



CONVENIO ESPECÍFICO DE COLABORACIÓN QUE CELEBRAN: POR UNA PARTE, LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO, A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS REPRESENTADA POR SU DIRECTOR M. EN F. ARTEMIO BALBUENA MELGAREJO; Y POR OTRA, LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO, REPRESENTADA SU RECTOR DR. JORGE GALO MEDINA TORRES; A QUIENES EN LO SUCESIVO, SE LES DENOMINARÁ COMO "LA FACULTAD" Y "LA EJECUTORA", AL TENOR DE LOS ANTECEDENTES, DECLARACIONES Y CLÁUSULAS SIGUIENTES:

ANTECEDENTES

Chihuahua es un estado importante en cuanto a la producción de semilla tubérculo de buena calidad fitosanitaria. Una de las razones por las que esta región es adecuada para la producción de semilla es la baja incidencia de Punta Morada de la Papa (PMP); sin embargo los productores están preocupados por el desconocimiento de la situación actual de esta importante plaga en el Estado y sobre todo en la región productora de semilla tubérculo. En varias regiones paperas de México, la PMP o Zebra Chip, es la principal limitante de la producción de éste cultivo. Incidencias de hasta 100% han sido comunes en variedades susceptibles y ciclos de cultivo con condiciones propicias para la enfermedad, lo que redundo en pérdidas cuantiosas y mala calidad provocada por la infección y manchado de los tubérculos que los hace inadecuados para la industria y para uso como semilla.

La ejecutora, por su parte tiene entre sus propósitos generar y transferir tecnología y realiza investigación para generar estrategias de manejo fitosanitario en el cultivo de papa, para reducir pérdidas y tener mejor calidad en la cosecha.

DECLARACIONES

I. DE "LA FACULTAD"

1. Que la Universidad Autónoma del Estado de México, es un organismo público descentralizado, con personalidad jurídica y patrimonio propios, dotado de plena autonomía, en su régimen interior, de conformidad con lo que disponen los artículos 5º párrafo séptimo de la Constitución Política del Estado Libre y Soberano de México, y 1º de su Ley aprobada por Decreto número 62 de la LI Legislatura Local, publicada en la Gaceta del Gobierno del día 3 de marzo de 1992.  
Que con fundamento en los artículos 17 de la Ley de la Universidad Autónoma del Estado de México, 71 y 76 fracciones I del Estatuto Universitario, para el cumplimiento de sus funciones académicas y fines, la Máxima Casa de Estudios cuenta con Organismos Académicos, dentro de los cuales se encuentran la Facultad de Ciencias Agrícolas, suscribiente del presente.



*Artemio*

*[Handwritten mark]*

*[Handwritten signature]*



3. Que "LA FACULTAD" es organismo académico, que tiene como fines: formar profesionales, realizar investigaciones y extender los beneficios de la cultura en el área de ciencias agrícolas; planear, organizar, definir, impartir, vigilar y evaluar los estudios de licenciatura, así como promover y llevar a cabo actividades de difusión cultural y extensión universitaria.
4. Que el M. en F. Artemio Balbuena Melgarejo, fue nombrado por el H. Consejo Universitario en su sesión ordinaria celebrada el día 29 de junio de 2010, como Director de la Facultad, con las facultades y obligaciones establecidas en la legislación universitaria y quien cuenta con el mandato especial que lo autoriza para suscribir el presente convenio, otorgado por el M. en C. Eduardo Gasca Pliego, Rector de la Universidad Autónoma del Estado de México.
5. Que señala como domicilio el ubicado en El Cerrillo Piedras Blancas, código postal 50200, Toluca de Lerdo, Estado de México.
6. Que están interesados en aprovechar la experiencia que tiene "LA EJECUTORA" en investigación sobre la enfermedad de Punta Morada de la Papa, para evaluar el Muestreo y Monitoreo de Insectos vectores y su relación con esta epidemia causada por Fitoplasmas y Ca. Liberibacter psyllaourous en la zona de Casas Grandes, Chihuahua.

## II. DE "LA EJECUTORA"

1. Es un Organismo Público Descentralizado del Gobierno Federal, con autonomía, personalidad jurídica y patrimonio propio, de conformidad con su Ley Orgánica emitida por el Congreso General de los Estados Unidos Mexicanos, publicada en el Diario Oficial de la Federación de fecha 26 de abril de 2006, con los siguientes objetivos contemplados en su Capítulo 1 Artículo 3º:
  - a) Impartir educación y formar recursos humanos en las diferentes áreas y niveles, en el campo de las ciencias agrarias y en otras que la sociedad requiera, buscando que desarrollen el juicio crítico, la vocación humanista, los valores democráticos y los principios nacionales, y que resulten capaces de contribuir a la solución de los problemas del país en general y de su medio rural, en particular.
    - Realizar investigación en las áreas de su competencia, cuyos resultados favorezcan al desarrollo sustentable – tecnológico, social, económico y ecológico –, atendiendo a las especialidades regionales; y
    - Preservar, promover, investigar y acrecentar la cultura, la ciencia y la tecnología en general, y en forma particular, las que se relacionan directamente con su naturaleza y misión de servicio, dentro de un proceso de

*Handwritten signature*

*Handwritten signature*

2. Vigilar la debida aplicación de los insumos que son proporcionados a "LA EJECUTORA" de acuerdo a la metodología, practicar las inspecciones que se consideren necesarias para constatar el cumplimiento de los compromisos asumidos por "LA EJECUTORA".

3. Elaborar y suscribir el Acta de Finiquito del proyecto una vez cubiertos los objetivos, las metas y los requisitos estipulados en la metodología del Proyecto, en la que se señale que se dan por concluidos los compromisos de "LA FACULTAD" con "LA EJECUTORA" y de "LA EJECUTORA" con "LA FACULTAD" en los aspectos referentes al proyecto.

### TERCERA.- COMPROMISOS DE "LA EJECUTORA"

Para el cumplimiento del objeto del presente convenio, "LA EJECUTORA" se compromete a:

1. Realizar el Proyecto de Investigación de acuerdo con la metodología descrita.
2. Aplicar los insumos que le canalice "LA FACULTAD", única y exclusivamente para la realización del Proyecto aprobado.
3. Aplicar las aportaciones comprometidas en el Proyecto de acuerdo con los montos especificados en el Analítico del proyecto.
4. Informar a "LA FACULTAD" los avances logrados en los meses de Abril a Noviembre de 2010.
5. Al término del Proyecto, presentar un informe Técnico a "LA FACULTAD".
6. Otorgar el debido reconocimiento a "LA FACULTAD" en cualquier publicación o presentación de resultados derivados del Proyecto en eventos de carácter público, respetando el acuerdo de confidencialidad, según la Cláusula Octava.

### CUARTA.- RESPONSABLE DEL PROYECTO

✓ "LA EJECUTORA" designa al **Dr. Gustavo Alberto Frías Treviño** y al **Dr. Sergio René Sánchez Peña** corresponsables del proyecto denominado: "Muestreo y Monitoreo de Insectos Vectores y su Relación con la Epidemia de la Punta Morada de la Papa causadas por Fitoplasmas y *Ca. Liberibacter psyllaourous* en lotes de Producción de Semilla Tubérculo en Casas Grandes, Chihuahua" y será el enlace institucional con "LA FACULTAD" teniendo la obligación de supervisar el fiel cumplimiento del presente Convenio, así como presentar a "LA FACULTAD" periódicamente los informes correspondientes.

Cuad.

]

X

#### QUINTA.- ADMINISTRADOR DEL PROYECTO

"LA FACULTAD" designa al M. de F. Francisco Xavier Flores Gutiérrez como Coordinador e Ing. Ana Laura Franco Malváz como colaborador, así como Administrador Financiero del Proyecto, quien será responsable de entregar a "LA EJECUTORA" las cantidades a que se refiere la cláusula segunda y vigilar la correcta aplicación de los recursos económicos.

#### SEXTA.- RECEPCIÓN DE INFORMES Y SUSPENSIÓN DE APORTACIONES

"LA FACULTAD", tiene el derecho de solicitar en cualquier momento informes de avances técnicos, así como realizar inspecciones de campo y documentales que juzgue necesarias durante la ejecución del Proyecto; la recepción de los informes y la entrega de los recursos estipulados.

Los resultados del proyecto podrían generar nuevos campos de investigación conjunta para los cuales, de existir intereses en las partes, se elaboraran los acuerdos operativos de colaboración necesarios.

#### SÉPTIMA.- RESCISIÓN

Las partes convienen en que "LA FACULTAD" podrá en cualquier momento rescindir el presente Convenio antes del plazo pactado, cuando "LA EJECUTORA" no cumpla con cualquiera de las obligaciones a su cargo estipuladas en el presente Convenio. La cual operará de pleno derecho y sin necesidad de declaración judicial. En cuanto a los recursos económicos "LA EJECUTORA" reintegrará a "LA FACULTAD" el recurso que no se haya ejercido a la fecha de rescisión del Convenio

#### OCTAVA.- CONFIDENCIALIDAD

Las partes se comprometen a no difundir, sin autorización de la otra; las informaciones científicas, técnicas, académicas o de cualquier índole; relativas exclusivamente a procedimientos o procesos de la otra parte; y obtenidas como consecuencia del desarrollo del proyecto de investigación objeto de este convenio, mientras esas informaciones no sean del dominio público. Tanto en publicaciones, como en patentes, se respetará siempre la mención a los autores del trabajo; en resultados se hará siempre referencia especial al presente convenio.

## **NOVENA.- RELACIÓN LABORAL**

Queda expresamente estipulado que el personal designado, contratado o comisionado para la realización del objeto de este Convenio, estará bajo la dependencia directa de "LA EJECUTORA" y por lo tanto, en ningún momento se considerará a "LA FACULTAD" como patrón sustituto, ni tampoco a la "LA EJECUTORA" como intermediaria, por lo que "LA FACULTAD" no tendrá relación alguna de carácter laboral con dicho personal y consecuentemente queda liberado de cualquier responsabilidad que pudiera derivarse en materia de trabajo y seguridad social.

## **DÉCIMA.- ASUNTOS NO PREVISTOS**

Los asuntos relacionados con el objeto de este Convenio y que no se encuentren expresamente previstos en sus Cláusulas, serán resueltos de común acuerdo por las partes y las decisiones que se tomen deberán hacerse constar por escrito.

## **DÉCIMA PRIMERA.- VIGENCIA**

El presente Convenio entrará en vigor a partir de la fecha de su firma y tendrá una duración de un año, renovándose anualmente a través de un memorando de entendimiento hasta el término de la ejecución del Proyecto de acuerdo con la metodología aprobada. Cuando por causas no imputables a "LA EJECUTORA" le fuere imposible llevar a cabo la realización de alguna acción dentro del plazo establecido, las partes podrán negociar su ampliación o darlo por terminado definitivamente.

## **DÉCIMA SEGUNDA.- DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL.**

Las partes acuerdan que la titularidad de los derechos patrimoniales de las obras intelectuales que resulten del presente convenio, corresponderán a "LA FACULTAD". Ninguna de las partes publicará los resultados de los esfuerzos conjuntos sin previo consentimiento de "LA FACULTAD".

## **DÉCIMA TERCERA.- JURISDICCIÓN**

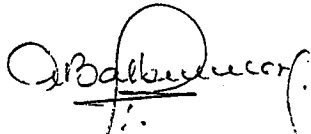
Para la interpretación, ejecución y cumplimiento del presente Convenio que no pueda resolverse de común acuerdo por las partes, éstas se someterán a la jurisdicción de los tribunales competentes de la ciudad de México Distrito Federal renunciando desde ahora a cualquier otro fuero que les pudiese corresponder en razón de sus respectivos domicilios presentes o futuros.

## DÉCIMA CUARTA.- NOTIFICACIÓN

Las partes manifiestan que para los efectos legales del presente convenio, el lugar donde se les puede notificar, son los siguientes domicilios, a "LA EJECUTORA", en las oficinas de Rectoría en el Edificio denominado "El Edificio Central Administrativo de la Universidad" en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25315 y a "La FACULTAD" en El Cerrillo Piedras Blancas, código postal 50200, Toluca de Lerdo, Estado de México.

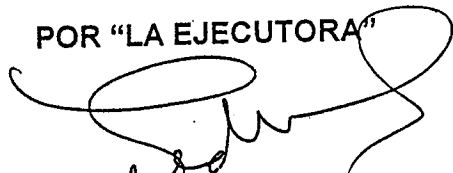
LEÍDO EL PRESENTE CONVENIO POR LAS PARTES Y ENTERADAS DE SU CONTENIDO Y ALCANCE LEGAL, LO FIRMAN POR DUPLICADO AL MARGEN DE TODAS LAS HOJAS, A EXCEPCIÓN DE LA ÚLTIMA QUE SE FIRMA AL CALCE, DE CONFORMIDAD Y PARA SU DEBIDA CONSTANCIA, CORRESPONDIENDO UN EJEMPLAR PARA CADA UNA DE ELLAS, EN LA CIUDAD DE TOLUCA DE LERDO, ESTADO DE MÉXICO, A LOS TRECE DIAS DEL MES DE SEPTIEMBRE DEL AÑO DOS MIL DIEZ.

POR "LA FACULTAD"

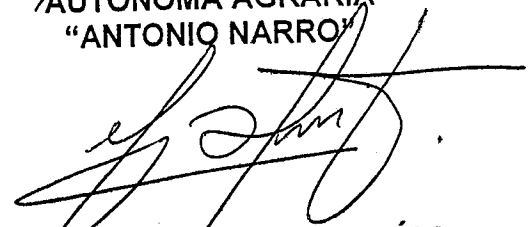


M. DE F. ARTEMIO BALBUENA  
MELGAREJO  
DIRECTOR

POR "LA EJECUTORA"



DR. JORGE GALO MEDINA TORRES  
RECTOR DE LA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"



DR. GUSTAVO ALBERTO FRÍAS  
TREVÍÑO  
RESPONSABLE DEL PROYECTO  
POR LA UNIVERSIDAD AUTONOMA  
AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"

Universidad Autónoma  
del Estado de México



Oficina del Abogado

General

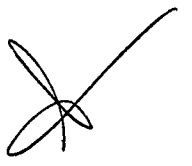
Revisado

LAS FIRMAS ANTERIORES CORRESPONDEN AL CONVENIO ESPECÍFICO DE COLABORACIÓN QUE CELEBRAN:  
LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO, A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS  
AGRÍCOLAS; Y LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO. CONSTE-----

**ANEXO "A"**

**PRESUPUESTO**

<b>CONCEPTOS</b>	<b>MONTO</b>
Consultoría UAAAN	\$200,000.00
Presupuesto de Operación y Análisis	\$97,500.00
Material varios	\$10,000.00
Gastos Administrativos UAAAN (10%)	\$30,750.00
Total del Proyecto	\$338,250.00



## ANEXO "B"

### PROTOCOLO (METODOLOGIA) EXPERIMENTAL PARA LA ZONA PAPERERA DE CASAS GRANDES, CHIHUAHUA

#### MUESTREO Y MONITOREO DE INSECTOS VECTORES Y SU RELACIÓN CON LA EPIDEMIA DE LA PUNTA MORADA DE LA PAPA CAUSADA POR FITOPLASMAS Y *Candidatus liberibacter psyllauros* EN LOTES DE PRODUCCION DE SEMILLA TUBÉRCULO EN CHIHUAHUA

##### ANTECEDENTES:

Chihuahua es un estado importante en cuanto a la producción de semilla tubérculo de buena calidad fitosanitaria. Una de las razones por las que esta región es adecuada para la producción de semilla es la baja incidencia de PMP; sin embargo los productores están preocupados por el desconocimiento de la situación que actual de esta importante plaga en el Estado y sobre todo en la región productora de semilla tubérculo. En varias regiones paperas de México, la Punta Morada de la Papa (PMP) o Zebra Chip, es la principal limitante de la producción de éste cultivo (Flores y Lira, 2008). Incidencias de hasta 100% han sido comunes en variedades susceptibles y ciclos de cultivo con condiciones propicias para la enfermedad (Flores *et al.*, 2004), lo que redundo en pérdidas cuantiosas y mala calidad provocada por la infección y manchado de los tubérculos que los hace inadecuados para la industria y para uso como semilla (García-Quijano, 1996; Cazares-Méndez *et al.*, 2004).

El agente causal de la PMP es un fitoplasma y/o una bacteria que se transmite de planta a planta por psilidos y chicharritas (Leyva *et al.*, 2002; Lee, I., *et al.*, 2006; Munyaneza, *et al.*, 2006; Munyaneza, *et al.*, 2008; Hansen, *et al.*, 2008), La especie de psilido con capacidad de transmisión de la enfermedad es *Bactericera cockerelli* Sul (Munyaneza, *et al.*, 2007; Hansen, *et al.*, 2008), mientras que las chicharritas reportadas como vectores son las especies *Macrostelles* sp. y *Empoasca* sp.

En los estados de Coahuila y Nuevo León se han encontrado evidencias de que tanto la bacteria *Liberibacter* como el fitoplasma de la punta morada están asociados a la enfermedad. Pero más allá de la etiología, se encontró que los tubérculos constituyen una importante fuente de inóculo para iniciar la epidemia de PMP y que los vectores tienen la capacidad de diseminar a la bacteria y/o al fitoplasma a una distancia de hasta 80-100 m a partir de plantas provenientes de semillas infectadas; lo que convierte al tubérculo semilla en la principal forma de ingreso de la enfermedad al cultivo, sobre todo en lugares en donde no hay malezas hospederas infectadas alrededor del cultivo (Hernández *et al.*, 2009).

Estos antecedentes nos indican que las estrategia de manejo que podamos establecer para mantener al estado de Chihuahua como una zona productora de semilla-tubérculo, podrán diseñarse y tener mejores posibilidades de éxito si se investiga y establece la prevalencia de la PMP y su etiología, la importancia de la semilla tubérculo, de las plantas mostrencas y de las malezas reservorios de la PMP/Zebra chip y su relación con la población de insectos vectores de la enfermedad.



Los objetivos de esta investigación serán:

1. Cuantificar la fluctuación poblacional de *B. cockerelli* (=Paratrioza) y Chicharritas en papa, en sus diferentes estadios, a lo largo del ciclo de cultivo.
2. Determinar presencia de *Liberibacter* y fitoplasmas, en insectos vectores y plantas de papa recolectadas en la zona productora de semilla en Chihuahua.
3. Determinar el comportamiento de la epidemia del Complejo de Punta Morada de la Papa a lo largo de la temporada de cultivo.
4. Evaluar la importancia del tubérculo semilla, plantas de papas mostrenças, malezas y migración de vectores como fuente de inóculo primario para iniciar la epidemia punta morada.

## MATERIALES Y METODOS.

El trabajo de Investigación se realizará en (lotes comerciales) de la zona productora de semilla tubérculo en el estado de Chihuahua y en el Laboratorio de Parasitología molecular de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y/o Laboratorio de Biología Molecular del CDAS. Se realizarán muestreos al inicio de la siembra de maleza aledaña, durante el ciclo de cultivo en el 2010 en lotes comerciales sembrados por productores de semilla tubérculo. Las muestras se trasladarán a la UAAAN/CDAS para su análisis.

### OBJETIVOS 1, 4.

**Muestreo de *B. cockerelli* y chicharritas durante el ciclo de cultivo e Importancia de Fuentes de Inóculo (malezas y cultivo).**

### MALEZAS:

Para los muestreos en maleza, se utilizará una red entomológica de golpeo de 30 cm de diámetro; en cada muestreo se consideraran cinco puntos al azar, en un área de aproximadamente (2 hectáreas), adjunta a un terreno programado para la producción de semilla tubérculo, dando 20 redazos en cada punto, para tener así un total de 100 redazos cada ocho días (Nava, 2002).

Se tomaran muestras de algunas malezas de las diferentes especies donde se encuentre *B. cockerelli*, para corroborar si estos son hospederos y portadores de la bacteria *Liberibacter* y el fitoplasma que causa la punta morada/zebra chip., lo cual se determinará mediante métodos diagnósticos de PCR.

Los hospederos que resulten con presencia de insectos vectores y que aun no estén reportados como positivos a *Liberibacter*/fitoplasma se identificarán y se preservarán en prensas de madera. Se clasificarán a estos hospederos como hospederos completos (todos los estadios del insecto vector) y hospederos ocasionales (donde solo se encuentre el adulto del insecto vector).

## **CULTIVO:**

### **Método Knockdown:**

Para el muestreo en el cultivo de la papa, en lotes (pivotes sembrados) en la zona de Nuevo Casas Grandes, del ciclo primavera-verano; se utilizará la técnica de Knockdown, colocando 2m<sup>2</sup> de manta blanca en el suelo, debajo de las plantas de papa, en cinco puntos tomados al azar dentro del cultivo. Y en todos los casos, para evitar que la tela se mueva por el viento, esta se afianzará al suelo con ganchos de metal que se colocaran en todas las puntas de la manta, en seguida se asperjará las plantas con un insecticida piretroide (Cipermetrina 500 CE, en la dosis comercial), dejándolo actuar por 30 minutos; pasado este tiempo, se procederá a recoger todos los insectos derribados en la tela de manta con un pincel (Vargas, C. I. 2005.).

### **Método de trampas amarilla pegajosas:**

Se colocaran 4 trampas amarillas con pegamento en cada pivote (localidad): Las trampas amarillas se colocarán a la altura de la copa del cultivo se orientarán de tal manera que reciban luz directa (Nava, 2002). El registro de las especies de insectos capturados en las trampas se llevará a cabo cada ocho días al igual que el cambio de las trampas (Zavala, 2002).

### **Inspección visual de instares ninfales de vectores en la planta.**

Se usará el método de Nava (2002) para detectar huevecillos en plantas de papa, marcando 10 de ellas por pivote y contando semanalmente los huevecillos y ninfas en las hojas de las plantas marcadas.

Considerando las similitudes entre la mosquita blanca de la hoja plateada (MBHP) y el psílido del tomate en cuanto a sus características morfológicas, biología y hábitos, de este psílido se utilizaran los planes de muestreo recomendados para adultos y ninfas de la mosquita blanca.

Antecedentes de la metodología para evaluar fluctuación poblacional de vectores de MBHP en Chile y tomate:

**Chile.** La distribución vertical de la MBHP en Chile fue determinada en 1995 en el Valle de Río Grande, Texas. En este cultivo las densidades más altas de adultos se observaron en las hojas 5 y 6 a partir de la terminal de la planta y además tuvieron baja variabilidad. Los huevecillos fueron más abundantes y menos variables en las hojas 2 a 4 de la terminal de la planta. Las densidades más altas de ninfas ocurrieron en las hojas 3 a 8 y estas posiciones de hojas tuvieron coeficientes de variación bajos. No se detectaron diferencias en los patrones de distribución de las MBHP entre variedades (Nava, 1998).

**Tomate.** La distribución vertical de la MBHP en tomate fue determinada en 1993 en el valle de Culiacán, Sin. Los huevecillos fueron más abundantes en el cuarto estrato (la planta se dividió en cinco estratos, el primero fue el basal y el quinto el terminal), las ninfas chicas se localizaron principalmente en el segundo y tercer estrato, mientras que las ninfas grandes se concentraron en el primer estrato (Avilés 1995a,b). Schuster (1998) determinó la distribución vertical de la MBHP en tomate en Florida. En este estudio se contaron los inmaduros y adultos en los tres folíolos terminales de cada hoja del tallo principal y de una rama lateral, considerando a la hoja apical como la número uno. Los

huevo-cillos, ninfas (primero a tercer instares) y "pupas" fueron más abundantes y con variación baja en las hojas de los nudos 4-6, 6-8 y 8-10, respectivamente. El tamaño de muestra mínimo no excedió de 23 y 28 hojas para ninfas y "pupas", respectivamente, a una densidad tan baja como de un inmaduro por hoja (**Se sugiere utilizar alguno de estos 2 tipos de muestreos para ninfas de este psílido**).

#### **Antecedentes (papa):**

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

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

#### **OBJETIVO 2.**

**Determinar presencia de *Liberibacter* y fitoplasmas, en *Bactericera cockerelli* Sul. y chicharritas.**

Los insectos colectados de maleza y del cultivo de la papa, se procesarán y analizarán para determinar si son portadores de los patógenos asociados a la PMP/zebra chip. Los insectos colectados se colocarán en frascos de plástico de 50 ml y se mantendrán en hieleras con refrigerante para mantener la temperatura baja (7 °C) (Nava, 2002), para mantenerlas en condiciones adecuadas para su procesamiento por PCR (Reacción en Cadena de la polimerasa).

**Detección de *Candidatus Liberibacter psyllaourous* y fitoplasmas en insectos, muestras de papa y malezas.**

La corroboración de la presencia de *Candidatus Liberibacter psyllaourous* en insectos y/o muestras de plantas a partir de los diferentes pivotes a evaluar en campo (objetivo 1,2,3,4), se realizará por la técnica de PCR.

#### **Extracción de ADN:**

La extracción de ADN y pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), se realizará en el laboratorio de Parasitología Molecular de la Universidad. La técnica de extracción de ácidos nucleicos (ADN) para las muestras, será la descrita por (Almeyda *et al.*, 2001), utilizando 250 miligramos de tejido vegetal y en insectos se utilizará 20 especímenes por muestra.

Cauf.

S



**Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).** La detección de *Liberibacter* se realizará por medio de la técnica de PCR, utilizando los siguientes iniciadores Lp16S-1F/Lp16S-1R (400 pb); Lp16S-ISRF/Lp16S-ISRR (662 pb); Lp16S-ISR 23 SF/Lp16S-ISR 23 SR (918 pb) (Hansen, *et al.*, 2008). Las PCR's se realizaron en un volumen final de 25 µl, usando 50 ng de ADN, 12.5 pMoles de cada iniciador, solución de PCR al 1X, MgCl<sub>2</sub> a 2mM, dNTP's a 200 µM y 1.5 U de Taq-Polimerasa. Las PCR's se realizaron en un termociclador MJ Research con el siguiente programa: un ciclo inicial de desnaturalización a 94 °C por tres minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineamiento a 65 °C por 30 segundos, extensión a 72 °C por un minuto y un ciclo final a 72 °C por 10 minutos. Los productos de las PCR's serán fraccionados en un gel de agarosa al 1.5 %, el cual se tñirá con bromuro de etidio (0.5 µg/ml) y visualizará en un transluminador de luz UV.

### **OBJETIVO 3.**

**Determinar presencia del Complejo de Punta Morada de la Papa a lo largo de la ciclo de cultivo.**

#### **Obtención de material vegetal**

En cada pivote, se tomaran hojas de papa síntomas o asintomáticas en forma aleatoria, los muestreos se realizará en las etapas fenológicas del cultivo surco verde, surco cerrado, floración, madurez y cosecha, tomándose 5 muestras por pivote. Para determinar la incidencia de la enfermedad se seleccionará cinco sitios al azar por pivote y en cada punto se examinara 200 m lineales del cultivo de acuerdo al procedimiento descrito en la NOM-041, (2002).

Muestreos realizados en un patrón de W, seleccionándose nueve puntos, examinándose 10 plantas/punto, teniendo un total de 90 plantas como el 100% para cada lote (Hernández *et al.*, 2009).

Para el análisis de *Liberibacter* y fitoplasma, se tomara muestras de follaje a 5 puntos, muestreando 5 plantas haciendo una muestra compuesta por punto (Hernández *et al.*, 2009).

En las dos últimas etapas fenológicas y de cada pivote, se le tomaran muestras de brotes axilares, tallos, estolones y hojas, al final del ciclo del cultivo.

Para el caso de tubérculos, se tomaran 100 papas por (lote o pivote sembrado) para su análisis (Sabritas).

Se tomara 50 tubérculos en la etapa 5, para análisis freído y análisis laboratorio, en caso de ser necesario, y 50 tubérculos adicionales al azar para prueba de freídos en campo (Sabritas).

### **OBJETIVO 4.**

**Evaluar la importancia del tubérculo semilla, plantas de papas mostrencas, malezas y migración de vectores como fuente de inóculo primario para iniciar la epidemia punta morada.**

En Invernadero:

Se establecerá una colonia de psilidos y de chicharritas en plantas de chile y papa. Los insectos ahí desarrollados libres de *Liberibacter* y fitoplasmas se transferirán a plantas de papa y malezas infectadas con *Liberibacter* y fitoplasmas. Después de un mes de alimentación en los hospederos infectados, los insectos adultos se transferirán a 20 plantas de papa de 20 días de emergidas, libres de los patógenos de la Punta Morada/Zebra Chip y se medirá el porcentaje de transmisión.

## LITERATURA REVISADA

- Avilés G., M. 1995a. Distribución vertical de la mosquita blanca, *Bemisia tabaci* (Genn.), en tomate (primera etapa). Valle de Culiacán, Sin. 1993. En: Mosquita Blanca en el Noroeste de México, Informe de investigación 1993. Memoria Científica No. 1. CEVY, CIRNO, Obregón, Son. p. 15-16.
- Avilés G., M. 1995b. Distribución vertical de la mosquita blanca, *Bemisia tabaci* (Genn.), en tomate (segunda etapa). Valle de Culiacán, Sin. 1993. En: Mosquita Blanca en el Noroeste de México, Informe de investigación 1993. Memoria Científica No. 1. CEVY, CIRNO, Obregón, Son. p. 16-17.
- Almeyda-León, I.H., Rocha-Peña, M.A., Piña-Razo, J., y Martínez-Soriano, J.P. 2001. La utilización de la reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación molecular para la detección de fitoplasmas en diferentes especies de plantas en México. Revista Mexicana de Fitopatología 19: 1-9.
- Cazares-Méndez, M. I. G., F. Jara-Alcocer., A. M. Rodríguez-Dorantes, A.m. y Cadena - Hinojosa, M. A. 2003. Comparación de patrones electroforéticos de proteínas e isoenzimas en tubérculos sanos y con síntomas de punta morada de siete variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología. 21: 102-108.
- Flores-Olivas, A., Alemán -Navarro, I. A. y M. I. Notario-Zacarías. Alternativa para el Manejo de la Punta morada de la Papa 2004. En: Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa. Eds. Flores-Olivas. A., Gallegos-Morales, G. y O. García-Martínez.
- Flores-Olivas A. y Lira-Saldivar H. 2008. Detección, diagnóstico y manejo de la punta morada de la papa. UAAAN. Ediciones Parnaso. Málaga, España. 135 p
- Hansen, A.K., Trumble, J. T., Stouthamer, R and Paine, T. D. 2008. A New Huanglongbing Species, "*Candidatus* *Liberibacter psyllaurous*," Found To Infect Tomato and Potato, Is Vected by the Psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Department of Entomology, University of California, Riverside, Riverside, California 92521. Applied and Enviromental Microbiology, Sept. 2008, p. 5862-5865 Vol. 74, No. 18.

- García-Quijano, J.R. 1996. Etiología y transmisión del obscurecimiento del tubérculo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) para industria. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 65 p.
- Leyva-López, N. E., Ochoa-Sánchez, J. C., Leal-Klevezas, D. S. y J. P. Martínez-Soriano. 2002. Múltiple phytoplasmas associated with potato diseases in México. *Canadian Journal of Microbiology*. 48: 1062-1068.
- Lee, I.-M., K. D. Bottner, G. A. Secor, and R. V. Viviana. 2006. 'Candidatus Phytoplasma americanum', a phytoplasma associated with a potato purple top wilt disease complex. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (2006), 56, 1593-1597.
- Lee, I.-M., K. D. Bottner, J. E. Munyaneza, G. A. Secor, and N. C. Gudmestad. 2004. Clover proliferation group (16SrVI) subgroup A (16SrVI-A) phytoplasma is a probable causal agent of potato purple top disease in Washington and Oregon. *Plant Dis.* 88: 429.
- Madden, L.V. 1980. Quantification of disease Progression. *Prot. Ecol.* 2:159-176.
- Munyaneza, J.E., J.M. Crosslin, and J.E. Upton. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip", a new potato disease in southwestern United States potato disease in southwestern United States and Mexico. *J. Econ. Entomol.* 100: 656-663.
- Munyaneza, J.E., Buchman, J.L., Upton, J.E., Goolsby, J., Crosslin, J., Bester, G., Miles, G.P., Sengoda, V.G. 2008. Impact of Different Potato Psyllid Populations on Zebra Chip Disease Incidence, Severity, and Potato Yield. *Subtropical Plant Science* 60:27-37.
- Nava, C.U., 2002. Muestreo, Monitoreo y Umbrales Económicos del Psillido del Tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc). Memoria, Taller sobre *Paratrioza cockerelli* (Sulc). Como Plaga y Vector de Fitoplasmas en Hortalizas. Culiacán, Sinaloa, México. Pp. 57-77.
- Nava C., U. 1998. Disposición espacial y muestreo de mosquitas blancas. *In: Temas Selectos de Manejo Integrado de la Mosquita Blanca*. Pacheco C., J. J. y F. Pacheco M. (eds.). Memoria Científica No. 6. INIFAP-CIRNO. Cd. Obregón, Son. p. 47-71.
- NOM-041-FITO-2002. Requisitos y especificaciones fitosanitarios para la producción de material propagativo asexual de papa. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, D.F. Diario Oficial de la Federación. Marzo, 2003.
- Schuster, D. J. 1998. Intraplant distribution of immature lifestages of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato. *Environ. Entomol.* 27: 1-9.

Vargas, C. I. 2005. Especies y fluctuación poblacional de cicadelidos y psilidos positivos a fitoplasma en el cultivo de la papa y malezas aledañas en Arteaga, Coahuila. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. Saltillo, Coahuila, México. 52 p.

Zavala, Q. T. E. 2002. Experiencias en el Valle de Toluca sobre Punta Morada. Memorias del XI Congreso Nacional de la Papa. León Guanajuato, México. pp. 81-97.

Van der Plank, J.E. 1963. Plant diseases: Epidemics and control. Academic Press. New York. 349 p.

