



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FISIOLOGÍA VEGETAL

**DESARROLLO DE GENOTIPOS DE
PAPA (*Solanum tuberosum* L)
INOCULDOS CON *Candidatus*
Liberibacter solanacearum (ZEBRA
CHIP)**

YAZMIN HIDALGO GOMEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: DESARROLLO DE GENOTIPOS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L) INOCULADOS CON *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Zebra Chip) realizada por la alumna: YAZMIN HIDALGO GOMEZ bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FISIOLOGÍA VEGETAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)



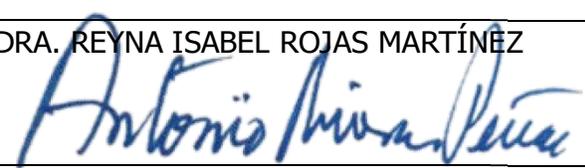
DR. JOSÉ ALFREDO CARRILLO SALAZAR

ASESOR (A)



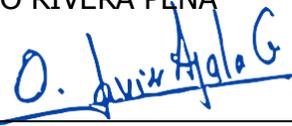
DRA. REYNA ISABEL ROJAS MARTÍNEZ

ASESOR (A)



DR. ANTONIO RIVERA PEÑA

ASESOR (A)



DR. OSCAR JAVIER AYALA GARAY

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2021

**DESARROLLO DE GENOTIPOS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)
INOCULADOS CON *Candidatus Liberibacter solanacearum* (ZEBRA CHIP)**

Yazmin Hidalgo Gómez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

Candidatus Liberibacter solanacearum (CaLso) produce la enfermedad ‘manchado de la pulpa del tubérculo’, la cual ocasiona pérdidas económicas en las zonas productoras del país. Hoy en día el control de esta enfermedad se enfoca principalmente en el control químico del insecto vector debido a la susceptibilidad de las variedades de papa que se produce en México. Considerando estos antecedentes la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la bacteria en el desarrollo de genotipos de papa. Como material genético se utilizó la variedad comercial Fianna, *S. demissum* y los clones experimentales T90-1-63 y T05-13-21. Las variables evaluadas fueron severidad de los síntomas del follaje de la planta, biomasa seca de los diferentes órganos de la planta, biomasa fresca de tubérculo, calidad y manchado interno en la pulpa del tubérculo. Mediante el análisis de imágenes se calculó el porcentaje de superficie sana y el porcentaje de superficie con manchado. Las plantas de Fianna inoculadas con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB mostraron una mayor severidad de daño foliar, mientras que los clones presentaron 83 % de daño en área foliar, lo cual fue 17 % menor que Fianna y 8 % mayor a *S. demissum*. El clon T90-1-63 sobresalió al presentar mayor rendimiento en plantas inoculadas y los valores más altos de superficie sana de tubérculo (> 79%) y los valores más bajos en las clases de manchado interno de la pulpa del tubérculo. Por lo que la presencia de CaLso si bien afecta el desarrollo y

calidad comercial del tubérculo, en comparación con los demás genotipos evaluados, los clones experimentales presentaron características que les permite disminuir algunos síntomas típicos de la enfermedad lo que los vuelve aptos para su uso en programas de mejoramiento genético contribuyendo a disminuir el manchado interno de la pulpa mejorando la calidad del tubérculo.

Palabras clave: *Candidatus Liberibacter solanacearum*, *Solanum tuberosum* L., intensidad del manchado, rendimiento de tubérculo, análisis de imágenes.

**DEVELOPMENT OF GENOTYPES OF POTATO (*Solanum tuberosum* L.)
INOCULATED WITH *Candidatus Liberibacter solanacearum* (ZEBRA CHIP)**

Yazmin Hidalgo Gómez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

Candidatus Liberibacter solanacearum (CaLso) produces the disease ‘internal brown on tuber’, which causes economic losses in the producing areas of the country. Nowadays, the control of this disease is mainly focused on the chemical control of the insect vector due to the susceptibility of the potato varieties produced in Mexico. Considering this background, the aim of this research was to evaluate the effect of the CaLso on the development of potato genotypes. As genetic material, the commercial variety Fianna, *S. demissum* and the experimental clones T90-1-63 and T05-13-21 were used. The variables evaluated were severity of plant foliage symptoms, dry biomass of the different plant organs, fresh tuber biomass, quality and internal brown of tuber. Image analysis was used to calculate the percentage of healthy area and the percentage of internal brown area. Fianna plants inoculated with the combination of LsoA + LsoB haplotypes showed a higher severity of leaf damage, while the clones showed 83 % leaf area damage, which was 17 % lower than Fianna and 8 % higher than *S. demissum*. Clone T90-1-63 had the highest yield in inoculated plants and the highest values of healthy tuber area (> 79%) and the lowest values in the classes browning intensity. Therefore, although the presence of CaLso affects the development and commercial quality of the tuber, in comparison with the other genotypes evaluated, the experimental clones presented characteristics that allow them to reduce some typical symptoms of

the disease, which makes them suitable for use in genetic improvement programmes, contributing to reduce the browning intensity of potato and improving the quality of the tuber.

Keywords *Candidatus* Liberibacter solanacearum, *Solanum tuberosum* L., browning intensity, tuber yield, image analysis.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero proporcionado durante la realización de mis estudios en maestría.

Al Colegio de Postgraduados y al programa de Fisiología Vegetal, por acogerme en sus instalaciones durante los dos años y darme la oportunidad de seguir con mi formación académica.

Al Dr. José Alfredo Carrillo Salazar, por su paciencia y apoyo como consejero, quien me dio la oportunidad de iniciar en el camino de investigación, además de la valiosa y acertada asesoría durante la realización de este trabajo.

A la Dra. Reyna I. Rojas Martínez, por su contribución, asesoramiento y disponibilidad para resolver las dudas surgidas durante el periodo de estudio.

Al Dr. Antonio Rivera Peña, por su paciencia, la disponibilidad, el asesoramiento, sus valiosas aportaciones y por brindar el material vegetal necesario para el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Oscar Javier Ayala Garay, por el apoyo, paciencia, sus valiosas aportaciones, revisiones y el tiempo dedicado a resolver mis dudas por más pequeñas que estas fueran durante la realización de esta investigación.

Al Dr. Nicacio Cruz Huerta, Por todo su apoyo que de manera cordial y atenta me brindo para la realización de este trabajo y resolver siempre mis dudas.

Al Dr. Manuel Livera Muñoz, Por su apoyo, amistad y disponibilidad como sinodal.

Al M.C Iván Ramirez Ramirez, por la disponibilidad y apoyo para llevar a cabo el análisis de carbohidratos, estudio importante dentro de mi tema de investigación.

Al Dr. Víctor Arturo Gonzales Hernández, por sus sabios consejos, confianza y apoyo brindado durante todo el periodo de estudio.

Al Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras, por ser un ejemplo a seguir y brindarme siempre su apoyo.

Al equipo de trabajo del laboratorio de Fisiología Vegetal y campo, Lugo, Sr. Juan Carlos y Natalia, por que sin ellos no hubiera podido concluir mi trabajo de investigación.

Al equipo de trabajo del laboratorio de Fisiología y Biología Molecular. Sr. Jorge y Viviana Nezai, por su gran ayuda en mi trabajo de investigación.

A mis amigos, colegas y compañeros, María Guadalupe Godoy, María de Jesús Ibáñez, Deysi Vázquez, Evelia Hernández, Fátima Hernández, Eliud Serrano, Vicky Delgado, Raúl Rodríguez, Alfonso Rangel (Poncho), Miguel Muñoz, Cristian Ramirez, Salvador Carranza y Rosa Isela Triana (Rouss) con quienes tuve la oportunidad de convivir este tiempo y que contribuyeron de alguna u otra forma con mi trabajo de investigación.

A todas las personas que de algún modo contribuyeron a mi formación profesional.

Las palabras no son suficiente para expresar todo el agradecimiento para cada uno de ustedes.

DEDICATORIA

A mi Familia:

A mis queridos y amados padres Juventino Hidalgo Gonzáles y Rosario Gómez Vivar, por todo su sacrificio, su infinito amor, cariño y apoyo en todas las decisiones que eh tomado a lo largo de mi vida. Gracias por motivarme todo el tiempo a ser mejor, por sentirse siempre orgullosos de mí, y enseñarme cada día que la mejor herencia que pueden darme es el conocimiento y que con esfuerzo se puede lograr lo que sea.

A mis hermanos Josué, Marco Antonio y Grisel, los adoro, a Francisco Javier Loaeza Osorio, más que un cuñado también te considero un hermano, gracias a todos ustedes por su comprensión, amor y apoyo incondicional a lo largo de cada proyecto que eh iniciado.

A mis sobrinos Axel y Dany son mis más grandes tesoros y espero que dios me brinde una vida larga para formar parte de todos sus éxitos.

A mis Tíos, Tomás Gómez, Silvia García, Bartolomé Sánchez (†), Virginia Guzmán y Valente Hidalgo (†), gracias por sus palabras de aliento, sus consejos, por apoyarme siempre y sentirse felices y orgullosos de mis éxitos, ustedes son y siempre serán unos padres para mí.

A mis primas, Teresa, Paola, Selene, Ariana y Dalia, gracias hermanas las quiero mucho.

A mis amigos del alma Mijaíl Farías Flores, Saúl Villa Alcalá, Estefanía Tavares, Jonathan Walton, Francis E. Dorantes, Selene Guzmán Kantú, Mayra Acal Miss, Alhelí Sáenz, Mario A., Raúl Saavedra, Silvia Batres y Carmen Julia, que a pesar de la distancia nunca han dejado de alentarme y apoyarme en cada decisión que eh tomado.

“Estoy entre aquellos que piensan que la ciencia tiene una gran belleza.”

Dr. Marie Curie

Premio Nobel de Física 1903, Premio Nobel de Química 1911

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	v
AGRADECIMIENTOS.....	vii
DEDICATORIA	ix
LISTA DE CUADROS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xvii
INTRODUCCIÓN	1
1.1. OBJETIVO	3
1.2. HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Generalidades de <i>Solanum tuberosum</i> L.....	4
2.1.1. Origen del cultivo de papa.....	4
2.1.2. Diversidad genética de la especie <i>Solanum tuberosum</i> L	5
2.1.3. Importancia y producción de papa en México	6
2.1.4. Problemática del cultivo de papa en México.....	8
2.2. Candidatus <i>Liberibacter solanacearum</i>	8
2.2.1. Información taxonómica	9
2.2.2. Transmisión de CaLso	9
2.2.3. Sintomatología.....	9
2.2.4. Importancia de la enfermedad Zebra chip en la producción de tubérculo	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1. Sitio experimental.....	13
3.2. Material vegetal	13
3.3. Manejo del cultivo	14
3.4. Manejo experimental.....	15

3.1.1. Fecha de trasplante.....	15
3.1.2. Fecha de Siembra.....	15
3.1.3. Reproducción del insecto vector.....	15
3.1.3.1. Colecta	15
3.1.3.2. Detección de CaLso en adultos de <i>Bactericera cockerelli</i>	15
3.1.4. Inoculación de CaLso a plantas de papa mediante adultos de <i>Bactericera cockerelli</i>	16
3.1.4.1. Detección de <i>CaLso</i> en plantas inoculadas	17
3.2. Diseño experimental	17
3.3. Variables ambientales	17
3.4. Variables fisiológicas.....	17
3.4.1. Intercambio de gases en hoja.....	17
3.4.2. Área foliar (AF, cm ² /planta)	18
3.4.3. Biomasa seca (g/planta)	18
3.4.4. Rendimiento de tubérculo (g/planta)	18
3.5. Evaluación del porcentaje de daño del área foliar por planta (DAF)	19
3.6. Calidad de tubérculo	19
3.6.1. Obtención de imágenes digitales	19
3.6.2. Segmentación de imágenes	20
3.6.3. Porcentaje del manchado del tubérculo (Mtb).....	20
3.7. Análisis estadístico.....	21
RESULTADOS	22
4.1. Variables meteorológicas	22
4.1.1. Temperatura.....	22
4.2. Variables respuesta	23

4.2.1. Intercambio de gases	23
4.2.2. Área foliar (AF, cm ² /planta)	24
4.2.3. Biomasa seca (g/planta)	26
4.2.4. Rendimiento (g/planta) y calidad de tubérculo.....	33
4.2.5. Porcentaje de daño en área foliar por planta (DAF)	41
4.2.6. Calidad	44
4.2.6.1. Manchado de la pulpa de tubérculo (Mtb)	44
DISCUSIÓN.....	51
CONCLUSIÓN.....	57
LITERATURA CITADA.....	58

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Producción anual del cultivo de papa en México en los 10 últimos años agrícolas englobando riego + temporal.....	7
Cuadro 2. Producción anual de los principales estados productores del cultivo de papa en México en 2018.....	7
Cuadro 3. Valores de F del análisis de varianza de los componentes de intercambio gaseoso en genotipos de papa inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacearum a los 22 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.....	24
Cuadro 4. Valores de F del análisis de varianza de la variable área foliar (cm ² /planta) de genotipos de papa inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacearum en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.....	24
Cuadro 5. Comparación de medias de la variable área foliar (cm ² /planta) entre genotipos de papa en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México.....	25
Cuadro 6. Comparación de medias del área foliar (cm ² /planta) de papa de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacerum en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco Edo de México, 2019.....	26
Cuadro 7. Valores de F del análisis de varianza de las variables de biomasa seca en genotipos de papa inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacearum en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.....	27

Cuadro 8. Comparación de medias de la biomasa seca (g/planta) de las estructuras vegetales entre genotipos de papa en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	29
Cuadro 9. Comparación de medias de la biomasa seca (g/planta) de las estructuras vegetales entre tratamientos en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	30
Cuadro 10. Comparación de medias de la biomasa seca (g/planta) de las estructuras vegetales de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacerum a los 45 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	31
Cuadro 11. Comparación de medias de la biomasa seca (g/planta) de las estructuras vegetales de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacerum a los 83 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	32
Cuadro 12. Valores de F del análisis de varianza de rendimiento (g/planta) y calidad de tubérculo en genotipos de papa inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacearum en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.....	34
Cuadro 13. Comparación de medias de rendimiento (g/planta) y calidad de tubérculo entre genotipos en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	36
Cuadro 14. Comparación de medias de rendimiento y calidad de tubérculo entre tratamientos en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	37
Cuadro 15. Comparación de medias de rendimiento y calidad de tubérculo de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de <i>Candidatus</i>	

Liberibacter solanacerum a los 45 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	39
Cuadro 16. Comparación de medias de rendimiento y calidad de tubérculo de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacerum a los 83 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	40
Cuadro 17. Valores de F del análisis de varianza del porcentaje de daño del área foliar en plantas de papa inoculadas con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacearum en tres fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.....	41
Cuadro 18. Comparación de medias de porcentaje de daño del área foliar entre genotipos de papa en tres fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	43
Cuadro 19. Comparación de medias del porcentaje de daño en área foliar por planta entre tratamientos de papa en tres fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	43
Cuadro 20. Comparación de medias del porcentaje de daño en área foliar en plantas de papa en la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacerum en tres fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	44
Cuadro 21. Valores de F del análisis de varianza del manchado de la pulpa de tubérculo (%) en genotipos inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de <i>Candidatus</i> Liberibacter solanacearum de dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.....	45

Cuadro 22. Comparación de medias del manchado de la pulpa de tubérculo entre genotipos durante dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	48
Cuadro 23. Comparación de medias del manchado de la pulpa de tubérculo entre tratamientos en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	49
Cuadro 24. Comparación de medias del manchado de la pulpa de tubérculo de la interacción entre genotipo y la inoculación en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A) Daño en hojuela de papa causado por <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> , B) hojuela de papa sin daño.....	10
Figura 2. Daño en planta causado por <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	11
Figura 3. Formación de tubérculos aéreos causado por <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	11
Figura 4. Campo Experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.....	13
Figura 5. Inoculación de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> con <i>Bactericera cockerelli</i> en planta de papa.....	16
Figura 6. Humedad relativa  y Temperaturas máximas  y mínimas  registradas con un Hobo durante la investigación dentro del invernadero.....	22
Figura 7. Daño por CaLso en área foliar de plantas de papa del 75% se observó retraso del crecimiento, hojas ocasionales de color púrpura, acostamiento de la planta y inicio de formación de tubérculos aéreos.....	41
Figura 8. Avance del daño foliar (%) en los genotipos a)  T05-13-21, b)  <i>Solanum demmisum</i> , c)  T90-1-63, d)  Fianna, después de la inoculación (ddi) con la combinación de los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.....	42
Figura 9. Ejemplos del manchado interno de la pulpa en rodajas de papa mediante el procesamiento de imágenes y uso de un clasificador PNN; Superficie con manchado se representa en color rojo, superficie sana se representa en color azul. Derecha genotipos inoculados con CaLso. Izquierda genotipos sin inocular.....	47

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) está ubicado entre los primeros cuatro cultivos de mayor importancia en el mundo (SAGARPA, 2014). Los principales factores que limitan su producción en México son: la insuficiencia de la semilla certificada, factores meteorológicos adversos, las enfermedades y las plagas (Rivera-Peña, 2001). La limitante en la selección de variedades es la alta interacción genotipo-ambiente (Tirado *et al.*, 2018; Lule *et al.*, 2015), lo que dificulta la posibilidad de garantizar que los genotipos seleccionados de papa tengan altos rendimientos, calidad y resistencia a plagas y enfermedades.

Dos de las características más importantes en la selección de variedades para la producción de tubérculo de calidad para fritura y cocción son: el contenido de almidón y el contenido de azúcares reductores, especialmente glucosa, fructosa y sacarosa que se encuentran en mayor cantidad en la pulpa del tubérculo (Moreno, 2000). Esta proporción de azúcares en tubérculo es afectada por la enfermedad manchado de la pulpa del tubérculo o zebra chip (ZC) cuyo agente causal es la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* y transmitida a la planta por el psílido *Bactericera cockerelli* (paratrioza). Los tubérculos de papa infestados con la bacteria exhiben una decoloración en el parénquima de reserva que al freír o cocinar es más visible resultado de la reacción de Müller. Miles *et al.* (2010) sugiere que este síntoma en los tubérculos está asociado con muerte general de las células y a la deposición de compuestos polifenólicos (lignina), fenólicos, peroxidasas, quitinasas, aminoácidos y azúcares libres (sacarosa, glucosa y fructuosa): así como una reducción en el nivel de almidón, sugiriendo que esta enfermedad induce una respuesta hipersensible que conduce a los tubérculos a una muerte celular programada, mientras que los síntomas foliares son similares a los producidos por los fitoplasmas en la enfermedad conocida como “punta morada” e

incluyen: marchitez, enrollamiento y amarillamiento de hojas, nudos hinchados, proliferación de brotes axilares y formación de tubérculos aéreos.

Por todo ello, en esta investigación se estudió la respuesta de diferentes genotipos a la infección de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, mediante la evaluación de variables fisiológicas, bioquímicas, de rendimiento y calidad del tubérculo que permitan identificar el genotipo con las mejores características agronómicas ante la presencia del patógeno.

1.1. OBJETIVO

Evaluar el efecto de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* en el desarrollo fisiológico de genotipos de papa (*Solanum tuberosum* L).

1.2. HIPÓTESIS

Los genotipos experimentales de papa son resistentes a la enfermedad “manchado de la pulpa del tubérculo” causada por la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

La presencia de la bacteria *CaLso* en los genotipos experimentales no afecta el desarrollo en la planta ni en la calidad comercial del tubérculo.

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades de *Solanum tuberosum* L

2.1.1. Origen del cultivo de papa

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es una Solanácea que posee, probablemente, más especies silvestres que cualquier otro cultivo. A lo largo de toda cordillera andina, existe una gran variabilidad alrededor de 2,000 especies del género *Solanum* y ocho especies cultivadas todas ellas afines a *S. tuberosum* subsp. *tuberosum*; se distribuyen desde el sureste de Norteamérica, pasando por América Central y América del Sur hasta llegar a latitudes más allá de los 50° latitud sur (Clausen, 2003).

La evolución filogenética y las fuerzas de la selección, migración, mutación, hibridación, poliploidización han contribuido a la divergencia y a explicar el origen de la gran variabilidad genética presente en las especies silvestres y cultivadas (Egúsquiza, 1987). La papa alimento básico de América del sur y descrito como la mayor riqueza del imperio de los incas fue domesticada hace unos 10.000 años en el altiplano, entre Perú y Bolivia, alrededor del lago Titicaca a 3.800 m sobre el nivel del mar en la cordillera de los Andes, donde se encuentra la mayor diversidad genética de las especies afines (Engel, 1964).

Según Hawkes (1979) las primeras plantas de papa domesticadas pertenecieron a la especie *S. stenotomum* de la cual derivó *S. leptophyes*. A su vez, *S. stenotomum* se cruzó probablemente con *S. sparsipilum*, una especie diploide, lo que dio lugar a *S. andigena*, precursora de la planta de papa tetraploide actual.

Según Alfaro (1995) el origen y evolución de la especie cultivada ha sido estudiado desde la expedición científica de Juzepczuk y Bukasov en América Central y América del sur entre 1925 y 1932, mostrando al mundo la inmensa variabilidad genética existente entre Perú y Bolivia.

Hawkes (1990) mencionó que la papa tiene su origen en estos dos centros de América del Sur, y se refirió a una especie de hojas pequeñas que tuberiza en días cortos haciendo referencia a *S. tuberosum* subsp. andigena, y a otra denominada *S. tuberosum* subsp. *tuberosum* cultivada en el sur de Chile con hojas anchas y que tuberiza en días largos.

2.1.2. Diversidad genética de la especie *Solanum tuberosum* L

Onamu *et al.* (2015) reportan bajos niveles de variabilidad genética dentro de los cultivares que estudiaron aunque éstos pueden considerarse elevados si se toma en cuenta la pureza que deben guardar los cultivares mejorados.

La reproducción vegetativa se realiza a través de los tubérculos, brotes o yemas, dando lugar a clones genéticamente idénticos a la planta original. De esta forma se puede obtener fácilmente copias idénticas de los genotipos seleccionados, lo cual es una gran ventaja para los mejoradores. Otra utilización práctica de la propagación asexual es el cultivo de tejidos y de meristemos, cuya finalidad está relacionada con la eliminación de algunos de los principales patógenos del cultivo (Orillo *et al.*, 2009).

Por otra parte, la reproducción sexual permite que los materiales genéticos de dos individuos se recombinen y formen nuevas estructuras alélicas. Este proceso requiere de la polinización de los órganos reproductores femeninos o pistilos por los masculinos o anteras, formando las bayas con número variable de semillas. Cada una de éstas constituye un nuevo individuo potencial (Acuña *et al.*, 2011).

2.1.3. Importancia y producción de papa en México

En México existen fuertes diferencias entre los tipos de papa que cultivan los agricultores. En el norte de país existen grandes unidades de producción donde predominan estándares tecnológicos avanzados, mientras que en el centro y sur predominan pequeñas unidades que disponen de pocos recursos. Solo el 23 % de la tierra dedicada a la siembra de la papa se cultiva con semilla certificada, comprada por productores a gran escala. Los pequeños productores casi no utilizan semilla certificada o material limpio, la mayoría utiliza semilla de la cosecha anterior o compran tubérculos destinados al mercado en fresco por los grandes productores. Debido a la rica diversidad genética de la papa, las variedades criollas necesitan conservarse y explotarse. Onamu *et al.* (2014) distingue tres grupos de variedades comerciales en México: las originadas en Holanda, las originadas en EE.UU., y las variedades mejoradas generadas por el INIFAP. El primer grupo representa alrededor del 50 % del cultivo a nivel nacional, 38 % el segundo y el último alrededor del 8 %.

El cultivo está ubicado entre los primeros cuatro cultivos de mayor importancia en el mundo. México ocupa el lugar número 31 como productor mundial (Cuadro 1) con una producción de 1,715,499 t durante el año 2017 (Atlas Alimentario, 2018). Los principales estados productores son: Sinaloa, Sonora, Puebla, Veracruz, Estado de México, Michoacán, Jalisco y Nuevo León (Cuadro 2) (SAGARPA, 2019).

Cuadro 1. Producción anual del cultivo de papa en México en los 10 últimos años agrícolas englobando riego + temporal.

Año Agrícola	Superficie Sembrada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t ha ⁻¹)
2008	61,167	986,028	27.043
2009	53,465	948,563	27.624
2010	55,143	913,316	27.210
2011	68,833	893,346	25.824
2012	68,408	1,184,780	26.812
2013	62,816	1,008,052	26.626
2014	61,377	1,058,293	26.775
2015	63,900	1,129,864	27.093
2016	64,879	1,228,534	28.259
2017	60,204	1,154,068	28.842
2018	59,475	1,293,052	30.692

Fuente: SIAP (2019).

Cuadro 2. Producción anual de los principales estados productores del cultivo de papa en México en 2018.

Estados	Superficie sembrada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t ha ⁻¹)
Baja California sur	1,346	51,148	38.000
Chiapas	248	5,671	22.903
Guanajuato	704	36,190	51.406
México	286	6,644	23.271
Michoacán	8	184	23.020
Puebla	2,474	74,316	30.037
Sinaloa	13,333	386,498	28.988
Sonora	7,225	239,695	32.725
Veracruz	1,989	24,000	12.067
Total	27,712	824,346	29.747

Fuente: SIAP 2019

2.1.4. Problemática del cultivo de papa en México

Los principales factores que limitan la producción de papa en México son: la insuficiencia de la semilla certificada, factores meteorológicos adversos, las enfermedades y las plagas (Rivera-Peña, 2001). De los dos últimos aspectos O'brien y Rich (1976) describieron en papa 25 virus, 38 hongos, 6 bacterias, 2 micoplasmas, 1 virus, 68 nematodos y 128 insectos (Rivadeneira *et al.*, 2011)

Las enfermedades y plagas representan un reto para el desarrollo de las variedades en los programas de mejoramiento genético de papa en México. Algunos agentes causales de enfermedades son de gran importancia económica, entre los que se encuentran los patógenos endémicos en las regiones productoras de papa, al grado de reducir los rendimientos hasta en 50 %. Además, causan altos costos de producción por el uso de plaguicidas que representan hasta 30 % del costo total (Rivera-Peña, 2001).

2.2. Candidatus Liberibacter solanacearum

El género *Candidatus Liberibacter* comprende α -proteobacterias Gram negativas exclusivas del floema que no se ha logrado cultivar *in vitro*. Se reportó su presencia por primera vez en Nueva Zelanda en 2008 en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y chile (*Capsicum annum*) y se le denominó *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lieferting *et al.*, 2009), siendo ésta la causante de la enfermedad de la papa conocida como zebra chip (ZC) y que ocasiona grandes pérdidas en las cosechas. Esta enfermedad fue reportada por primera vez en México en 1994 y posteriormente en USA en el 2000.

Plantas infectadas con *CaLso* pueden ser asintomáticas o presentar síntomas que pueden ser similares a los asociados con otras bacterias limitadas por el floema u otros trastornos fisiológicos. Por lo tanto, se requieren pruebas específicas para la detección e identificación de *Candidatus*

Liberibacter solanacearum, debido a la incapacidad para reproducirla y cultivar *in vitro* se requieren pruebas moleculares para su detección e identificación.

2.2.1. Información taxonómica

Nombre: "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" (Liefting *et al.*, 2009)

Sinónimo: "*Candidatus Liberibacter psyllauros*" (Hansen *et al.*, 2008)

Posición taxonómica: bacterias, proteobacterias, alfaproteobacterias, Rhizobiales, Rhizobiaceae, '*Candidatus Liberibacter*'.

Nombres comunes: chip de cebrá, complejo de cebrá o zebra chip (abreviación en inglés).

2.2.2. Transmisión de CaLso

Candidatus Liberibacter solanacearum es una bacteria que se restringe a los elementos cribosos del floema de la planta, transmitida por el psílido *Bactericera cockerelli*, insecto ampliamente distribuido en la mayoría de las zonas agrícolas. CaLso se restringe a las glándulas salivales del psílido y se transmite cuando este introduce su estilete hasta el floema: por uno de los conductos el insecto succiona la savia, mientras que por el otro inyecta su saliva junto con la bacteria que se dispersa a través del sistema vascular. Los adultos de *B. cockerelli* tienen mayor eficiencia de transmisión comparada con los estadios ninfales (Camacho-Tapia *et al.*, 2016; Rashed *et al.*, 2013).

2.2.3. Sintomatología

La temperatura tiene efectos significativos en el desarrollo y sintomatología de la enfermedad en la planta hospedante inducida por CaLso, a 17 °C o menos se afecta la actividad de la bacteria, a los 32 °C o más, se inhibe la bacteria y los síntomas ocasionados por esta (Camacho-Tapia *et al.*, 2016). Munyaneza *et al* (2012) reporta que el desarrollo óptimo de CaLso se encuentra de 27 a 31

°C mismas que son favorables para el desarrollo óptimo de psílido *B. cockerelli* por lo que se cree que hay coevolución entre las bacteria y su vector.

Cuando *CaLso* se distribuye en la planta mediante la translocación de fotosintatos hacia el tubérculo este presenta necrosis en el parénquima de reserva que al freír o cocinar (Figura 1), el daño se intensifica por la reacción de Müller (Alvarado *et al.*, 2012).

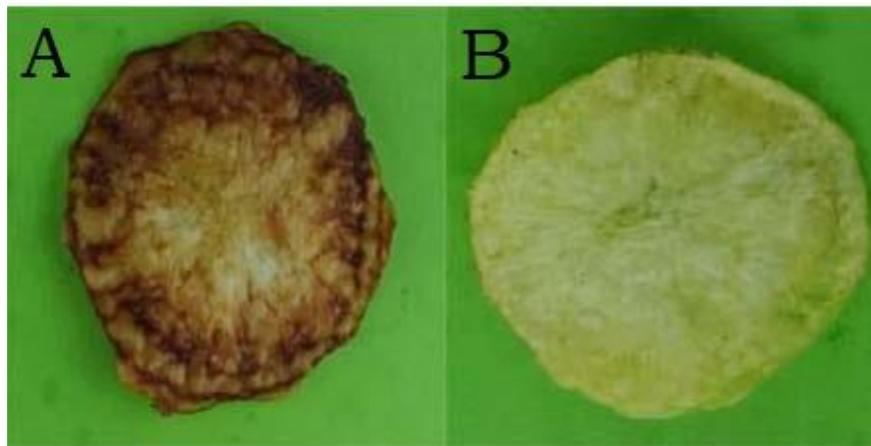


Figura 1. A) Daño en hojuela de papa causado por *Candidatus Liberibacter solanacearum*, B) hojuela de papa sin daño.

En la planta la necrosis del floema podría causar un bloqueo en la corriente y translocación de fotosintatos que conducen a cambios anatómicos (Figura 2) como: amarillamiento con moteado, epinastía de hojas, nudos hinchados, proliferación de brotes axilares, tubérculos aéreos (Figura 3), mismos que se asocian o confunden con fitoplasmas (Camacho-Tapia *et al.*, 2016).



Figura 2. Daño en planta causado por *Candidatus Liberibacter solanacearum*.



Figura 3. Formación de tubérculos aéreos causado por *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

2.2.4.Importancia de la enfermedad Zebra chip en la producción de tubérculo

La enfermedad conocida como “manchado de la pulpa” o Zebra Chip (ZC) se observó por primera vez en papa (*Solanum tuberosum* L.), se originó en el Norte de América y posteriormente se extendió a otros países. Esta enfermedad se detectó en Saltillo, México en la década de los noventa, y se asoció primeramente con un fitoplasma (Camacho-Tapia *et al.*, 2016; Secor *et al.*, 2004:). A principios del 2000 se reportó en campos comerciales de papa en Texas mientras que para el 2006, la enfermedad se había dispersado a otras áreas productoras de Estados Unidos.

En 2008, en Nueva Zelanda se presentaron síntomas como: ápices cloróticos, moteado general en hojas, enrizado de las venas medias, achaparramiento de las plantas, reducción de la producción, decoloración en patrón de rayas en los tubérculos crudos y oscurecimiento de estos cuando se fríen, y en algunos casos deformación de tubérculos (Camacho-Tapia *et al.*, 2016; Munyaneza *et al.*, 2008). Sugiriendo que esta enfermedad induce una respuesta de hipersensibilidad que inducen como respuesta cambios anatómicos en la planta hospedante.

El aumento de la actividad reductiva de azúcares y aminoácidos podría contribuir al aumento del tono café en el tejido vascular que es más evidente al freírse, lo que los vuelve no aptos para su comercio. Munyaneza *et al* (2016) sugiere que esta sintomatología en los tubérculos está asociado con la muerte general de las células que es lo que ocasiona pequeñas y numerosas lesiones de forma irregular a través de la región medular parenquimatosas, el anillo vascular y el córtex. También se encuentran agregaciones de componentes fenólicos, peroxidasas, oxidasas, polifenoles, quitinasas, aminoácidos y azúcares (sacarosa, glucosa y fructuosa) dentro y alrededor de las lesiones, factor que puede promover en los tubérculos a una muerte celular programada (Rashed *et al.*, 2013).

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Sitio experimental

El experimento se estableció bajo una estructura cubierta con malla anti-áfidos en el campo experimental del Colegio de Posgraduados en Texcoco, Estado de México (19.29°L.N., 98.53°L.O. y 2260 m de altura) durante el verano e invierno del 2019 (Figura 4).

El clima del sitio experimental es C(Wo)(W)b(y)g, descrito como templado subhúmedo con precipitación media anual de 645 mm y temperatura promedio anual de 15°C, con heladas tempranas a fines de septiembre y tardías en abril (García, 1981).



Figura 4. Campo Experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

3.2. Material vegetal

Los genotipos evaluados de papa fueron: dos variedades experimentales (T05-13-21 Y T90-1-63), una colecta silvestre *Solanum demissum* y una variedad comercial Fianna. Obtenidas en el “Programa de Mejoramiento Genético de Papa” del Instituto Nacional de Investigaciones

Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en Zinacantepec, Edo de México bajo la dirección del Dr. Antonio Rivera Peña.

El clon T05-13-21 presenta resistencia media a tizón, tubérculo de cutícula marrón rojizo, de forma oval alargada, de pulpa amarilla; la altura de la planta oscila entre los 50 cm, de porte erecto.

Mientras que T90-1-63 posee resistencia a tizón tardío, tubérculo de cutícula amarilla, de forma oval alargada, de pulpa amarilla claro; la altura de planta es entre 50 a 80 cm, arbolada, de porte semierecto.

En cuanto a *Solanum demissum* es una especie considerada silvestre de porte alto, alcanza cerca de 60 cm de altura, con flores de color violeta a morado, los tubérculos son de color blanco a bronceado, redondos a comprimidos y de 5 cm de diámetro en promedio.

Finalmente Fianna es una variedad altamente tolerante al estrés ambiental; sin embargo susceptible a *Candidatus Liberibacter solanacearum*; los tubérculos son de forma ovalada, ojos poco profundos, una cáscara lisa, brillante y de tamaño grande y uniforme.

3.3. Manejo del cultivo

El cultivo se fertilizó semanalmente con una mezcla papera comercial granulada bajo las siguientes dosis 2 g/planta a la semana por 40 días, posteriormente se realizó un ajuste de dosis de 4g/planta de acuerdo al requerimiento del cultivo. Los riegos fueron terciados para mantener el contenido de agua del sustrato a capacidad de campo, de 1 a 3 L de agua/planta dependiendo de las condiciones ambientales y la etapa fenológica del cultivo. Además, se aplicó Tecto 60® como preventivo para el control de *Phytophthora infestans*.

3.4. Manejo experimental

3.1.1. Fecha de trasplante

El trasplante de las variedades experimentales (T05-13-21 Y T90-1-63) procedentes de *in vitro* y la variedad silvestre (*Solanum demissum*) se llevó a cabo el día 2 de agosto del 2019, en bolsas de plástico con exterior blanco e interior negro de 5 L, y en una mezcla de turba (Sunshine No.3) y agrolita (1:1) como sustrato a 10 cm de profundidad. Las plantas se cultivaron a un solo tallo principal.

3.1.2. Fecha de Siembra

La siembra de la variedad Fianna se llevó a cabo el 4 de agosto del 2019, en bolsas de plástico de 5 L en una mezcla de turba y agrolita (1:1) como sustrato. Se sembró un tubérculo-semilla por bolsa, a una profundidad de 10 cm. Las plantas se cultivaron a un solo tallo principal.

3.1.3. Reproducción del insecto vector

3.1.3.1. Colecta

Se colectaron adultos de *B. cockerelli* con un aspirador de insectos en un cultivo comercial de tomate verde de cascara (*Physalis philadelphica*) bajo condiciones controladas de invernadero, en el municipio de Ajacuba, Hidalgo, se colocaron en plantas hospederas de la familia Solanaceae dentro de una jaula entomológica de 1.5 x 0.5 x 1.5 m cubierta con malla anti-áfidos color cristal de calibre 0.009.

3.1.3.2. Detección de CaLso en adultos de *Bactericera cockerelli*

La detección de CaLso en adultos de *B. cockerelli* se hizo en el laboratorio de Fisiología y Biología Molecular del Postgrado de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, bajo la supervisión de la

Dr. Reyna I. Rojas M. La extracción de ácidos nucleicos de insectos de *B cockerelli* se realizó por PCR empleando iniciadores OA2/O12c, los cuales amplifican un fragmento de 1168 pb del gen 16SrARN, gen para la identificación de *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

3.1.4. Inoculación de CaLso a plantas de papa mediante adultos de *Bactericera cockerelli*

La inoculación se hizo con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) el 10 de septiembre del 2019. Para lograr esto se colocaron diez psílicos de la colonia de *B. cockerelli* en bolsas de malla antiáfidos de 25 x 25 cm (Figura 5). Cada bolsa se colocó en la planta envolviendo parte de la quinta hoja desde el foliolo terminal hasta el segundo par de foliolos laterales durante cinco días. Al cabo de este tiempo, se eliminaron los adultos aplicado el insecticida comercial Actara[®]: dosis de 4 g disueltos en 15 L de agua.



Figura 5. Inoculación de *Candidatus Liberibacter solanacearum* con *Bactericera cockerelli* en planta de papa.

3.1.4.1. Detección de *CaLso* en plantas inoculadas

La detección de *CaLso* en plantas inoculadas se llevó a cabo en dos etapas; la primera etapa se fue partir del décimo día, donde se monitorearon los síntomas típicos de la enfermedad y la severidad mediante una escala descrita por Hernández-Deheza *et al.* (2018). La segunda etapa se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología y Biología Molecular del Postgrado de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, bajo la supervisión de la Dr. Reyna I. Rojas M., donde se procesaron muestras foliares con síntomas de la enfermedad para verificar la presencia de *CaLso* en las plantas de los genotipos inoculados.

3.2. Diseño experimental

Se usó el diseño experimental completamente al azar (DECA) con arreglo factorial con dos factores: genotipo (4) y nivel de inóculo (plantas inoculadas y plantas sin inocular), por lo que se evaluaron 8 tratamientos con 12 repeticiones, donde la unidad experimental fue una maceta con una planta.

3.3. Variables ambientales

Se obtuvieron registros de la humedad relativa (HR, %) y temperatura del aire (°C) cada 10 min con dos HOBO modelo U12-012 (Onset Inc.) del 22 de julio al 2 de diciembre del 2019, que corresponden a las fechas de inicio y final del experimento.

3.4. Variables fisiológicas

3.4.1. Intercambio de gases en hoja

Se obtuvo la tasa de fotosíntesis ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiración ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y conductancia ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) con un sistema portátil para medir fotosíntesis TPS2 (PP Systems

International, Inc., www.ppsystems.com), se midió el foliolo central de la primera hoja completamente extendida de cuatro plantas seleccionadas al azar por tratamiento a los 22 días después de la inoculación, de 11:41 a 12:53 hrs,

3.4.2. Área foliar (AF, cm²/planta)

Se midió el área foliar de seis plantas por tratamiento con un integrador electrónico modelo LI-3100 (LI-COR, Nebraska, U.S.A.). En los muestreos destructivos a los 45 y 83 ddi (días después de la inoculación), cada planta se defolió y antes del secado se midió el área foliar

3.4.3. Biomasa seca (g/planta)

Durante los muestreos destructivos (45 y 83 ddi) donde se muestrearon seis plantas por tratamiento, cada planta se disectó en sus diferentes órganos (hoja, tallo, raíz y tubérculo) los cuales se colocaron en bolsas de papel y se secaron en una estufa con circulación de aire forzado a 70 °C por 72 h o hasta alcanzar peso constante. Antes de proceder a secar los tubérculos, estos se almacenaron por 5 días para identificar posibles daños ocasionados por la enfermedad. El peso seco de hoja (PSH), peso seco tallo (PST), peso seco raíz (PSR) y peso seco de tubérculo (PSTb) se midió con una balanza electro-analítica marca Sartorius Modelo PT600. El peso de la biomasa total se calculó con la suma de los diferentes órganos de la planta.

3.4.4. Rendimiento de tubérculo (g/planta)

Durante los dos muestreos que se realizaron (45 y 83 ddi) se evaluaron los siguientes componentes: peso fresco de tubérculo(g/planta) , número de tubérculos por planta (NTP), diámetro ecuatorial de cada tubérculo (mm/tubérculo); los cuales se clasificaron en las siguientes categorías propuestas por el Dr. Rivera-Peña y descritas por Hernández-Deheza *et al* (2018): grande (>56

mm), primera clase (45 a 55 mm), segunda clase (35 a 44 mm), tubérculo de tercera (28 a 34 mm), tubérculo de cuarta o residuos (<28 mm).

3.5. Evaluación del porcentaje de daño del área foliar por planta (DAF)

Las plantas inoculadas con *CaLso* fueron monitoreadas a partir del décimo día después de la inoculación hasta el final del ciclo del cultivo, para detectar los síntomas típicos de la enfermedad de acuerdo a la escala 1 a 5 descrita por Hernández-Deheza *et al* (2018) propuesta por el Dr. Rivera Peña, donde 1 = planta asintomática (0 %); 2 = enrollado de las hojas y coloración amarillenta de la planta (25 %); 3 = retraso del crecimiento, epinastia de las hojas y coloración amarillenta de la planta (50 %); 4 = tubérculos aéreos y acostamiento de toda la planta, retraso del crecimiento, y hojas ocasionales de color púrpura (75 %); 5 = muerte de la planta (100 %).

3.6. Calidad de tubérculo

3.6.1. Obtención de imágenes digitales

Para la obtención de imágenes se tomaron cinco tubérculos por tratamiento, cada uno se cortó por la mitad y de cada mitad se tomaron dos rebanadas de aproximadamente 2 mm de grosor, para obtener 10 rebanadas de tubérculo por tratamiento. Las rodajas se frieron en aceite de soya durante 5 min a 180 °C en una freidora eléctrica (Hamilton beach[®] modelo 35033). En total se frieron 80 rebanadas de tubérculo. Se tomaron imágenes digitales de las rebanadas en el plano horizontal en una caja de 0.073m³, forrada de tela negra para homogenizar la intensidad del brillo en las imágenes, con un fondo verde mate a 200dpi. Se utilizó una cámara modelo ZTE Blade V 10 de 16 megapíxel, ISO-100, con balance de blancos fluorescente (4000 K), velocidad de obturador 1/120 s, sin flash. Se tomaron 240 imágenes digitales. Las imágenes se almacenaron en formato JPGE, con una resolución de 4608 x 3456 (4:3).

3.6.2. Segmentación de imágenes

Para la elaboración de escala se utilizaron tubérculos comerciales con síntomas de enfermedad y tubérculos con color uniforme. Los valores de los canales del espacio de color RGB (por sus siglas en inglés: “red”, “green” y “blue”) se obtuvieron a partir de 20 muestras de área de 20 x 20 píxeles de las imágenes digitales correspondientes a los diferentes grados de daño en la pulpa del tubérculo, al fondo y al área sana del tubérculo (tres clases). Para ello, se desarrolló un programas escrito en Visual Basic de Microsoft®. El RGB se refiere a un sistema de coordenadas y sub espacios donde cada color se representa por un solo punto, las muestras se obtuvieron y se almacenaron en una hoja de cálculo. Con el conjunto de datos resultantes se entrenó y probó el clasificador PNN, el cual tiene algoritmos de correlación, la variable de salida tuvo dos clases (píxel perteneciente a área sana y píxel perteneciente a área con manchado (Carrillo-Salazar *et al.*, 2019). Con el clasificador obtenido se identificaron los píxeles pertenecientes a cada categoría y se calculó el porcentaje de superficie sana y el porcentaje de superficie con manchado con respecto a la superficie de la rodaja para 120 imágenes por tratamiento.

3.6.3. Porcentaje del manchado del tubérculo (Mtb)

El clasificador PNN fue entrenado y probado con un sistema computacional Neuroshell Classifier, de Al Trilogy. Esta estrategia de entrenamiento termino cuando el clasificador PNN alcanzo su desempeño máximo al clasificar las variables de entrada (los valores de los canales de los diferentes espacios de color). Para cada escenario de clasificación, se midió el tiempo de entrenamiento del clasificador PNN (Carrillo-Salazar *et al.*, 2019; Zeinali *et al.*, 2017).

Con el clasificador obtenido se identificaron los píxeles pertenecientes a cada categoría y se calculó el porcentaje de superficie con daño (manchado de la pulpa) y el porcentaje de superficie sana, el fondo de la imagen se eliminó con un umbral simple. Los valores RGB de los píxeles del área identificada con manchado del mismo tono se cuantificaron para calcular el porcentaje con la misma intensidad para determinar el porcentaje de daño causado por la bacteria *CaLso*.

3.7. Análisis estadístico

Con el programa estadístico R se hicieron los análisis de varianza y la prueba de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) de las variables respuesta

RESULTADOS

4.1. Variables meteorológicas

4.1.1. Temperatura

Las temperaturas reportadas para el desarrollo óptimo del cultivo de papa en diferentes etapas fenológicas son: 24 a 28 °C para el crecimiento vegetativo, 20 °C para la emergencia de brotes y crecimiento de estolones y 18 a 22 °C para la formación y desarrollo de tubérculos (León *et al.*, 2006).

Las temperaturas registradas durante el ciclo de cultivo fluctuaron entre 12 y 26 °C con un promedio de 19 °C (Figura 6) y 67 % de humedad relativa. Estas temperaturas están dentro del rango de temperatura óptimo para la formación y desarrollo de tubérculos, y 1 °C por debajo de la temperatura apropiada para la emergencia de brotes y crecimiento de estolones y 5 °C por debajo de la mínima óptima para el crecimiento vegetativo.

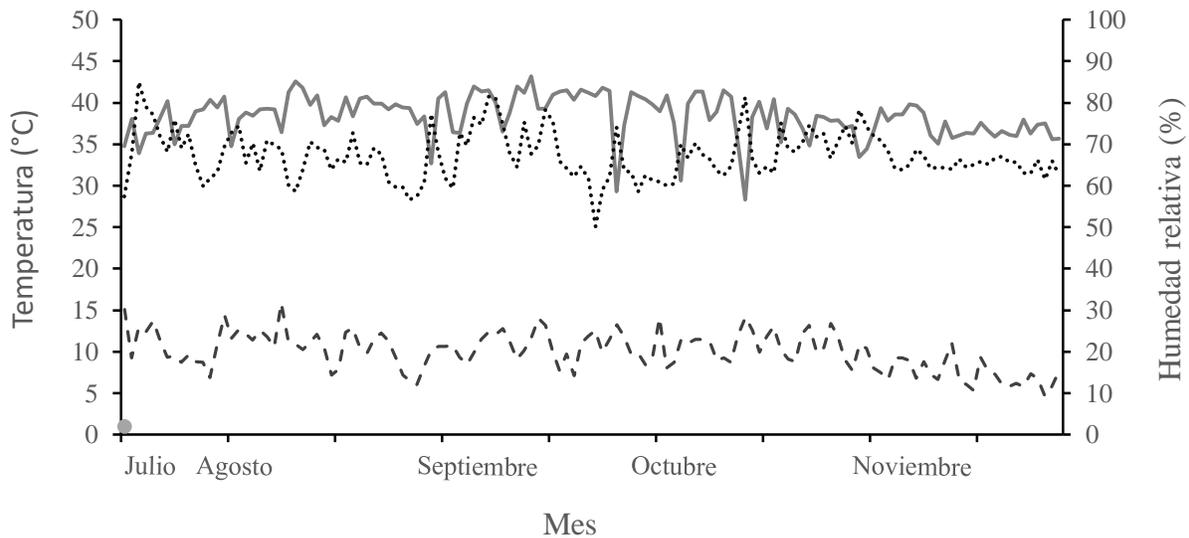


Figura 6. Humedad relativa, Temperaturas máximas — y mínimas --- registradas con un Hobo durante la investigación dentro del invernadero.

La temperatura tiene un efecto significativo en el desarrollo de *CaLso*, el rango de temperaturas reportadas para el desarrollo óptimo de la bacteria dentro de la planta es de 27 a 32 °C. A temperaturas bajas (<17 °C) se afecta la movilidad dentro de la planta, mientras que a temperaturas por encima de 32 °C se inhibe por completo el desarrollo de la bacteria y se dejan de presentar síntomas (Camacho-Tapia *et al.*, 2015; Munyaneza *et al.*, 2012).

Las temperaturas registradas a partir de la inoculación fueron entre los 12 y 22 °C con un promedio de 17 °C y 71 % de humedad relativa. Esta temperatura media estuvo 10 °C por debajo del rango de temperaturas óptimas para el desarrollo de la bacteria en la planta, y fue la mínima para la movilidad de la bacteria.

4.2. Variables respuesta

4.2.1. Intercambio de gases

De acuerdo con el análisis de varianza (Cuadro 3) no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) en las variables respuesta tasa de fotosíntesis (A), conductancia estomática (gs), concentración interna de CO₂ (Ci) y tasa de transpiración (E) por efecto del genotipo (G), inoculación (I) y la interacción (G x I).

Cuadro 3. Valores de F del análisis de varianza de los componentes de intercambio gaseoso en genotipos de papa inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* a los 22 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.

FV	GL	A	gs	Ci	E
G	3	0.48 NS	1.64 NS	0.03 NS	0.57 NS
I	1	0.99 NS	1.53 NS	0.43 NS	0.6 NS
G x I	3	0.77 NS	3.01 NS	0.14 NS	1.2 NS
CV (%)		44	113	18	33

FV= fuentes de variación; GL= grados de libertad; A= tasa de fotosíntesis neta ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$); gs= conductancia estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-1} \text{ s}^{-1}$); Ci= Concentración interna de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$); E= tasa de transpiración ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); G= Genotipo; I= Inoculación; CV= coeficiente de variación; NS= no significativo ($p > 0.05$).

4.2.2. Área foliar (AF, $\text{cm}^2/\text{planta}$)

De acuerdo al análisis de varianza (Cuadro 4) en las dos fechas de muestreo se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.001$), y significativas ($P \leq 0.05$) en el área foliar por efecto del genotipo (G) y la interacción (G x I), respectivamente. En cambio la inoculación (I) no tuvo efecto significativo ($P > 0.05$) en el área foliar.

Cuadro 4. Valores de F del análisis de varianza de la variable área foliar ($\text{cm}^2/\text{planta}$) de genotipos de papa inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.

FV	GL	45 ddi	83 ddi
G	3	9.8 ***	21.1 ***
I	1	1.1	0.1
G x I	3	1.6 *	0.08 *
CV (%)		76	85

FV= fuentes de variación; G=genotipo; I= inoculación; G x I= interacción; CV= coeficiente de variación; GL= grados de libertad; ddi= días después de la inoculación; *** Significancia estadística con $p \leq 0.001$; ** Significancia estadística con $p \leq 0.01$; * Significancia estadística con $p \leq 0.05$.

A los 45 ddi, T05-13-21 y Fianna presentaron las medias de área foliar más bajas (Tukey, 0.05), mientras que a los 83 ddi Fianna presentó la media de área foliar más baja porque las hojas habían senescido (Cuadro 5). En ambas fechas de muestreo la mayor área foliar se observó en el genotipo *Solanum demissum*.

Cuadro 5. Comparación de medias de la variable área foliar (cm²/planta) entre genotipos de papa en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México.

Genotipo	Primer muestreo	Segundo muestreo
	45 ddi	83 ddi
T05-13-21	897.62 c	1309.27 b
<i>S. demissum</i>	2928.02 a	6103.01 a
T90-1-63	1318.90 b	1966.21 b
Fianna	801.73 c	0.00 c
CV (%)	75	81

CV= Coeficiente de variación; ddi= días después de la inoculación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

En la interacción genotipo x interacción (G x I) los clones T05-13-21 (45 ddi) y T90-1-63 (ambas fechas de muestreo) presentaron medias más altas del área foliar en plantas inoculadas; por el contrario Fianna (45 ddi) presentó las medias más altas de área foliar en plantas sin inocular (T1). A los 83 ddi solo en T90-1-63, el área foliar en T2 fue mayor que en T1, mientras que en los demás genotipos las medias entre T1 y T2 fueron iguales. En ambas fechas de muestreo en *Solanum demissum*, las medias de área foliar entre T1 y T2 fueron iguales (Cuadro 6).

Cuadro 6. Comparación de medias del área foliar (cm²/planta) de papa de la interacción genotipo x inoculación con los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco Edo de México, 2019.

G x I	45 ddi		83 ddi	
	T1	T2	T1	T2
T05-13-21	412.55 c	1382.70 b	1089.43 c	1529.12 c
<i>S. demissum</i>	3080.99 a	2775.05 ab	6153.45 a	6052.57 a
T90-1-63	768.25 c	1869.56 b	1704.24 c	2228.18 b
Fianna	1008.71 b	594.76 c	0.00 d	0.00 d
CV (%)	99	51	103	66

CV= Coeficiente de variación; T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*; ddi= días después de la inoculación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

4.2.3. Biomasa seca (g/planta)

De acuerdo al análisis de varianza (Cuadro 7) hubo diferencias altamente significativas ($P \leq 0.001$) en la biomasa seca de las diferentes estructuras vegetales en ambas fechas de muestreo por efecto del genotipo, excepto en PSH (45ddi).

La inoculación (I) fue altamente significativa ($P \leq 0.01$) en PSTb y BT en ambas fechas de muestreo, mientras que en PSR fue significativa ($P \leq 0.05$) y altamente significativas ($P \leq 0.01$) a los 45 ddi y 83 ddi, respectivamente. En PSH el efecto de I fue significativo ($P \leq 0.05$) a los 45 ddi, excepto a los 83 ddi ($P > 0.05$).

Por efecto de la interacción (G x I), se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en PST a los 45 ddi, en PSTb a los 83 ddi y en PSH en ambas fechas de muestreo; y diferencias altamente significativas en $P \leq 0.01$ o $P \leq 0.001$ para PSR y BT en ambas fechas de muestreo, en PST a los 83 ddi y en PSTb a los 45 ddi. Es decir, la interacción fue significativa en ambas fechas de muestreo en la biomasa seca de las diferentes estructuras vegetales.

Cuadro 7. Valores de F del análisis de varianza de las variables de biomasa seca en genotipos de papa inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.

FV	GL	45 ddi					83 ddi				
		PSH	PST	PSR	PSTb	BT	PSH	PST	PSR	PSTb	BT
G	3	2.0	11.8 ***	38.7 ***	33.8 ***	11.4 ***	12.1 ***	20.5 ***	38.6 ***	4.5 ***	1.5 ***
I	1	5.1 *	2.3	5.4 *	9.0 **	1.9 **	0.02	0.6	11.4 **	4.0 **	2.3 **
G x I	3	4.2 *	0.2*	5.0 **	1.9**	2.1***	0.2 *	0.03 **	10.2 ***	2.7 *	2.0 **
CV (%)		27	51	93	29	24	74	72	88	43	36

FV= fuentes de variación; GL= grados de libertad; ddi= días después de la inoculación; G= genotipo; I= inoculación; PSH= peso seco hoja (g/planta); PST= peso seco tallo (g/planta); PSR= peso seco raíz (g/planta); PSTb= peso seco de tubérculos (g/planta); BT= biomasa seca total (g/planta); CV= coeficiente de variación; *** Significancia estadística con $p \leq 0.001$; ** Significancia estadística con $p \leq 0.01$; * Significancia estadística con $p \leq 0.05$.

El genotipo *Solanum demissum* presentó las medias más altas de PSH, PSR y PST, mientras que Fianna presentó las medias más altas de PSTb y BT en ambas fechas de muestreo. Los clones T05-13-21 y T90-1-63 presentaron las medias más bajas de biomasa seca en todas las estructuras de la planta excepto en PSH a los 45 ddi (Cuadro 8).

En ambos muestreos las plantas que fueron inoculadas con la bacteria (T2) mostraron mayor valor de medias de biomasa seca en PSH, PST y PSR, pero el mayor valor de medias de PSTb y BT se registró en plantas que no fueron inoculadas (Cuadro 9).

La variedad Fianna que es susceptible a *Candidatus Liberibacter solanaceum* en ambos muestreos presentó la media más alta de biomasa seca en la estructura vegetal PSTb en T1, en general obtuvo la media más alta de BT en plantas que no fueron inoculadas, en comparación con el resto de los genotipos inoculados y no inoculados.

El genotipo *Solanum demissum* obtuvo las medias más altas de biomasa seca en las estructuras de la planta PSH, PST y PSR en ambas fechas de muestreo, sin embargo a los 45 ddi los valores de PSH y PSR fueron mayores en T2, mientras que en PST no presentó diferencias entre tratamientos. Por el contrario a los 83 ddi las estructuras vegetales PST y PSR presentaron los valores más altos de biomasa seca en T2, mientras que PSH no presentó diferencias entre ambos tratamientos. (Cuadros 10 y 11)

Cuadro 8. Comparación de medias de la biomasa seca (g/planta) de las estructuras vegetales entre genotipos de papa en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

Genotipo	45 ddi					83 ddi				
	PSH	PST	PSR	PSTb	BT	PSH	PST	PSR	PSTb	BT
T05-13-21	16.0 a	9.9 c	0.9 c	91.2 b	118.1 c	14.1 b	7.1 b	0.5 b	128.1 b	149.7 c
<i>S. demissum</i>	19.5 a	19.9 a	35.3 a	42.9 c	117.6 c	55.3 a	29.0 a	9.7 a	88.8 c	182.7 b
T90-1-63	15.2 a	16.0 b	1.9 b	116.5 b	149.5 b	20.0 b	7.9 b	0.7 b	123.5 b	152.0 c
Fianna	17.3 a	5.2 c	2.1 b	162.7 a	187.3 a	16.1 b	4.2 b	0.6 b	171.0 a	191.9 a
CV (%)	32	51	109	30	25	71	70	120	47	37

Primer muestreo= 45 ddi; Segundo muestreo= 83 ddi; PSH= peso seco hoja (g/planta); PST= peso seco tallo (g/planta); PSR= peso seco raíz (g/planta); PSTb= peso seco de tubérculos (g/planta); BT= biomasa seca total (g/planta); CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Cuadro 9. Comparación de medias de la biomasa seca (g/planta) de las estructuras vegetales entre tratamientos en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

Tratamiento	45 ddi					83 ddi				
	PSH	PST	PSR	PSTb	BT	PSH	PST	PSR	PSTb	BT
Sin inocular	15.5 b	11.3 a	6.9 b	116.2 a	149.9 a	25.9 a	11.1 a	1.7 b	143.7 a	182.3 a
Inoculadas	18.5 a	14.2 a	13.2 a	90.5 b	136.4 b	26.8 a	12.9 a	4.1 a	111.9 b	155.8 b
CV (%)	31	66	180	52	31	95	108	177	50	37

PSH= peso seco hoja (g/planta); PST= peso seco tallo (g/planta); PSR= peso seco raíz (g/planta); PSTb= peso seco de tubérculos (g/planta); BT= biomasa seca total (g/planta); ddi= días después de la inoculación; T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*; CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Cuadro 10. Comparación de medias de la biomasa seca (g/planta) de las estructuras vegetales de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanaceum* a los 45 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

G x T	PSH		PST		PSR		PSTb		BT	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
T05-13-21	14.3 c	17.8 b	9.4 c	10.4 b	0.9 d	0.9 d	90.5 c	92.0 c	115.1 c	121.1 c
<i>S. demissum</i>	15.1 bc	23.9 a	18.6 ab	21.1 a	23.1 b	47.6 a	54.5 d	31.3 d	111.3 c	123.9 c
T90-1-63	13.1 c	17.3 b	13.5 b	18.4 ab	2.0 c	1.8 c	144.7 b	88.3 c	173.3 b	125.7 c
Fianna	19.5 b	15.1 bc	3.8 d	6.7 c	1.6 c	2.6 c	175.1 a	150.3 b	200.0 a	174.7 b
CV (%)	31	24	56	47	90	89	33	18	27	19

T1= plantas sin inocular; T2= plantas inoculadas con *CaLso*; PSH= peso seco hoja (g/planta); PST= peso seco tallo (g/planta); PSR= peso seco raíz (g/planta); PSTb= peso seco de tubérculos (g/planta); BT= biomasa seca total (g/planta); CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Cuadro 11. Comparación de medias de la biomasa seca (g/planta) de las estructuras vegetales de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanaceum* a los 83 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

G x T	PSH		PST		PSR		PSTb		BT	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
T05-13-21	11.7 c	16.5 c	6.0 c	8.2 c	0.5 c	0.5 c	146.1 b	110.0 b	164.3 b	135.3 c
<i>S. demissum</i>	57.5 a	53.0 ab	27.7 b	30.2 a	4.9 b	14.4 a	92.6 c	85.0 c	182.7 b	182.6 b
T90-1-63	21.6 b	18.3 b	6.8 c	9.0 c	0.5 c	0.8 c	114.3 b	132.6 b	143.2 c	160.7 b
Fianna	12.9 c	19.3 b	3.9 c	4.5 c	0.6 c	0.7 c	221.7 a	120.2 b	239.1 a	144.7 c
CV (%)	86	59	95	49	40	74	144	47	34	38

T1= plantas sin inocular; T2= plantas inoculadas con *CaLso*; PSH= peso seco hoja (g/planta); PST= peso seco tallo (g/planta); PSR= peso seco raíz (g/planta); PSTb= peso seco de tubérculos (g/planta); BT= biomasa seca total (g/planta); CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

4.2.4. Rendimiento (g/planta) y calidad de tubérculo

Como puede observarse en el análisis de varianza (Cuadro 12) se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.001$) en el peso de la biomasa fresca del tubérculo (rendimiento), número total de tubérculos por planta (NTP) y en el número total de tubérculos por planta clasificados por calidad, por efecto del genotipo en ambas fechas de muestreo.

El efecto de la inoculación fue altamente significativa ($P \leq 0.01$) en el rendimiento y en el número de tubérculos de calidad grande a los 45 ddi, y significativa ($P \leq 0.05$) en el número de tubérculos de primera y segunda calidad a los 45 ddi, en el número de tubérculos por planta (NTP) y el número de tubérculos de calidad grande a los 83 ddi, y en el número de tubérculos de cuarta calidad en ambas fechas de muestreo.

En la interacción (G x I) se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en el rendimiento de tubérculo, número de tubérculos de calidad grande, número de tubérculos de primera calidad y el número de tubérculos de cuarta calidad en ambas fechas de muestreo. También hubo diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en el número de tubérculos por planta (NTP) a los 45 ddi, y en el número de tubérculos de segunda y tercera calidad en ambas fechas de muestreo.

Cuadro 12. Valores de F del análisis de varianza de rendimiento (g/planta) y calidad de tubérculo en genotipos de papa inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.

FV	GL	45 ddi								83 ddi					
		Rendimiento	NTP	Calidad, número de tubérculos por planta					Rendimiento	NTP	Calidad, número de tubérculos por planta				
				Grande	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a			Grande	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
G	3	98.9 ***	16.9 ***	7.8 ***	30.6 ***	7.8 ***	7.7 ***	19.7 ***	41.2 ***	45.4 ***	15.3 ***	14.5 ***	11.6 ***	13.1 ***	49.9 ***
I	1	8.0 **	0.2	2.2 **	1.8 *	0.3 *	0.7	0.2 *	0.01	3.1 *	2.5 *	2.3	0.4	0.6	3.0 *
G x I	3	1.6 **	0.1 *	2.1 **	0.8 **	2.2 *	1.4 *	0.1 **	2.5 **	3.0 **	1.7 **	0.3 **	0.3 *	0.7 *	3.1 **
CV (%)		22	110	175	72	86	101	129	30	81	145	95	71	100	90

FV= fuentes de variación; GL= grados de libertad; G= genotipo; I= inoculación; ddi= días después de la inoculación; Rendimiento= peso de biomasa fresca de tubérculo (g/planta); NTP= número total de tubérculos por planta; Clasificación de tubérculos; grande (> 56 mm); 1a= primera clase (45 a 55 mm); 2a= segunda clase (35 a 44 mm); 3a= tercera clase (28 a 34 mm); 4a= cuarta clase o residuos (< 28 mm), CV= coeficiente de variación; *** Significancia estadística con $p \leq 0.001$; ** Significancia estadística con $p \leq 0.01$; * Significancia estadística con $p \leq 0.05$.

Fianna presentó los valores de medias más altos en peso de biomasa fresca de tubérculo (g/planta), número de tubérculos de calidad grande, número de tubérculos de primera y segunda calidad en ambas fechas de muestreo (Cuadro 13). En ambos muestreos T90-1-63 obtuvo el valor de media más alto de número de tubérculos de tercera calidad, mientras que *Solanum demissum* presentó las medias más altas de NTP y de número de tubérculos de cuarta calidad.

Las plantas que no fueron inoculadas (T1) presentaron medias más altas de peso de biomasa fresca de tubérculos por planta, número de tubérculos de primera, segunda y tercera calidad en ambas fechas de muestreo. A los 45 ddi las plantas que no fueron inoculadas (T1) presentaron el valor de medias en NTP más alto, mientras que a los 83 ddi NTP fue mayor en T2. En ambas fechas de muestreo en T2 se observaron medias más altas de número de tubérculos de cuarta calidad (Cuadro 14).

Cuadro 13. Comparación de medias de rendimiento (g/planta) y calidad de tubérculo entre genotipos en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

Genotipo	45 ddi							83 ddi						
	Rendimiento	NTP	Calidad, número de tubérculos por planta					Rendimiento	NTP	Calidad, número de tubérculos por planta				
			Grande	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a			Grande	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
T05-13-21	513.2 b	6.4 b	0.3 b	1.5 b	2.2 b	1.5 b	0.9 c	618.7 b	9.1 b	0.3 b	1.6 b	3.0 a	1.3 b	3.0 b
<i>S. demissum</i>	134.6 c	96.1 a	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	97.0 a	274.1 c	182.9 a	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c	182.7a
T90-1-63	452.5 b	5.4 b	0.0 c	0.2 c	2.8 b	3.1 a	10.5 b	357.1 c	13.9 b	0.0 b	0.3 c	2.3 b	5.3 a	3.0 b
Fianna	888.8 a	3.1 b	1.0 a	2.6 a	3.2 a	1.7 b	3.3 b	947.0 a	11.6 b	1.5 a	2.2 a	3.4 a	2.1 b	2.5 b
CV (%)	24	106	185	72	89	101	124	31	88	151	94	69	98	99

Rendimiento= peso de biomasa fresca de tubérculo (g/planta); NTP= número total de tubérculos por planta; ddi= días después de la inoculación; Clasificación de tubérculos; grande (> 56 mm); 1a= primera clase (45 a 55 mm); 2a= segunda clase (35 a 44 mm); 3a= tercera clase (28 a 34 mm); 4a= cuarta clase o residuos (< 28 mm); CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Cuadro 14. Comparación de medias de rendimiento y calidad de tubérculo entre tratamientos en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

Tratamiento	45 ddi							83 ddi						
	Rendimiento	NTP	Calidad, número de tubérculos por planta					Rendimiento	NTP	Calidad, número de tubérculos por planta				
			Grande	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a			Grande	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
Sin inocular	541.4 a	30.8 a	1.0 a	1.2 a	2.2 a	1.4 a	25.6 b	551.1 a	43.2 b	0.8 a	0.9 a	2.3 a	2.0 a	37.6 b
Inoculadas	453.2 b	34.9 a	0.2 b	0.9 b	1.8 b	1.8 a	30.2 a	547.4 a	65.5 a	0.2 b	1.2 a	2.0 a	2.4 a	59.6 a
CV (%)	59	155	216	127	107	122	155	57	163	204	128	91	133	188

T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*; ddi= días después de la inoculación; Rendimiento= peso de biomasa fresca de tubérculo (g/planta); NTP= número de tubérculos por planta; Clasificación de tubérculos; grande (> 56 mm); 1a= primera clase (45 a 55 mm); 2a= segunda clase (35 a 44 mm); 3a= tercera clase (28 a 34 mm); 4a= cuarta clase o residuos (< 28 mm); CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

La media del rendimiento de Fianna fue mayor en plantas que no fueron inoculadas en ambos muestreos. En los demás genotipos las medias de rendimiento fueron iguales entre plantas inoculadas y no inoculadas a los 45 ddi (Cuadro 15), mientras que a los 83 ddi se observó en *Solanum demissum* y T90-1-63 mayor biomasa de tubérculo fresco en plantas inoculadas, y en T05-13-21 el rendimiento no fue diferente entre T1 y T2 (Cuadro 16).

El número de tubérculos por planta de *Solanum demissum* fue mayor en T2 que en T1 en ambas fechas de muestreo. En los demás genotipos el número de tubérculos no fue afectado por la inoculación.

En cuanto a la calidad de tubérculo, Fianna presentó medias más altas de número de tubérculos grandes en plantas sin inocular durante ambos muestreos; sin embargo, presentó medias más altas del número de tubérculos de primera calidad en T1 a los 45 ddi y en T2 a los 83 ddi.

El número de tubérculos de segunda calidad de T90-1-63 y T05-13-21 fue mayor en plantas sin inocular a los 45 y 83 ddi, respectivamente, mientras que en los demás genotipos las medias de esta variable fueron iguales entre plantas inoculadas y sin inocular.

Las medias de número de tubérculos de tercera calidad de plantas inoculadas y sin inocular fueron iguales en la mayoría de los genotipos en ambas fechas de muestreo, excepto en T90-1-63 que fue mayor en T1 a los 45 ddi, y en T2 a los 83 ddi. También en Fianna se observó mayor número de tubérculos de tercera calidad en T2 que en T1 a los 45 ddi.

Solanum demissum fue el único genotipo que presentó diferencias en número de tubérculos de cuarta calidad entre T1 y T2 con la mayor media en T2 en ambas fechas de muestreo.

Cuadro 15. Comparación de medias de rendimiento y calidad de tubérculo de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* a los 45 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

G x T	Rendimiento		NTP		Calibre de Tubérculos									
	T1	T2	T1	T2	Grande		1 ^a		2 ^a		3 ^a		4 ^a	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
T05-13-21	512.2 c	514.2 c	5.8 c	7.0 c	0.3 b	0.4 b	1.6 c	1.3 c	1.8 b	2.5 b	1.2 b	1.8 b	0.8 d	1.0 cd
<i>S. emissum</i>	160.9 d	108.3 d	89.3 b	104.5 a	0.0 c	0.0 c	0.0 d	0.0 d	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	89.3 b	104.5 a
T90-1-63	539.9 c	365.2 c	17.0 c	16.0 c	0.0 c	0.0 c	0.2 d	0.1 d	4.0 a	1.5 b	3.5 a	2.7 b	9.3 c	11.7 c
Fianna	952.5 a	825.2 b	11.2 c	12.2 c	1.5 a	0.5 b	3.0 a	2.2 b	2.8 b	3.5 b	0.8 c	2.5 b	3.0 c	3.5 c
CV (%)	22	21	112	108	161	181	65	81	84	90	75	113	135	125

Rendimiento= peso de biomasa fresca de tubérculo (g/planta); NTP= número de tubérculos por planta; Clasificación de tubérculos; grande (> 56 mm); 1^o= primera clase (45 a 55 mm); 2^o= segunda clase (35 a 44 mm); 3^o= tercera clase (28 a 34 mm); 4^o= cuarta clase o residuos (< 28 mm); T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05)

Cuadro 16. Comparación de medias de rendimiento y calidad de tubérculo de la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de *Candidatus* *Liberibacter solanacearum* a los 83 días después de la inoculación en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

G x T	Rendimiento		NTP		Calibre de Tubérculos									
	T1	T2	T1	T2	Grande		1ª		2ª		3ª		4ª	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
T05-13-21	645.8 c	591.7 c	10.7 c	7.5 c	0.3 c	0.2 c	1.3 b	1.8 b	3.5 a	2.5 b	1.5 c	1.0 c	4.0 c	2.0 c
<i>S. demissum</i>	234.4 e	313.8 d	138.3 b	227.5 a	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 d	0.0 d	138.3 b	227.5 a
T90-1-63	282.3 e	432.0 d	12.7 c	15.2 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.5 c	2.5 b	2.2 b	4.3 b	6.2 a	5.8 c	6.3 c
Fianna	1041.9 a	852.1 b	11.2 c	12.0 c	2.0 a	1.0 b	1.8 b	2.5 a	3.3 a	3.5 a	1.8 c	2.3 c	2.2 c	2.7 c
CV (%)	24	35	64	85	129	169	106	86	76	64	59	118	73	94

Rendimiento= peso de biomasa fresca de tubérculo (g/planta); NTP= número de tubérculos por planta; Clasificación de tubérculos; grande (> 56 mm); 1º= primera clase (45 a 55 mm); 2º= segunda clase (35 a 44 mm); 3º= tercera clase (28 a 34 mm); 4º= cuarta clase o residuos (< 28 mm); T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus* *Liberibacter solanacearum*; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

4.2.5. Porcentaje de daño en área foliar por planta (DAF)

De acuerdo con el análisis de varianza (Cuadro 17) se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.001$) del porcentaje de daño en área foliar por planta (DAF) por efecto del genotipo (G), inoculación (I) y la interacción (G x I) a los 20, 50 y 83 ddi (cosecha).

Cuadro 17. Valores de F del análisis de varianza del porcentaje de daño del área foliar en plantas de papa inoculadas con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.

FV	GL	20 ddi	50 ddi	83 ddi
G	3	7.4 ***	35.6 ***	29.5 ***
I	1	106.2 ***	189.6 ***	165.3 ***
G x I	3	7.3 ***	20.6 ***	36.98 ***
CV (%)		19	8	9

FV= fuentes de variación; GL= grados de libertad; G= genotipo; I= inoculación; Primer muestreo= 20 ddi; Segundo muestreo= 50 ddi; Tercer muestreo= 83 ddi; CV= coeficiente de variación; *** Significancia estadística con $p \leq 0.001$; ** Significancia estadística con $p \leq 0.01$; * Significancia estadística con $p \leq 0.05$.



Figura 7. Daño por *CaLso* en área foliar de plantas de papa del 75% se observó retraso del crecimiento, hojas ocasionales de color púrpura, acostamiento de la planta y inicio de formación de tubérculos aéreos

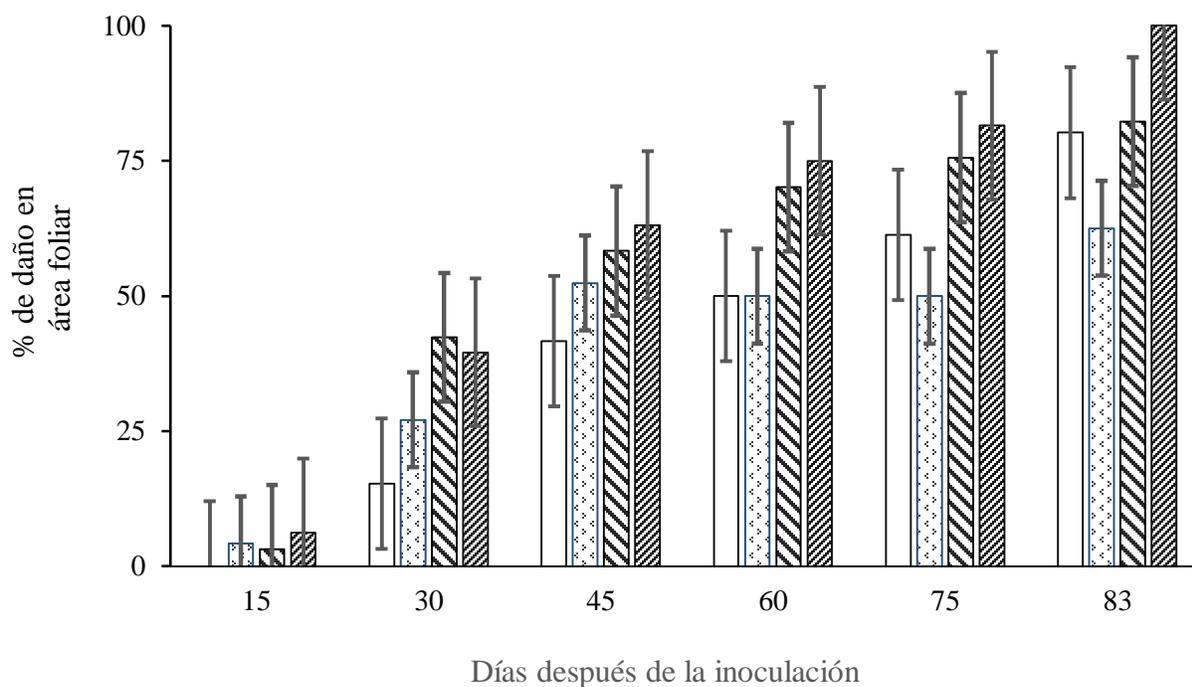


Figura 8. Daño foliar (%) en los genotipos a) □ T05-13-21, b) ▤ *Solanum demissum*, c) ▨ T90-1-63, d) ▩ Fianna, después de la inoculación (ddi) con la combinación de los haplotipos LsoA + Lso B (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.

A los 20 ddi el clon T05-13-21 presentó la media de DAF más baja mientras que el resto de los genotipos presentaron medias iguales (Tukey, 0.05). T90-1-63 y Fianna presentaron mayor DAF que *Solanum demissum* y T05-13-21 a los 50 ddi. En la cosecha, el clon T90-1-63 presentó la media de DAF más alta, seguido de Fianna, mientras que el clon T05-13-21 y *Solanum demissum* presentaron los menores valores (Cuadro 18).

Las plantas inoculadas presentaron mayor DAF (Cuadro 19) y en la interacción todos los genotipos presentaron mayor DAF en plantas inoculadas (Figura 8), donde Fianna presentó las medias más altas en plantas inoculadas, en comparación con lo observado en los otros genotipos (Cuadro 20).

Cuadro 18. Comparación de medias de porcentaje de daño del área foliar entre genotipos de papa en tres fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

Genotipo	Primer muestreo	Segundo muestreo	Tercer muestreo
	20 ddi	50 ddi	83 ddi
T05-13-21	1.1 b	2.0 b	2.7 c
<i>S. demissum</i>	1.5 a	2.0 b	2.5 c
T90-1-63	1.5 a	2.6 a	3.4 a
Fianna	1.5 a	2.5 a	3.0 b
CV (%)	37	54	57

Escala de porcentaje del daño de área foliar por planta donde 1 = planta asintomática (0 %); 2 = enrollado de las hojas y coloración amarillenta de la planta (25 %); 3 = retraso del crecimiento, epinastia de las hojas y coloración amarillenta de la planta (50 %); 4 = tubérculos aéreos y rodadura de toda la planta, retraso del crecimiento, y hojas ocasionales de color púrpura (75 %); 5 = muerte de la planta (100 %); ddi= días después de la inoculación; CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Cuadro 19. Comparación de medias del porcentaje de daño en área foliar por planta entre tratamientos de papa en tres fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

Tratamiento	20 ddi	50 ddi	83 ddi
Sin Inocular	1.0 b	1.1 b	1.4 b
Inoculadas	1.8 a	3.4 a	4.4 a
CV (%)	26	17	20

T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*; Escala de porcentaje de daño en área foliar donde 1 = planta asintomática (0 %); 2 = enrollado de las hojas y coloración amarillenta de la planta (25 %); 3 = retraso del crecimiento, epinastia de las hojas y coloración amarillenta de la planta (50 %); 4 = tubérculos aéreos y rodadura de toda la planta, retraso del crecimiento, y hojas ocasionales de color púrpura (75 %); 5 = muerte de la planta (100 %); ddi= días después de la inoculación; CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Cuadro 20. Comparación de medias del porcentaje de daño en área foliar en plantas de papa en la interacción entre genotipo y la inoculación con los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en tres fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

G x T	20 ddi		50 ddi		83 ddi	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2
T05-13-21	1.0 c	1.2 b	1.0 e	3.0 c	1.0 d	4.3 b
S. <i>demissum</i>	1.0 c	2.0 a	1.0 e	3.0 c	1.0 d	4.0 b
T90-1-63	1.0 c	2.0 a	1.5 d	3.7 b	2.5 c	4.3 b
Fianna	1.0 c	2.0 a	1.0 e	4.0 a	1.0 d	5.0 a
CV (%)	2	21	3	8	4	8

T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*; Escala de porcentaje de daño en área foliar donde 1 = planta asintomática (0 %); 2 = enrollado de las hojas y coloración amarillenta de la planta (25 %); 3 = retraso del crecimiento, epinastia de las hojas y coloración amarillenta de la planta (50 %); 4 = tubérculos aéreos y rodadura de toda la planta, retraso del crecimiento, y hojas ocasionales de color púrpura (75 %); 5 = muerte de la planta (100 %); ddi= días después de la inoculación; CV= Coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

4.2.6. Calidad

4.2.6.1. Manchado de la pulpa de tubérculo (Mtb)

De acuerdo al análisis de varianza (Cuadro 21) en las dos fechas de muestreo se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en todas las clases de Mtb por efecto del genotipo (G), inoculación (I) y la interacción (G x I), excepto en la clase 5 a los 45 ddi y en la clase 4 a los 83 ddi en donde el efecto de G fue significativo con $P \leq 0.05$. En cambio no fue significativo ($P > 0.05$) el efecto del el genotipo (45 ddi) y la inoculación (83 ddi) en la clase 3. Cabe mencionar que no se observaron valores de Mtb en la clase 2.

Cuadro 21. Valores de F del análisis de varianza del manchado de la pulpa de tubérculo (%) en genotipos inoculados con la combinación de los haplotipos LsoA + LsoB (LsoAB) de *Candidatus Liberibacter solanacearum* de dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2019.

V	GL	45 ddi					83 ddi				
		Clases evaluadas en el % de Mtb					Clases evaluadas en el % de Mtb				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
G	3	7.1 ***	0	2 NS	19.3 ***	3.3 *	5.0 **	0	14.0 **	2.0 *	7.3 ***
I	1	89.2 ***	0	10.1 **	156.2 ***	38.0 ***	94.4 ***	0	0.3 NS	86.0 ***	56.2 ***
G x I	3	7.5 ***	0	3.6 **	21.8 **	3.0 **	7.6 ***	0	0.2 **	4.5 **	6.9 ***
CV (%)		28	0	155	67	137	27	0	148	72	115

FV= fuentes de variación; GL= grados de libertad; G= genotipo; I= inoculación; Primer muestreo= 45 ddi; Segundo muestreo= 83 ddi; Clase 1= 0% oscurecimiento; Clase 5= nivel máximo de oscurecimiento; Mtb= manchado del tubérculo; CV= coeficiente de variación; *** Significancia estadística con $p \leq 0.001$; ** Significancia estadística con $p \leq 0.01$; * Significancia estadística con $p \leq 0.05$; NS= No significativo.

T05-13-21 y Fianna presentaron las medias de Mtb más altas de la clase 1 y las medias de Mtb más bajas en la clase 5 a los 45 ddi. Ambos cultivares también presentaron media iguales en las categorías 1, 3 y 5 a los 83 ddi, además Fianna y *Solanum demissum* presentaron medias de Mtb más altas en la clase 4 que los clones en esta fecha de muestreo. T90-1-63 presentó la media de Mtb más alta en la clase 1 y la media más baja en la clase 5 a los 83 ddi, y a los 45 ddi presentó la menor superficie en la clase 4 junto con T05-13-21. *Solanum demissum* presentó la media de Mtb más baja en la clase 1 y la media más alta de la clase 5 en ambas fechas de muestreo. A los 45 ddi los genotipos presentaron las mismas medias de Mtb en la clase 3, y solo T90-1-63 presentó la media de Mtb más alta a los 83 ddi pero solo fue 0.4 % (Cuadro 22).

Sin inoculación la superficie sana fue mayor a 96 %, mientras que los tubérculos de las plantas inoculadas presentaron cerca de 50 % de Mtb repartido casi equitativamente en las clases 4 y 5 en ambas fechas de muestreo; en la clase 3 solo se observó mayor valor de Mtb en T2 a los 45 ddi, aunque los valores en ambas fechas de muestreo fueron menores a 1 % (Cuadro23).

Los porcentajes de superficie sana en los tubérculos de los diferentes genotipos fueron mayores a 97 % en ambas fechas de muestreo, excepto a los 83 ddi en T90-1-63 debido posiblemente a que las plantas venían contaminadas con la bacteria desde su propagación *in vitro*; en todos los casos fue menor la superficie sana en plantas inoculadas, donde *Solanum demissum* fue la que presentó la mayor reducción de superficie sana (clase 1) en ambas fechas de muestreo, mientras que T90-1-63 presentó la mayor superficie sana en tubérculos de plantas inoculadas (cerca de 80 %) en la cosecha. Los valores de superficie sana de tubérculos de Fianna inoculados fueron similares a T05-13-21.

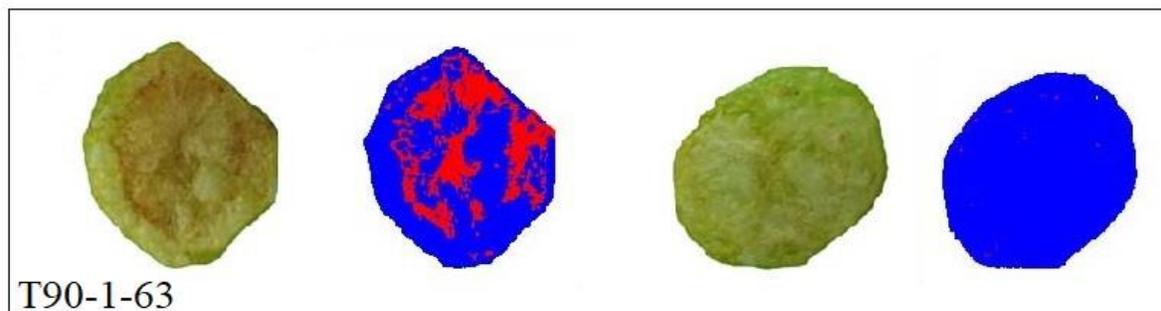
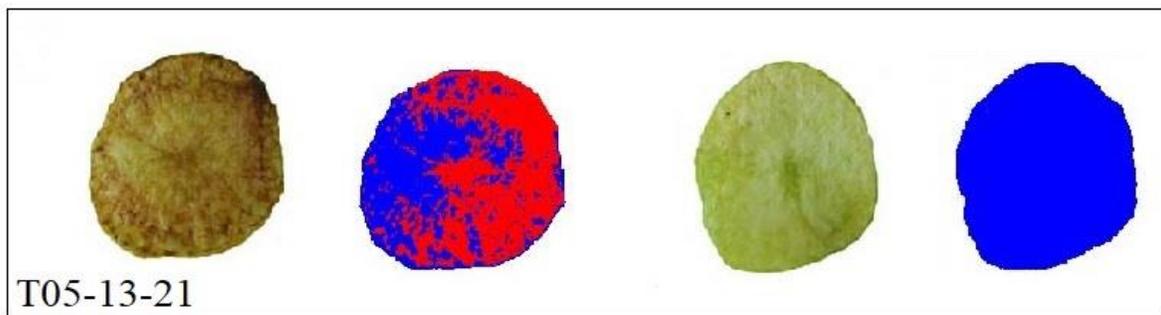
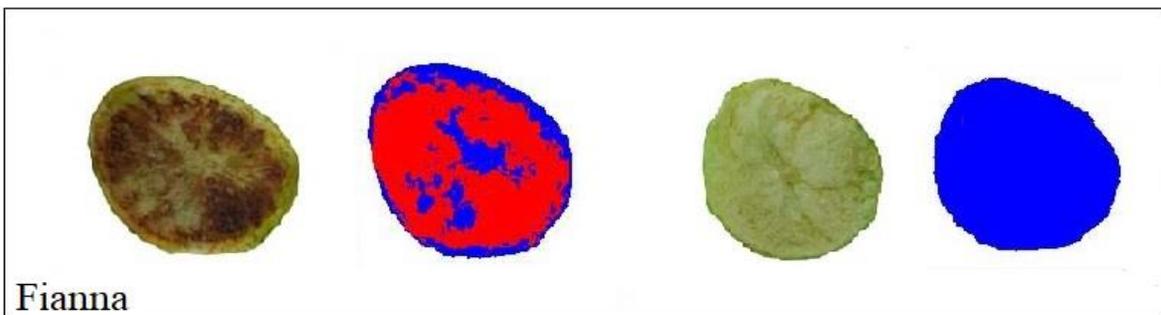
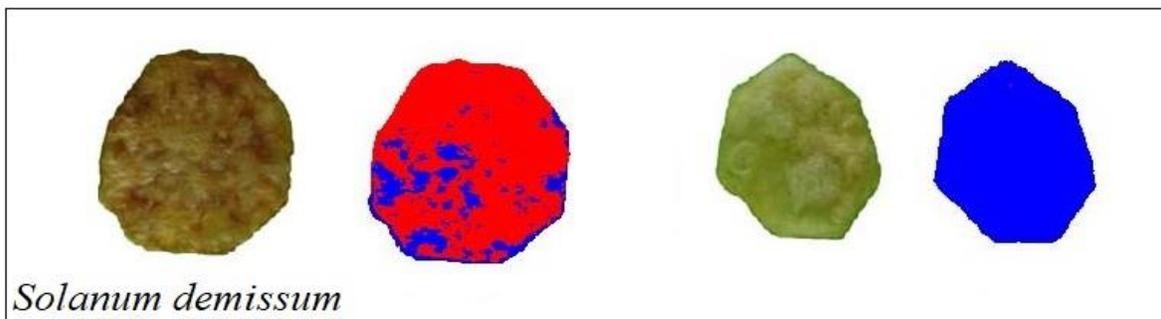


Figura 9. Ejemplos del manchado interno de la pulpa en rodajas de papa mediante el procesamiento de imágenes y uso de un clasificador PNN; Superficie con manchado se representa en color rojo, superficie sana se representa en color azul. Derecha tubérculo de plantas inoculadas con *CaLso*. Izquierda tubérculos de plantas sin inocular

Los porcentajes más bajos de Mtb de plantas inoculadas fueron en clase 3 con valores menores a 1 %, por lo que esta clase no es representativa del daño causado por la bacteria. En ambas fechas de muestreo las plantas inoculadas con la bacteria presentaron mayor porcentaje de Mtb en las clases 4 y 5. En clase 4, los clones T90-1-63 y T05-13-21 presentaron los valores de Mtb más bajos (< 20 %) en ambas fechas de muestreo. Sin embargo en clase 5 Fianna y T05-13-21 presentaron los valores de Mtb más bajos a los 45 ddi (< 12 %) y T90-13-21 presentó el valor más bajo de Mtb (3.2 %) a los 83 ddi. *Solanum demissum* presentó en general el porcentaje total de superficie de Mtb más alto en las clases 4 y 5 (mayor a 70%), en comparación con el resto de los genotipos inoculados en ambas fechas de muestreo (Cuadro 24).

Cuadro 22. Comparación de medias del manchado de la pulpa de tubérculo entre genotipos durante dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

Genotipo	45 ddi					83 ddi				
	Superficie sana	Clases evaluadas en el % de Mtb				Superficie sana	Clases evaluadas en el % de Mtb			
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
T05-13-21	87.7 a	0.0 a	0.06 a	6.2 c	6.1 c	78.0 b	0.0 a	0.03 b	9.9 b	12.1 b
<i>S. demissum</i>	58.5 c	0.0 a	0.02 a	24.6 a	16.9 a	61.5 c	0.0 a	0.07 b	16.7 a	21.7 a
T90-1-63	77.1 b	0.0 a	0.08 a	7.3 c	15.6 b	85.0 a	0.0 a	0.4 a	12.8 b	1.8 c
Fianna	81.5 a	0.0 a	0.09 a	13.0 b	5.4 c	72.6 b	0.0 a	0.09 b	16.2 a	11.2 b
CV (%)	43	0	171	132	172	42	0	145	108	162

Clase1= 0% oscurecimiento; Clase 5= nivel máximo de oscurecimiento; CV= coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Cuadro 23. Comparación de medias del manchado de la pulpa de tubérculo entre tratamientos en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

Tratamiento	45 ddi					83 ddi				
	Superficie sana	Clases evaluadas en el % de Mtb				Superficie sana	Clases evaluadas en el % de Mtb			
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Sin inocular	98.6 a	0.0 a	0.03 b	0.8 b	0.6 b	95.9 a	0.0 a	0.17 a	3.5 b	0.4 b
Inoculadas	53.8 b	0.0 a	0.1 a	24.8 a	21.3 a	52.6 b	0.0 a	0.14 a	24.3 a	23.0 a
CV (%)	34	0	165	106	148	32	0	179	78	140

Clase1= 0% oscurecimiento; Clase 5= nivel máximo de oscurecimiento; T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*; CV= coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Cuadro 24. Comparación de medias del manchado de la pulpa de tubérculo de la interacción entre genotipo y la inoculación en dos fechas de muestreo en Montecillo, Texcoco, Edo de México, 2019.

	45 ddi										83 ddi									
	Superficie sana		Clases evaluadas en el % de Mtb								Superficie sana		Clases evaluadas en el % de Mtb							
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
T05-13-21	98.0 b	77.4 c	0.0 a	0.0 a	0.03 b	0.09 ab	1.4 d	11.0 c	0.6 d	11.5 c	99.1 a	57.0 d	0.0 a	0.0 a	0.04 c	0.02 c	0.7 d	19.1 b	0.2 d	23.9 b
<i>S. demissum</i>	99.2 a	17.8 d	0.0 a	0.0 a	0.00 c	0.04 b	0.3 de	48.9 a	0.5 d	33.3 a	96.9 ab	26.1 e	0.0 a	0.0 a	0.09 c	0.04 c	2.1 d	31.3 a	0.9 d	42.6 a
T90-1-63	97.2 b	57.0 c	0.0 a	0.0 a	0.07 b	0.07 b	1.4 d	13.2 c	1.3 d	29.8 b	90.6 b	79.4 c	0.0 a	0.0 a	0.04 c	0.5 a	8.6 c	16.9 b	0.3 d	3.2 c
Fianna	99.9 a	63.0 c	0.0 a	0.0 a	0.00 c	0.18 a	0.02 e	26.0 b	0.0 d	10.8 c	97.1 a	48.0 d	0.0 a	0.0 a	0.1 b	0.05 c	2.7 d	29.7 ab	0.1 d	22.3 b
CV (%)	3	28	0	0	107	128	192	49	114	99	5	53	0	0	155	134	126	55	183	83

Clase1= 0% oscurecimiento; Clase 5= nivel máximo de oscurecimiento; T1= Plantas sin inoculación; T2= Plantas inoculadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum*; CV= coeficiente de variación; Medias con distintas letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

DISCUSIÓN

Candidatus Liberibacter solanacearum (CaLso) produce la enfermedad conocida como “manchado de la pulpa del tubérculo” o “Zebra Chip” (ZC, por sus siglas en inglés) caracterizada por producir deformación de tubérculos y oscurecimiento de la pulpa cuando se fríen; las pérdidas económicas de esta enfermedad pueden ser hasta del 90 % tanto en campo como en el proceso agroindustrial (Melgoza *et al.*, 2018; Munyaneza *et al.* 2007).

De acuerdo a Munyaneza *et al.* (2012), temperaturas por debajo de 17 °C afectan la movilidad de la bacteria (CaLso) dentro de la planta, mientras que mayores a 32 °C inhiben su multiplicación, ya que su desarrollo óptimo se encuentra entre 27 y 32 °C. Para el cultivo de papa las temperaturas óptimas dependen de la etapa vegetativa en que se encuentra la planta (Flores *et al.*, 2014); temperaturas de 24 a 28 °C favorecen el crecimiento vegetativo, 20 °C promueve la emergencia de brotes y el crecimiento de estolones (Rousselle *et al.*, 1996), y de 18 a 22 °C se forman y desarrollan tubérculos (Manrique, 1993). Durante el ciclo del cultivo la temperatura media del aire (19 °C) fue menor al rango de temperaturas óptimas para el crecimiento vegetativo de la planta, aunque fue óptimo para la formación y desarrollo de tubérculos, mientras que la temperatura media del aire desde la inoculación hasta la cosecha (17 °C) se ubicó en el límite inferior del rango de temperaturas para el desarrollo de CaLso, por lo que se esperaría que los síntomas de la enfermedad no fueran tan acentuados debido a la sensibilidad de la bacteria a temperaturas bajas. Aun así, en nuestra investigación la mayoría de las variables respuesta evaluadas en los genotipos de papa fue afectada por la bacteria.

En México existe una gran diversidad de papas silvestres de gran interés para el mejoramiento genético, con variación en forma, color, aunque con tubérculos de menor tamaño que las papas cultivadas (Rodríguez *et al.*, 2010). Además poseen genes que les permiten expresar características

de resistencia en hojas y tubérculos a plagas, enfermedades y estrés ambiental (Hawkes, 1990). También la resistencia a las enfermedades depende de la interacción entre factores ambientales y factores genéticos, a través de manifestaciones de carácter físico y bioquímico. Como respuesta a los agentes patógenos algunas especies de papa tienden a formar gran cantidad de estolones para aumentar el número de tubérculos y garantizar la supervivencia de la especie, por ende desarrollan mayor área foliar para abastecer las demanda de tuberización (Veitía *et al.*, 2004). Las plantas sanas de *Solanum demissum* presentaron la mayor área foliar por planta, además produjeron el mayor número de tubérculos por planta, aunque de menor tamaño y por ende rendimientos y categorías de calidad más bajas (tubérculos de 4^a calidad), que los demás genotipos evaluados. Sin embargo las plantas inoculadas presentaron porcentaje de daño foliar (75 %) menor con respecto a los demás genotipos; además el rendimiento y el número de tubérculos por planta aumentó significativamente en comparación con plantas sanas, con un total de 73 % de manchado interno de la pulpa en las clases de mayor grado de oscurecimiento (4 y 5). Los tubérculos en general fueron de menor tamaño que los registrados por Vossen *et al.* (2016).

Los cultivares mejorados se caracterizan por presentar altos rendimientos y excelente calidad para la industria Sin embargo durante el fitomejoramiento se pierde variabilidad genética, y tienden a ser susceptibles a diversos patógenos (Parga *et al.*, 2009). Fianna es una de las variedades introducidas al país, de origen europeo que produce tubérculos de calibre grande a muy grande, con características deseables para el mercado fresco e industrial. En condiciones adecuadas produce follaje de cobertura media, y alta producción de biomasa seca; presenta resistencia a PLRV (Potato Leafroll Virus), a *Spongospora subterránea*, y tolerancia a *Phytophthora infestans* (SAGARPA, 2009). Sin embargo, Rivadeneira *et al.* (2011) encontraron que Fianna cuando se expone al oomiceto de *P. infestans* presenta valores de daño foliar mayores a 95 % y rendimiento

de tubérculo de solo 380 g/planta. En nuestra investigación, Fianna presentó el mayor porcentaje de severidad con 100 % de senescencia foliar en plantas inoculadas con *CaLso*, aunque el rendimiento fue significativamente mayor comparado con el rendimiento de los demás genotipos, 1041.9 g/planta sin inocular y cuando se inocularon el rendimiento por planta disminuyó en 18 %; los tubérculos presentaron 52 % de manchado interno de la pulpa en las clases con mayor grado de oscurecimiento (4 y 5). Esto indica que Fianna es susceptible a *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

A diferencia de Fianna, el mejoramiento genético de los clones T05-13-21 y T90-1-63 del programa de fitomejoramiento de papa del INIFAP, además de considerar características deseables en la progenie en rendimiento, precocidad y calidad industrial, también se ha puesto énfasis en incorporar genes de resistencia a plagas y enfermedades (Rivera-Peña, 2000), utilizando materiales silvestres para incorporar estos caracteres. En un estudio realizado por Rivedeneira *et al.* (2011) quienes evaluaron la resistencia de diversos genotipos, incluyendo T90-1-63, a *Phytophthora infestans*, obtuvieron como resultado que la mayoría de los clones experimentales presentaron daños en el área foliar mayores a 95 % y rendimientos de 100 a 140 g/planta por lo que se consideran materiales susceptibles a *P. infestans* y posiblemente a otros patógenos. En nuestra investigación, los clones presentaron retraso en crecimiento y desarrollo comparado con los demás genotipos porque su origen fue *in vitro*, además tardaron en aclimatarse y presentaron pérdida de dominancia apical y por ende mayor crecimiento de brotes laterales. Es notable que en ambos genotipos no se observaron diferencias entre plantas inoculadas y no inoculadas en la biomasa seca de cada una de las estructuras vegetales, ni en el número de tubérculos, aunque la biomasa seca total de plantas sin inocular fue mayor en T05-13-21 y menor en T90-1-63 que en plantas inoculadas. El rendimiento de T05-13-21 fue 27 y 41 % mayor al rendimiento de T90-1-63 en

plantas inoculadas y sin inocular, respectivamente, con tubérculos de 2^a y 3^a calidad. Sin embargo, T90-1-63 presentó una superficie más dañada (90 %) en rodajas de tubérculos de plantas sin inocular, debido posiblemente a que las plántulas venían contaminadas con *CaLso* desde el cultivo *in vitro*. Las plantas de este clon inoculadas presentaron el menor porcentaje de manchado de tubérculo (20 %), principalmente en la clase 4, mientras que las plantas de T05-13-21 inoculadas presentaron el doble de porcentaje de manchado de tubérculo, principalmente en la clase de mayor grado de oscurecimiento (clase 5). Ambos clones presentaron 83 % de daño en área foliar en plantas inoculadas, lo cual fue 17 % menor que en Fianna y 8 % mayor que en *S. demissum*.

En el caso particular de *CaLso* no se cuenta aún con un medio sintético para su aislamiento y por ello no se pueden replicar los síntomas de ZC en cultivo *in vitro* (Secor *et al.*, 2009), además no hay información precisa de cuáles son los mecanismos de defensa que utiliza las plantas de papa ante *CaLso* (Munyanza *et al.*, 2010). Los cambios fisiológicos que se observaron en los genotipos inoculados son resultado de la presencia de la bacteria, pero no necesariamente se tratan de respuestas de defensa inducidas por la planta. El clon T90-1-63 además de presentar menor superficie de área foliar senescente y menor manchado de la pulpa del tubérculo, tanto en superficie como en intensidad, también presentó mayor área foliar, biomasa seca total y rendimiento en plantas inoculadas, lo que sugiere que este material puede presentar genes de resistencia que le confieren la capacidad de reducir los síntomas de ZC. Sin embargo, estos genes pueden no estar involucrados en la resistencia a otras enfermedades.

Los genes de resistencia que existen en una determinada variedad ejercen su acción a través de una serie de procesos metabólicos y bioquímicos que dependen del tipo de patógeno que los induce. Lee *et al.* 2020 observaron en plantas resistentes de *Solanum lycopersicum* inoculadas con *CaLso*, concentraciones de ácido indol-3-acético bajas, sin cambio aparente en el crecimiento de

la planta, mientras que los niveles de ácido giberélico y ácido jasmónico fueron más altos. Además, aunque se conoce que el ácido salicílico y el ácido jasmónico desempeñan un papel importante en la respuesta de defensa de la planta inducida y sistémica respectivamente al ataque del patógeno y al brote de la enfermedad (Pandey *et al.*, 2013), en ocasiones las plantas pueden producir etileno y ácido jasmónico mediante vías de señalización endógenas independientes del ácido salicílico de manera que inhiben la síntesis de otras hormonas vegetales (Pieterse *et al.*, 1999).

De acuerdo a lo observado en los genotipos evaluados en esta investigación, las diferencias en el crecimiento y desarrollo de las plantas, como el incremento del área foliar, y el aumento de la formación de estolones que generó mayor número de tubérculos en *Solanum demissum*, o el crecimiento de tallos laterales que se observó en los clones experimentales, surge la siguiente hipótesis “la presencia de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* induce la síntesis de hormonas vegetales, como respuesta de defensa por parte de la planta”.

En nuestra investigación en los tubérculos de plantas inoculadas se observó manchado en la pulpa debido al incremento de la actividad reductiva de azúcares y aminoácidos (Camacho-Tapia *et al.*, 2016; Wallis *et al.*, 2011). El contenido de azúcares (glucosa, fructuosa, sacarosa), después del almidón es una de las características más importantes en la determinación de calidad de tubérculo de papa y su mayor efecto se manifiesta en la alteración del color durante el freído (Stark *et al.*, 2003). Esto se debe a que los azúcares reductores al estar expuestos a altas temperaturas durante la fritura se da la formación de acrilamida, mediante la reacción de Millard, generando esa apariencia marrón o tonos cafés en las hojuelas de papas fritas, lo que vuelve a los tubérculos no aptos para el comercio (Hernández-Deheza *et al.*, 2018; Camacho-Tapia *et al.*, 2016; Wallis *et al.*, 2011). Rashed *et al.* (2013) encontraron en tubérculos de plantas infectadas de *CaLso* agregaciones

de compuestos fenólicos, peroxidasas, oxidasas, polifenoles, quitinasas, aminoácidos y azúcares libres (sacarosa, glucosa y fructuosa); estas respuestas aparecen entre tres y cuatro semanas después de la inoculación y se asocian con la duración de los síntomas de ZC y de la infección.

CaLso se restringir a los elementos cribosos del floema de las plantas de papa en donde tiene acceso a grandes cantidades de azúcares reductores (Camacho-Tapia *et al.*, 2016). Lin *et al.* (2011) tienen la hipótesis de que la glucosa es la forma más importante de carbono reducido utilizado por *CaLso* para llevar a cabo procesos metabólicos, porque consideran que ninguna de las secuencias en el repertorio de los genes de *CaLso* le permiten transportar sacarosa o fructuosa a través de la membrana celular.

En nuestra investigación el análisis de imágenes nos permitió calcular el porcentaje de superficie con manchado de la pulpa, además de la intensidad del oscurecimiento y la superficie sana del tubérculo similar a como lo hizo Hernández-Deheza *et al.* (2018), lo cual tiene importancia en la determinación cuantitativa de la calidad comercial de tubérculo y en el proceso de fitomejoramiento para seleccionar genotipos resistentes a la enfermedad. El análisis de imágenes se han utilizado en años recientes para la detección y clasificación de un gran número de enfermedades (Al Bashish *et al.*, 2011).

CONCLUSIÓN

Candidatus Liberibacter solanacearum afectó el desarrollo de la planta y la calidad comercial del tubérculo; Las plantas de *Solanum demissum* se caracterizaron por invertir en producción de biomasa seca de hoja mientras que las plantas infectadas de este genotipo aumentaron el número de tubérculos en un tamaño pequeño con su consecuente incremento en el rendimiento de tubérculo en fresco aunque presentaron el valor más bajo de superficie sana. Los clones experimentales presentaron un cierto grado de resistencia a *CaLso*, características que le permitieron disminuir algunos síntomas típicos de la enfermedad, principalmente T90-1-63 que presentó los valores más altos de superficie sana de tubérculo (> 79%) y los valores más bajos en las clases de manchado interno de la pulpa del tubérculo, siendo un material que contribuye a la resistencia al manchado interno de la pulpa se recomienda su uso en programas de mejoramiento genético.

LITERATURA CITADA

- Acuña I., Cadiz, F. (2011) Desinfección de tubérculo semilla de papa y sus consideraciones. Informativo INIA Remehue.
- Al Bashish D., M. Braik., S. Bani-Ahmad (2011) Detection and classification of leaf diseases using K-means-based segmentation and Neural-Networks-based classification. Information technology Journal 10: 267-275.
- Alfaro R. C. (1995) Por los caminos evolutivos de la papa silvestre y cultivada. Ciencia & Desarrollo 1: 86-91.
- Alvarado V. Y., D. Odokonyero., O. Duncan., T. E. Mirkov., H. B. Scholthof (2012) Molecular and physiological properties associated with zebra complex disease in potatoes and its relation with *Candidatus Liberibacter* contents in psyllid vectors. PLoS One, 7: e37345.
- Atlas Agroalimentario (2018) México, D.F 122-123. [En Línea] :<http://www.gob.mx/siap> (Marzo, 2019).
- Camacho-Tapia M., R. I. Rojas-Martínez, A. Rebollar-Alviter, S. Aranda-Ocampo, J. Suárez-Espinosa (2016) Biological, ecological, epidemiological and management aspects of *Candidatus Liberibacter*. Revista Chapingo. Serie Horticultura 22: 5-16.
- Carrillo-Salazar J. A., J. M. González-Camacho, E. San Juan-Martínez, V. A. González-Hernández (2019) Quality assessment of potted petunia based on a probabilistic neural network classifier. Agrocienca 53:895-910

- Clausen A (2003) Conservación de germoplasma de papa. Boletín informativo INTA, Actualidad papera No.2 Vol. 5.
- Egúsqüiza R (1987) Botánica, taxonomía y mejoramiento genético de papa. El cultivo de papa con énfasis en la producción de semilla. Univ. Nacional Agraria. La Molina, Perú, 11-36.
- Engel K. H (1964) Methoden der Kartoffelzüchtung unter besonderer Berücksichtigung der Selektionsverfahren auf Leistung. Der Züchter 34: 235-242.
- Flores-Magdaleno H., H. Flores-Gallardo, W. Ojeda-Bustamente (2014) Phenological prediction of potato crop by means of thermal time. Revista Fitotecnia. Mexicana Vol. 37: 149-157.
- García E. (1981) Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. Tercera edición. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México 2017.
- Gutiérrez-Ibáñez A. T., J. R. Sánchez Pale., A. Laguna Cerda., J. F. Ramírez Dávila., A. Balbuena-Melgarejo., O. G. Alvarado Gómez (2013) Detection of *Candidatus Liberibacter solanacearum* and phytoplasma in potato crop (*Solanum tuberosum* L.) in Toluca Valley. Revista Colombiana de Biotecnología 15: 145-149
- Hansen A. K., J. T. Stouthamer R., T. Paine D (2008) A new Huanglongbing Species. *Candidatus Liberibacter psylliourous*, Found to infecte Tomato and Potato, is vectores by the Psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Departament of Entomology, University of California, Riverside, California. Applied and Environmental Microbiology 74:5862-5865.
- Hawkes J. G (1979) Evolution and polyploidy in potato species. In Linnean Society symposium series 7: 637-646.
- Hawkes J. G (1990) The potato evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press

- Hernández-Deheza M. G., R. I. Rojas-Martínez., A. Rivera-Peña., E. Zavaleta-Mejía., D. L. Ochoa-Martínez., J. A. Carrillo-Salazar (2018) Resistance in potato to two haplotypes of ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’. *Journal of Plant Pathology* 100: 191-196.
- Hernández-Deheza M. G., R. I. Rojas-Martínez., A. Rivera-Peña., E. Zavaleta-Mejía., D. L. Ochoa-Martínez., J. A. Carrillo-Salazar (2020) Evaluation of Zebra Chip using image analysis. *American Journal of Potato Research* 97:586-595.
- Lee, J. H., H. O. Awika, G. K. Jayaprakasha, C. A. Avila, K. M. Crosby, B. S. Patil (2020) Tomato metabolic changes in response to Tomato-Potato Psyllid (*Bactericera cockerelli*) and its vectored pathogen *Candidatus* Liberibacter solanacearum. *Plants* 9:1154.
- León M. G. A., J. A. Carrillo S, A. Rivera P., V. A. González H (2006) Análisis de crecimiento y de relaciones fuente-demanda en dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 145-156.
- Liefting L. W., P. W. Sutherland, L. L. Ward, K. L. Paice, B. S. Weir, R. G. Clover (2009) A new ‘*Candidatus* Liberibacter’ species associated with diseases of Solanaceous crops. *Plant Disease* 93:208-214
- Lin H., B. Lou., J. M. Glynn ., H. Doddapaneni., E. Civerolo (2011) The Complete Genome Sequence of ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’, the Bacterium Associated with Potato Zebra Chip Disease. *PLoS ONE* 4: e19135
- Lule D., Fetene, M., de Villiers, S., K. Tesfaye (2014) Additive Main Effects and Multiplicative Interactions (AMMI) and genotype by environment interaction (GGE) biplot analyses aid selection of high yielding and adapted finger millet varieties. *Journal of Applied Biosciences*, 76, 6291-6303.

- Manrique L. A (1993) Constraints for potato production in the tropics. *Journal Plant Nutrition* 16:2075-2120.
- Melgoza Villagómez C. M., C. D. León Sicaños., J. A. López Valenzuela., L. A. Hernández Espinal., S. Velarde Félix., J. A. Garzón Tiznado (2018). Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en *Bactericera cockerelli* Sulc asociada con enfermedades en tomate, chile y papa. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 9: 499-509.
- Maillard L. C (1912) Action des acides amines sur les sucres; formation des melanoidines par voie methodique. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* 154: 66-68.
- Miles G. P., M.A. Samuel., J. Chen., Civerolo, E. L., Munyaneza, J. E. (2010) Evidence that cell death is associated with zebra chip disease in potato tubers. *American Journal of Potato Research* 87: 337-349.
- Moreno J. D (2000) Calidad de la papa para usos industriales. Red Electrónica de la papa. Colombia. <http://www.redepapa.org/calidadpapa.pdf>. (Mayo, 2019).
- Munyaneza J. E., J. M. Crosslin., J. E. Upton (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., J. L. Buchman., J. E. Upton., J. A Goolsby., J. M. Crosslin., G. Bester., V. G. Sengoda (2008) Impact of different potato psyllid populations on zebra chip disease incidence, severity, and potato yield. *Subtropical plant science* 60: 27.

- Munyaneza J. E., T. W. Fisher., V. G. Sengoda., S. F. Garczynski., A. Nissinen., A. Lemmetty (2010). First Report of " *Candidatus Liberibacter solanacearum*" Associated with Psyllid-Affected Carrots in Europe. *Plant Disease*, 94: 639.
- Munyaneza, J. E., V. G. Sengoda., J. L. Buchman., T. W. FisherT (2012) Effects of temperature on ' *Candidatus Liberibacter solanacearum*' and zebra chip potato disease symptom development. *Plant Disease*, 96: 18-23.
- Munyaneza J. E, T. Mustafa., T. W. Fisher., V. G. Sengoda., D. R. Horton(2016). Assessing the Likelihood of Transmission of *Candidatus Liberibacter solanacearum* to Carrot by Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *PLOS ONE* No.11 vol 8: e0161016
- O'brien M. J., A. E. Rich (1976) Potato diseases. Agriculture Handbook No. 474 USDA Agricultural Research Sciences 77
- Onamu, Rose, Legaria Solano, Juan Porfirio. 2014. Diversidad genética entre variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) cultivadas en México usando marcadores RAPD e ISSR. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5: 561-575.
- Onamu R., J. P. Legaria-Solano., J. Sahagún-Castellanos., J. L. Rodríguez., J. Pérez-Nieto (2015) Diversidad genética entre variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) cultivadas en México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 38: 7-15.
- Orrillo M., M. Bonierbale (2009) Biología reproductiva y citogenética de la papa. Centro Internacional de la Papa (CIP). Manual técnico 1-2
- Pandey S. P., I. E. Somssich (2009). The role of WRKY transcription factors in plant immunity. *Plant physiology* 150: 1648-1655.

- Parga T. V. M., J. M. Covarrubias R., I. H. Almeyda L., V. M. Zamora V., A. Rivera P., R. Rocha R (2009) Nieder, nueva variedad de papa para consumo en fresco. Agricultura técnica en México 35: 233-236.
- Pieterse, C. M., L. C. van Loon (1999) Salicylic acid-independent plant defence pathways. Trends. Plant Science, 4:52–58.
- Rashed, A., C. M. Wallis P., L. C. Van Loon., (1999). Salicylic acid-independent plant defence pathways. Trends in plant science, 4(2), 52-58.
- Paetzold L. C. M., F Workneh., C. M. Rush (2013) Zebra chip disease and potato biochemistry: tuber physiological changes in response to ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ infection over time. Phytopathology 103: 419-426.
- Rashed A., C. M. Wallis., L. Paetzold., F. Workneh., C. M. Rush C (2013) Zebra chip disease and potato biochemistry: tuber physiological changes in response to ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ infection over time. *Phytopathology 103*: 419-426.
- Rivera-Peña A. (2000) *Solanum brachycarpum* (Coor.). A wild tuber bearing species with resistance a late blight. In Abstracts. Eighty fourth annual meeting of the potato association of America. Colorado Springs, Colorado, USA 23-27
- Rivera-Peña A. 2001. Metodologías tradicionales usadas en el mejoramiento genético de papa en México. INIFAP-CIRCE. Campo Experimental Valle de Toluca. Metepec, Estado de México. Libro técnico 3: 45.
- Rivadeneira J. E. R., A. Rivera P., V. Hernández A (2011) “Con resistencia a *Phytophthora infestans*” Morphological characterization of clones. Colegio de postgraduados 37

Rodríguez N. V., M. L. Mora (2004) Comportamiento de diferentes genotipos de papa frente al tizón temprano (*Alternaria solani* Sor.) en condiciones de cantero. Biotecnología Vegetal 4.

Rodríguez A., J. J. Villa-Vázquez (2010) Catálogo de las áreas en México donde se aprovechan los tubérculos de papa silvestre (*Solanum cardiophyllum* y *S. ehrenbergii*). Red de papa. Folleto Técnico 1:1-27

Rousselle, P., J. C. Robert. 1996. La Pomme de Terre. Instituto National de la Recherche Agronomique. Paris, France. 25-154.

Sasaki T., S. Horiuchi, M. Yamazaki, S. Yui (1999) Induction of GM-CSF Production of Macrophages by Advanced Glycation End Products of the Maillard Reaction, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 63: 2011–2013

SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. 2009. Papa. (*Solanum tuberosum*L). [En Línea][Regla Tecnica Papa.pdf \(www.gob.mx\)](http://www.gob.mx/Regla_Tecnica_Papa.pdf) (Enero 2019)

SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. 2014. Panorama mundial de la papa. [En Línea].

<http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrual/Paronamas/Picha%20Papa.pdf>. (Enero 2019).

SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (2018)
Panorama mundial de la papa.

<http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrual/Paronamas/Picha%20Papa.pdf>

(Enero 2019).

SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. 2019.

[En línea]. Avances de Siembras y Cosechas. Dirección URL: <http://www.siap.gob.mx/>

(Mayo, 2019).

Secor G. A., V. V Rivera-Varas (2004). Emerging diseases of cultivated potato and their impact on Latin America. *Revista Latinoamericana de la Papa (Suplemento) 1*: 1-8.

Secor G. A., V. V. Rivera., J. A. Abad., I. M. Lee., R. G. Clover G., L.W. Liefiting., L. W. De Boer, S. H. (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.

Stark J., L. Love., B. King., J. Marshal., W. Bohl., T. Salaiz (2003) Potato cultivar response to seasonal drought patterns. *American Journal of Potato Research* 90: 207-216.

Tirado M, R., Tirado L, R., Mendoza C, J. 2018. Genotype× environment interaction in potato (*Solanum tuberosum* L.) yield with pigmented flesh in Cutervo, Peru. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, ex Agro-Ciencia*, 34: 191-198.

Vázquez-Carrillo, M. G., Santiago-Ramos, D., Ybarra-Moncada, M. C., Rubio-Covarrubias, O. Á., Cadena-Hinojosa, M. A. 2013. Variables fisicoquímicas y calidad de fritura de clones de papa desarrollados para los Valles Altos de México. *Agrociencia*, 471: 47-59.

- Tirado M, R., R. Tirado L., J. Mendoza C (2018) Genotype× environment interaction in potato (*Solanum tuberosum* L.) yield with pigmented flesh in Cutervo, Peru. Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, ex Agro-Ciencia 34: 191-198.
- Vázquez-Carrillo M. G., D. Santiago-Ramos., M. C. Ybarra-Moncada., O. A. Rubio-Covarrubias., M. A. Cadena-Hinojosa (2013) Variables fisicoquímicas y calidad de fritura de clones de papa desarrollados para los Valles Altos de México. Agrociencia 471: 47-59.
- Vossen J. H., G. van Arkel., M. Bergervoet., K. R. Jo., E. Jacobsen., R. G. Visser (2016) The *Solanum demissum* R8 late blight resistance gene is and Sw-5 homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties. Theoretical and Applied Genetics 129: 1785-1796.
- Vleeshouwers V. G., H. Rietman., P Krenek., N. Champouret., C. Young., S. K. Oh., E. A. Van der Vossen (2008) Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes. PLoS one 3: e2875.
- Veitía, R. N., M. Leiva M. 2004. Comportamiento de diferentes genotipos de papa frente al tizón temprano (*Alternaria solani*) (Sor.) en condiciones de cantero. Biotecnología Vegetal 4:27-30.
- Vossen, J. H., van Arkel, G., Bergervoet, M., Jo, K. R., Jacobsen, E., Visser, R. G. (2016). The *Solanum demissum* R8 late blight resistance gene is and Sw-5 homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties. Theoretical and Applied Genetics, 129: 1785-1796.

- Vleeshouwers, V. G., Rietman, H., Krenek, P., Champouret, N., Young, C., Oh, S. K., .Van der Vossen, E. A. 2008. Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes. PLoS one, 3: e2875.
- Wallis, C. M. and J. Chen. 2011. Zebra chip symptoms are associated with increased phenolic, pathogenesis-related protein, and amino acid levels. Proceedings of the 11 th. Annual Zebra Chip Reporting Session. Workneh F., Rashed A. and Rush C. M. Editors. San Antonio, Tx. 159-162.
- Zeinali, Y., Story, B. A. 2017. Competitive probabilistic neural network. Integrated Computer-Aided Engineering, 24: 105-118.