

ETIOLOGIA Y ECOLOGIA DE AGENTE CAUSAL DE LOS SÍNDROMES "BOLA DE HILO" Y "PUNTA MORADA" DE LA PAPA EN MEXICO¹

Marie Beres² , María E. Zavala-Soto³, Marlene Ríos-Socaneegra³, Antonio Marín-Jarillo, Ramiro Rocha⁴, Diana S. Leal-Klevezas⁵ y Juan Pablo Martínez-Soriano^{3*}

²Institut National Agronomique Paris-Grignon. ³CINVESTAV Unidad Irapuato.

⁴CESAJ-INIFAP. ⁵Centro de Investigación Biomédica del Noreste-IMSS.

INTRODUCCION

En los últimos años el cultivo de la papa ha sido notablemente afectado por las enfermedades conocidas por su sintomatología como "punta morada" y "bola de hilo". Se tienen evidencias de que un miembro del género *Phytoplasma* anteriormente conocidos como Organismos Tipo Micoplasma, es el agente causal del síndrome "punta morada" (1). Sin embargo "la bola de hilo" ha sido poco estudiada y solo se había especulado como inducida por un fitoplasma. Nuestro laboratorio ha implementado la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) como herramienta en la detección de fitoplasmas en plantas infectadas (2,3) y hemos demostrado que el agente causal del síndrome "bola de hilo" es inducido por fitoplasma y que puede pasar desapercibido en tubérculos asintomáticos utilizados como semilla (3). Estudios en otras partes del mundo han reportado que la principal forma de transmisión de las enfermedades causadas por fitoplasmas es a través de insectos, los cuales dispersan al patógeno de malezas a plantas cultivadas y viceversa (1). Dado que en nuestro país los estudios sobre la etiología y ecología de estas enfermedades de papa son aún limitados, es importante realizar estudios para detectar la presencia de fitoplasmas en insectos vectores y elucidar las relaciones de estos síndromes de la papa con respecto al agente causal.

¹ Congreso Nacional de Productores de Papa. 2ª Simposio Internacional de la Papa. Toluca México. 1998.

² Los autores agradecen a UARPAPA de Guanajuato, al CONACyT (SIHGO), a ICAMEX y especialmente al Sr. Manuel Villaverde (CON PAPA) por el apoyo brindado. M. Beres agradece al CINVESTAV el apoyo para su estancia en el laboratorio de JPMS.

* Autor para correspondencia. CINVESTAV Irapuato. Apdo. postal 629, Irapuato, Gto. Tel. (462) 39637. E-mail: jpms@irapuato.ira.cinvestav.mx

MA TERIALES Y METODOS

La extracción del DNA genómico (incluye el DNA de la planta y del parásito), fue lograda utilizando protocolos modificados de otros previamente reportados (4,5). Para llevar a cabo la PCR se utilizaron iniciadores tanto reportados por otros autores como los diseñados en nuestro laboratorio con el fin de aumentar su especificidad y sensibilidad de ellos. Las PCRs se realizaron en un volumen total de 25 ul, y fueron procesadas utilizando un Termociclador MJ Research PT -100 de acuerdo a condiciones previamente establecidas en nuestro laboratorio (3). Los fragmentos amplificados fueron clonados en el vector pGEM-T y secuenciados utilizando un secuenciador de fluorescencia (Perkin Elmer). Las secuencias fueron comparadas entre sí utilizando el programa Megalign para el sistema Macintosh.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Reacción en Cadena de la Polimerasa permitió la detección exitosa del patógeno asociado a los síndromes "bola de hilo" y "punta morada" de la papa. La comparación de las secuencias nucleotídicas del espacio intergénico ribosomal entre los genes 168 y 238, demostró un 100% de homología entre los fragmentos amplificados a partir de tubérculos y plantas infectadas. Esto implica que ambos síndromes son ocasionados por el mismo agente causal.

Con el objeto de detectar qué insecto pudiera contener en su organismo al fitoplasma causante de la "punta morada", se extrajo DNA genómico de insectos homópteros de la familia Cicadellidae que fue utilizado en las pruebas de PCR previamente descritas. De los diversos géneros probados solo insectos del género *Aceratagallia* han sido detectado consistentemente como portadores de fitoplasmas. La secuencia nucleotídica del fragmento amplificado de *Aceratagallia* tuvo una homología del 99% al compararse con la encontrada en los síndromes "bola de hilo" y "punta morada".

En los tres casos (tubérculo, follaje e insectos), las secuencias nucleotídicas determinadas mostraron la ausencia del gen tRNA reportado en ese espacio intergénico en algunos fitoplasmas. Dada la alta divergencia evolutiva por presión de selección ejercida sobre este tipo de secuencias intergénicas, nuestros resultados permiten argumentar sólidamente que el mismo fitoplasma está asociado a ambos síndromes observados en papa y en el insecto *Aceratagallia* sp.

La prueba desarrollada en nuestro laboratorio podría también ser aplicada en las medidas cuarentenarias y de certificación en el movimiento de semilla y material genético de papa a regiones libres del problema. Esto también sería aplicable en situaciones donde se requiera certificar la sanidad de germoplasma que intenta ser introducido de otras partes del mundo. En general los beneficios económicos

serán incalculables para los productores de semilla de papa y agricultores en general dado su impacto en estudios epidemiológicos bajo condiciones de campo en nuestro país ya que este trabajo proveerá con una herramienta crítica para lograr la detección eficiente del patógeno no solo en tubérculos y plantas, sino también, en insectos vectores.

Es importante considerar en conclusión: a) por primera vez se demuestra que el mismo agente causal está involucrado en los dos síndromes mencionados; b) Se ha determinado la identidad del un insecto que pudiera ser el vector de estas enfermedades en nuestro país. y de esta manera se pudiera ya tomar medidas específicas en contra del insecto ya identificado. Actualmente nuestros esfuerzos están concentrados en la detección de malezas que pudieran ser los hospedantes alternos del fitoplasma causante de la "punta morada".

REFERENCIAS

1. Davis R. M. , Plant Pathology, UC Davis; J. Nunez, UC Cooperative Extension, Kern Co.; C. Smart, Plant Pathology, UC Davis UC DANR Publication 3339
2. Martínez-Soriano, J.P., M. Ríos-Bocanegra, M. E. Zavala-Soto, C. Robles-Murguía e I. H. Almeyda-León. 1997. Detección Molecular de Organismos Tipo Micoplasma. Congreso Nacional de Productores de Papa, Chihuahua, Chihuahua
3. Martínez-Soriano, J.P., M.E. Zavala-Soto, M. Ríos-Bocanegra, M. Beres, y D.S. Leal-Klevezas. 1998. Detección molecular del agente causal del síndrome "bola de hilo" de la papa en semilla infectada y asintomática. Biotecnología Aplicada (aceptado).
4. Leal-Klevezas, D.S., M. Beres and J.P. Martínez-Soriano. 1998. Stable DNA obtained from a "Universal" DNA extraction method. BioTechniques (enviado).
5. Maixmer, M., U. Ahrens and E. Seemüller. 1995. Detection of the German grapevine (Vergilbungskrankheit) M LO in grapevine, alternative hosts, and a vector by a specific PCR procedure. European Journal of Plant Pathology 101 :241-250