, como lo mencionan Palomo *et al.* (2017) y Pitman *et al.* (2011).

Para el control Beltrán *et al.* (2015) y Flores-Olivas (2013) señalan que las aplicaciones de productos inductores de resistencia, como las Alcamidas y microorganismos como *Bacillus* spp. activan rutas enzimáticas relacionadas con respuestas de defensa en las plantas, incrementando los niveles de Fenilalanina Amonio Liase (PAL), Peroxidasa (POD), proteínas totales y fenoles totales, entre otros compuestos. Mientras que Beltrán *et al.* (2015) mencionan que las alcamidas presentan una capacidad elícitora en la activación de señales de defensa en contra de *Candidatus Liberibacter solanacearum* mostrando un aumento en la expresión de genes como JAZ, PR1, MYC2 y TGA involucrados en la biosíntesis de ácido jasmónico y ácido salicílico. De esta manera, se puede inferir que los resultados obtenidos en este trabajo en relación a la expresión de los síntomas y severidad de ZC-PMP, están asociados a la presencia del vector infectivo y a la concentración de *CaLso* en las plantas. Esto último, influenciado por las condiciones climáticas prevalecientes principalmente durante las primeras etapas del desarrollo del cultivo y por las aplicaciones de insecticidas, microorganismos e inductores de resistencia. Si bien es cierto que los valores más bajos, tanto en la expresión de los síntomas como en la severidad de pardeamiento del tubérculo fue menor en el tratamiento convencional del productor, la aplicación de inductores de resistencia combinada con la aplicación de microorganismo e insecticidas, se constituye como una alternativa para el manejo sustentable del complejo ZC-PMP a nivel comercial,

obtained in 25 days, based on a minimum temperature of 7°C and maximum of 35 °C with relative humidity between 60 and 70%. In general, the timing of symptom expression is closely related to the factors involved in the growth and development of both plants and insects and the ability of the vector to transmit the pathogen. For this reason, the symptoms were expressed with greater magnitude in the tubers, and it is assumed that the infection took place after 70 DAS by infected psyllids from surrounding areas, as mentioned by Palomo *et al.* (2017) and Pitman *et al.* (2011). For the control, Belt ran *et al.* (2015) and Flores-Olivas (2013) point out that the applications of resistance-inducing products, such as Alcamidas and microorganisms such as *Bacillus* spp., activate enzymatic pathways related to defense responses in plants, increasing the levels of Phenylalanine Ammonium Lyase (PAL), Peroxidase (POD), total proteins and total phenols, among other compounds. While Beltrán *et al.* (2015) mention that alkamides present an eliciting capacity in the activation of defense signals against *Candidatus Liberibacter solanacearum*, showing an increase in the expression of genes such as JAZ, PR1, MYC2 and TGA involved in the biosynthesis of jasmonic acid and salicylic acid. In this way, it can be inferred that the results obtained in this work in relation to the expression of symptoms and severity of ZC-PTP are associated with the presence of the infective vector and the concentration of *CaLso* in the plants.

The latter, influenced by the prevailing climatic conditions mainly during the first stages of crop development and by the applications of insecticides, microorganisms and resistance inducers. Although it is true that the lowest values, both in the expression of symptoms and in the severity of tuber browning, were lower in the conventional treatment of the producer, the application of resistance inducers combined with the application of microorganisms and insecticides, was constitutes as an alternative for the sustainable management of the ZC-PTP complex at a commercial level, since an 87% reduction in the expression of symptoms and production with acceptable quality for marketing is obtained. In addition, the number of applications of synthetic insecticides is significantly reduced, lowering cultivation costs by up to 48.3% in relation to the traditional producer management and reducing damage to the environment.

CONCLUSIONS

Based on the results obtained, it can be inferred that the management of the ZC-PTP complex in potato crops at a commercial level is very feasible through the combined use of resistance inducers, microorganisms and synthetic products, since commercial production obtained is acceptable and the cost of cultivation is significantly reduced by reducing insecticide applications.

ya que se obtiene una reducción del 87% en la expresión de síntomas y una producción con calidad aceptable para su comercialización. Además, se reduce de forma significativa el número de aplicaciones de insecticidas sintéticos, bajando los costos del cultivo hasta en un 48.3% en relación al manejo tradicional del productor y se disminuye el daño al medio ambiente.

CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos, se puede inferir que el manejo del complejo ZC-PMP en siembras de papa a nivel comercial es totalmente factible mediante el uso combinado de inductores de resistencia, microorganismos y productos sintéticos, ya que se obtiene producción con calidad comercial aceptable y además se reduce significativamente el costo de cultivo al disminuir las aplicaciones de insecticidas.

REFERENCIAS

- Almeyda-León I.H., Sánchez-Salas, J.A. and Garzón-Tiznado, J.A. 2008. Vectores causantes de punta morada de la papa en Coahuila y Nuevo León, México. *Agricultura Técnica en México* 34: 141-150.
- Bai, X., Zhang, J., Ewing, A., Miller, S.A., Jancso, R.A. and Shevchenko, D.V. 2006. Living with genome instability: The adaptation of phytoplasmas to diverse environments of their insect and plant hosts. *Journal of Bacteriology* 188: 3682-3696.
- Beltrán, B.M., Cerna, C.E.C., Delgado. O.J.C. and Ochoa, F.Y.M. 2015. Evaluación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes* (A. Gray) SF Blake sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). *Investigación y Ciencia* 23: 12-15.
- Bertolini, E., Teresani, G.R., Loiseau, M., Tanaka, F.A.O., Barbé, S. and Martínez, C. 2015. Transmission of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ in carrot seeds. *Plant Pathology* 64: 276-285.
- Buchman, J.L., Sengoda. V.G. and Munyaneza, J.E. 2001. Vector transmission efficiency of *Liberibacter* by *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in zebra chip potato disease: effects of psyllid life stage and inoculation access period. *Journal Economic Entomology* 104(5): 1486-1495.
- 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: 87-111.
- Ciubotaru, R.M., Cortiñas, A.J., Oyedele, J., Parnell, S., Schrader, G. and Zancanaro, G. 2018. Work-plan and methodology for EFSA to develop plant pest survey guidelines for EU Member States. *EFSA Support Publ.* 15(3): 1399E.
- Conrath, U. 2006. Systemic Acquired Resistance. *Plant Signaling & Behavior* 1:4, 179-184.
- Contreras-Rendón, A., Gutiérrez-Ibáñez, A.T., Silva-Rojas, H.V., Sánchez-Pale, J.R., Laguna-Cerda, A. and Ramírez-Dávila, J.F. 2016. Distribución Espacial de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) en Papa (*Solanum tuberosum* L.). *BioOne* 41(1):105-114.
- Cooper, W.R., Sengoda, V.G. and Munyaneza, J.E. 2014. Localization of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ (Rhizobiales: Rhizobiaceae) in ‘*Bactericera cockerelli*’ (Hemiptera: Triozidae). *Annals of the Entomological Society of America* 107(1): 204-210.
- Crosslin, J.M. and Bester, G. 2009. First report of ‘*Candidatus Liberibacter psyllauros*’ in zebra chip symptomatic potatoes from California. *Plant Disease* 93(5): 551-551.
- Davis, R.E., Jomantiene, R. and Zhao, Y. 2005. Lineage-specific decay of folate biosynthesis genes suggests ongoing host adaptation in phytoplasmas. *ADN Cell Biology* 24: 832-840.
- Delgado-Ortiz, J.C., Beltrán-Beache, M., Cerna-Chávez, E., Aguirre-Urbe, L.A., Landero-Flores, J., Rodríguez-Pagaza, Y. and Ochoa-Fuentes, Y.M. 2019. *Candidatus Liberibacter solanacearum* patógeno vascular de solanáceas: Diagnóstico y control. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas* 22. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.177>
- Dellaporta, S.L., Wood, J. and Hicks, J.B. 1983. A plant DNA minipreparation: version II. *Plant molecular biology reporter* 1: 19-21.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant ADN from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Flores-Olivas, A. 2013. Etiología, detección molecular y manejo integrado del síndrome de la punta morada de la papa en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 31: 8-9.

- EPPO. 2009. Report of a Pest Risk Analysis for *Candidatus Liberibacter solanacearum* in Solanaceae and its vector *Bactericera cockerelli*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Order 12-18190.
- EPPO. 2013. 'Candidatus Liberibacter solanacearum'. European and Mediterranean Plant Protection Organization. EPPO bulletin 43(2): 197-201.
- Gómez, R.M., Santamaría, C.E., Méndez, R.J.S., Ríos, F.J.L., Hernández, S.J.R. and Méndez, P.J.G. 2008. Evaluación de insecticidas alternativos para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* B. y L.) (Homoptera: Triozidae) en el cultivo de chile jalapeño. Revista Chapingo 76: 47-56.
- González, C.A., Villavicencio, G.E.E., Torres, T.M.A., Zamora, V.V.M. and Almeyda, L.I.H. 2014. Efecto de antioxidantes y señalizadores en plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) infectadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum* bajo condiciones de invernadero. Revista Colombiana de Biotecnología 16: 114-121.
- Goolsby, J.A., Adamczyk, J.J., Crosslin, J.M., Troxclair, N.N., Anciso, J.R., Bester, G.G., Bradshaw, J.D., Bynum, E.D., Carpio, L.A., Henne, D.C., Joshi, A., Munyaneza, J.E. Porter, P., Sloderbeck, P.E., Supak, J.R., Rush, C.M., Willett, F.J. Zechmann, B.J. and Zens, B.A. 2012. Seasonal population dynamics of the potato psyllid (Hemiptera: Triozidae) and its associated pathogen "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in potatoes in the southern Great Plains of North America. Journal of Economic Entomology 103: 1060-1070.
- Haapalainen, M. 2014. Biology and epidemics of *Candidatus Liberibacter* species, psyllid-transmitted plant-pathogenic bacteria. Annals of Applied Biology 165(2): 172-198. <https://doi.org/10.1111/aab.12149>.
- Henne, D.C., Workneh, F. and Rush, C.M. 2012. Spatial patterns and spread of potato zebra chip disease in the Texas Panhandle. Plant Disease 96: 948-956.
- Hernández, G.V., Salas, M.M.A., Frías, T.G.A., Aguirre, U.L.A., Flores, O.A. y Almeyda L.I.H. 2018. Importancia de la Semilla-Tubérculo y la Maleza *Lycium berlandieri* (Dunal) para la Epidemia de Punta Morada de la Papa. Revista Bio Ciencias. 5(2), e442. doi: 10.15741/revbio.05.02.09.
- Infante, D., Martínez, B., González, N. and Yusimy, R. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos Fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal 24(1): 14-16.
- Lyon, G.D. and Newton, A.C. 1999. Implementation of elicitor mediated induced resistance in agriculture. Induced plant defenses against pathogens and herbivores: biochemistry, ecology, and agriculture: 299-318.
- Marcone, C., Neimark, H., Ragozzino, A., Lauer, U. and Seemüller, E. 1999. Chromosome sizes of phytoplasmas comparing major phylogenetic groups and subgroups. Phytopathology 89: 805-810.
- Melgoza, V.C.M., León, S.C.R., López, V.J.A., Hernández, E.L.A., Velarde, F.S. and Garzón, T.J.A. 2018. Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en *Bactericera cockerelli* Sulc asociada con enfermedades en tomate, chile y papa. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 9(3): 499-509.
- Munyaneza, J.E., Crosslin, J.M. and Upton, J.E. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip", a new potato disease in southwestern United States and Mexico. Journal of Economic Entomology 100: 656-663.
- Munyaneza, J.E., Buchman, J.L., Upton, J.E., Goolsby, J.A., Crosslin, J.M. and Bester, G. 2008. Impact of different potato psyllid populations on zebra chip disease incidence, severity, and potato yield. Subtropical Plant Science 60: 27-37.
- Munyaneza, J.E., Fisher, T.W., Sengoda, V.G., Garczynski, S.F., Nissinen, A. and Lemmetty, A. 2010. Association of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" with the psyllid *Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Europe. Journal of Economic Entomology 103: 1060-1070.
- Munyaneza, J.E., Buchman, J.L., Sengoda, V.G., Fisher, T.W. and Pearson, C.C. 2011. "Susceptibility of Selected Potato Varieties to zebra chip potato disease. American Journal of Potato Research 88(5): 435-440.
- Munyaneza, J.E. 2012. Zebra Chip Disease of Potato: Biology, Epidemiology, and management. American Journal Potato Research 89: 329-350.
- Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., Arpigny, J.L. and Thonart, P. 2007. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. Environmental microbiology, 9(4): 1084-1090.
- Oshima, K., Maejima, K. and Namba, S. 2013. Genomic and evolutionary aspects of phytoplasmas. Frontiers in Microbiology 4: 230. doi: 103389/fmicb.2013.00230.
- Palomo, J.L., Siverio, F. and Cubero, J. 2017. *Candidatus Liberibacter*: agentes causales de enfermedades importantes en cultivos de interés en España. Fitopatología. Publicación Oficial de Sociedad Española de Fitopatología. 15-22.
- Pitman, A.R., Drayton, G.M., Kraberger, S.J., Gent, R.A. and Scott, Aw. 2011. Tuber transmission of *Candidatus Liberibacter solanacearum* and its association with zebra chip on potatoe in New Zealand. European Journal of Plant Pathology 129: 389.
- Rojas-Solís, D., Contreras-Pérez, M. and Santoyo, G. 2013. Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*. Biológicas 15(2): 36-41.
- Rondon, S.I., Schreiber, A., Jensen, A., Hamm, P.B., Munyaneza, J.E., Nolte, P., Olsen, N., Wenninger, E., Henne, D. and Wohleb, C. 2012. Potato psyllid vector of zebra chip disease in the Pacific Northwest: biology, ecology, and management. PNW 633: 1-8.
- Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M.D.C. and Govindappa, M. 2012. Mechanisms of biocontrol and plant growth-

- promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontrol Science and Technology* 22(8): 855-872.
- Secor, G.A., Rivera, V.V., Abad, J.A., Lee, I.M., Clover, G.R.G. and Liefing, L.W. 2009. Association of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” with zebra chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy and PCR. *Plant Disease* 93: 574–583.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-041-FITO-2002, Requisitos y especificaciones fitosanitarios para la producción de material propagativo asexual de papa. http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=698254&fecha=04/03/2003. Fecha de consulta 16 de noviembre de 2021.
- SIAP. 2020. Panorama Agroalimentario 2020. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Ciudad de México, México. 200 p. <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf>. Fecha de consulta 13 de diciembre 2021.
- Workneh, F., Henne, D.C., Paetzold, L., Harveson, R.M., Bradshaw, J.D. and Rush, C.M. 2010. Status of Regional Zebra Chip Incidence in 2010 and Temperature Effect under Controlled Conditions. 2010 Zebra Chip Reporting Session 10.
- Zaynab, M., Fatima, M., Abbas, S., Sharif, Y., Umair, M., Zafar, M.H, and Bahadar, K.2018. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial pathogenesis* 124: 198-202.